

ALEKSANDRA STRUGAŁA-WILCZEK¹, MALWINA BOCHEŃSKA¹, MAŁGORZATA BEBEK¹,
KRZYSZTOF BEBEK²

¹Zakład Monitoringu Środowiska, Laboratorium Analiz Wód i Ścieków

Główny Instytut Górnictwa w Katowicach

²Instytut Chemii, Zakład Chemii Fizycznej

Uniwersytet Śląski w Katowicach

ZASTOSOWANIE WSTRZYKOWEJ ANALIZY PRZEPLYWOWEJ Z DYFUZJĄ GAZOWĄ DO MONITOROWANIA STĘŻENIA JONÓW AMONU W PRÓBKACH ŚRODOWISKOWYCH

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań możliwości wykorzystania wstrzykowego analizatora przepływowego (FIA – Flow Injection Analyser) z detekcją spektrofotometryczną do monitorowania zawartości jonów amonu w próbkach wód i ścieków. Oznaczenie jonów amonu (azotu amonowego) w próbkach rzeczywistych, charakteryzujących się dużą zmiennością matrycy (często o złożonym bądź nietypowym składzie), okazało się możliwe dzięki odpowiedniemu przygotowaniu próbek do badań oraz wykorzystaniu wbudowanego w układ pomiarowy dyfuzora gazowego. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że omawianą metodę charakteryzuje m.in. mała wartość granicy oznaczalności oraz bardzo dobra precyzja i poprawność.

Słowa kluczowe: jony amonu, wstrzykowa analiza przepływowa, dyfuzja gazowa, detekcja spektrofotometryczna, woda, ścieki

Wstęp

Przekroczenie dopuszczalnych stężeń amoniaku w środowisku może generować poważne szkody w ekosystemach naturalnych, dlatego jego zawartość w wodach i ściekach podlega ciągłemu monitorowaniu i jest regulowana odpowiednimi przepisami prawnymi. Wody zawierające nawet śladowe ilości amoniaku nie nadają się do celów spożywczych, z kolei duża zawartość amoniaku w wodach użytkowych jest niepożądana, ponieważ zwiększa korozję rur wodociągowych, a w procesie uzdatniania reaguje z chlorem, tworząc chloraminy, co jednocześnie zmniejsza wydajność procesu uzdatniania wody (GOMÓŁKA i SZAYNOK 1997, HERMANOWICZ i IN. 1999). Celem pracy była

praktyczna ocena możliwości zastosowania wstrzykowego analizatora przepływowego (FIA – Flow Injection Analyzer) z dyfuzją gazową do monitorowania zawartości jonów amonu w wodach i ściekach o zróżnicowanej matrycy i mineralizacji.

Material i metody

Do badań wykorzystano układ do wstrzykowej analizy przepływowej FIA moduła niemieckiej firmy MLE, wyposażony w moduł do oznaczania jonów amonu z wbudowaną komorą dyfuzyjną (dyfuzja gazowa *in-line*), automatyczny podajnik próbek FIA-sampler oraz detektor spektrofotometryczny.

Oznaczanie jonów amonu (w postaci gazowego amoniaku) polega na wprowadzeniu próbki zaworem wstrzykowym do strumienia roztworu nośnego, płynącego w układzie w sposób ciągły, gdzie próbka jest mieszana ze strumieniem silnie alkalicznego reagenta (pH > 12). Powstały amoniak dyfunduje przez półprzepuszczalną, hydrofobową membranę dyfuzora gazowego, zmieniając odczyn, a tym samym barwę i absorbancję roztworu wskaźnika kwasowo-zasadowego, która to zmiana w sposób ciągły jest rejestrowana w fotometrze przepływowym przy długości fali 590 nm (PN-EN ISO 11732:2007).

Przedmiotem badań były roztwory wzorcowe i certyfikowane materiały odniesienia (woda z rzeki Miramichi oraz woda pitna z terenu miasta Lethbridge) oraz rzeczywiste próbki środowiskowe o zróżnicowanym składzie fizykochemicznym, takie jak: woda powierzchniowa, woda podziemna, woda mineralna oraz ścieki surowe i oczyszczone (miejskie, przemysłowe oraz pochodzące z procesu podziemnego zgazowania węgla).

Wszystkie stosowane w badaniach odczynniki charakteryzowały się czystością cz.d.a. lub lepszą. Roztwory przygotowywano z użyciem wody dejonizowanej o przewodności elektrycznej właściwej < 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, przed użyciem odgazowanej przepuszczeniem przez 15 min małego strumienia gazu obojętnego (helu) przez objętość 4 dm^3 .

Do sporządzenia roztworów do kalibracji wykorzystano roztwór wzorcowy o certyfikowanej zawartości jonów amonu 1000 mg/dm^3 NH_4^+ (AccuStandard, USA). Do badania odzysku oraz do kontroli jakości oznaczenia wykorzystano roztwór wzorcowy jonów amonu o stężeniu 1000 mg/dm^3 sporządzony w laboratorium przez rozpuszczenie w wodzie chlorku amonu (POCh, Polska), uprzednio wysuszonego do stałej masy w temperaturze $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Stwierdzono, że roztwór wzorcowy o stężeniu jonów amonu 1000 mg/dm^3 , zakwaszony stężonym kwasem siarkowym do pH ok. 2 i przechowywany w pojemniku z ciemnego szkła w temperaturze 2-10 $^\circ\text{C}$, zachowuje trwałość przez co najmniej rok.

Próbki wód i ścieków bezpośrednio po pobraniu zakwaszono wobec papierka wskaźnikowego (POCh, Polska) do pH ok. 2 przez dodanie kroplami stężonego kwasu siarkowego, filtrowano (pod zmniejszonym ciśnieniem) przez sączek membranowy o średnicy porów 0,45 μm (Millipore, USA), a następnie przechowywano bez dostępu światła w temperaturze 2-6 $^\circ\text{C}$ aż do czasu przeprowadzenia analizy. Ustalono, że maksymalny czas przechowywania tak utraconych próbek nie powinien przekraczać 14 dni. W wyjątkowych sytuacjach przesączoną i niezakwaszoną próbkę można zamrozić do temperatury -20 $^\circ\text{C}$ i przechowywać do 28 dni (STANDARD METHODS 1998, PN-EN ISO 5667-3:2005).

Wyniki

Badania prowadzono w dwóch zakresach roboczych, z zastosowaniem pętli reakcyjnej o pojemności 400 μl , którą dobrano w sposób pozwalający uniknąć przezbrajania aparatu. Ze względu na stosunkowo szerokie zakresy robocze nie osiągnięto liniowości funkcji kalibracyjnych, gdyż zgodnie z równaniem równowagi reakcji (1) przy dużych stężeniach amoniaku kwasowa forma wskaźnika HIn przechodzi prawie całkowicie w postać In^- i dalsze zwiększanie stężenia analitu nie wywołuje proporcjonalnego zwiększenia sygnału (KALBERG i PACEY 1994).



Do przeprowadzenia kalibracji w zakresie roboczym I, obejmującym stężenia jonów amonu od 0,02 mg/dm^3 NH_4^+ do 1 mg/dm^3 NH_4^+ , stosowano roztwory wzorcowe, przygotowywane w dniu wykonania pomiarów. Wielomianową funkcję kalibracyjną wykreślono dla sześciu poziomów stężeń (0,02 mg/dm^3 , 0,05 mg/dm^3 , 0,1 mg/dm^3 , 0,2 mg/dm^3 , 0,5 mg/dm^3 i 1 mg/dm^3), dla każdego punktu pomiarowego rejestrując po trzy niezależne powtórzenia absorbancji. Wielomianową funkcję kalibracyjną dla zakresu roboczego II (stężenia od 0,2 mg/dm^3 NH_4^+ do 5 mg/dm^3 NH_4^+) wyznaczono w sposób analogiczny, na podstawie świeżo przygotowanych roztworów wzorcowych dla pięciu poziomów stężeń (0,2 mg/dm^3 , 0,5 mg/dm^3 , 1 mg/dm^3 , 2 mg/dm^3 i 5 mg/dm^3). Funkcję kalibracyjną wykreślano przed każdą serią pomiarową, gdyż w zależności od wartości absorbancji roztworu wskaźnika kwasowo-zasadowego otrzymywano różne wartości absorbancji dla roztworów do kalibracji o danym stężeniu. W tabelach 1 i 2 zestawiono wartości absorbancji (średnia z trzech równoległych pomiarów) dla wybranych funkcji kalibracyjnych oraz odpowiadające im wartości absorbancji roztworu wskaźnikowego, odpowiednio dla zakresu roboczego I oraz II. Jednorodność wariancji w ustalonych zakresach roboczych metody potwierdzono testem F-Snedecora.

Granice wykrywalności i oznaczalności metody wyznaczono na podstawie analizy 12 niezależnie przygotowanych, poddanych pełnemu procesowi analitycznemu próbek wody dejonizowanej wraz z odczynnikami stosowanymi przy przygotowaniu roztworów wzorcowych i próbek rzeczywistych oraz z dodatkiem analitu na poziomie stężeń zbliżonym do spodziewanej wartości granicy wykrywalności (odpowiednio: 0,01 mg/dm^3 NH_4^+ oraz 0,02 mg/dm^3 NH_4^+). Granicę wykrywalności i oznaczalności obliczono odpowiednio jako trzykrotną i dziesięciokrotną wartość odchylenia standardowego średniej (tab. 3).

Precyzję w warunkach powtarzalności określono na podstawie wyznaczonej wartości współczynnika zmienności CV (tab. 3) obliczonego na podstawie 12 niezależnych oznaczeń stężenia jonów amonu w próbkach wzorcowych oraz na podstawie wyników 3 niezależnych oznaczeń analitu w 5 różnych matrycach (woda powierzchniowa i kopalniana, surowy ściek miejski, oczyszczony ściek przemysłowy, surowa woda pogazowa).

Aby określić precyzję pośrednią (odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjną), wykorzystano wyniki pomiarów roztworów wzorcowych uzyskane przez trzech różnych analityków w tym samym dniu. Wartość współczynnika zmienności odtwarzalności obliczono również na podstawie danych z kart kontrolnych (wyniki oznaczeń jonów amonu w próbkach kontrolnych uzyskane przez sześć miesięcy) (tab. 3).

Strugała-Wilczek A., Bocheńska M., Bebek M., Bebek K., 2011. Zastosowanie wstrzykowej analizy przepływowej z dyfuzją gazową do monitorowania stężenia jonów amonu w próbkach środowiskowych. Nauka Przyr. Technol. 5, 4, #48.

Tabela 1. Średnie wartości absorbancji roztworów wzorcowych dla wybranych funkcji kalibracyjnych w zakresie stężeń 0,02 mg/dm³-1 mg/dm³ NH₄⁺ w zależności od wartości absorbancji roztworu wskaźnika kwasowo-zasadowego

Table 1. Mean absorbance values of calibration standards for some calibration functions in range of 0.02 mg/dm³-1 mg/dm³ NH₄⁺ depending on acid-base indicator solution absorbance

Lp.	Absorbancja roztworu wskaźnika	Stężenie roztworu do kalibracji (mg/dm ³ NH ₄ ⁺)					
		0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	1
		Absorbancja poszczególnych roztworów wzorcowych					
1	0,549	0,0049	0,0157	0,0314	0,0669	0,1788	0,3710
2	0,535	0,0041	0,0156	0,0314	0,0663	0,1792	0,3852
3	0,538	0,0046	0,0135	0,0289	0,0617	0,1645	0,3573
4	0,539	0,0066	0,0178	0,0361	0,0764	0,2039	0,4335
5	0,536	0,0051	0,0149	0,0308	0,0645	0,1734	0,3749
6	0,536	0,0052	0,0153	0,0322	0,0655	0,1817	0,3888
7	0,524	0,0037	0,0135	0,0290	0,0612	0,1663	0,3554
8	0,530	0,0044	0,0155	0,0322	0,0667	0,1795	0,3855

Tabela 2. Średnie wartości absorbancji roztworów wzorcowych dla wybranych funkcji kalibracyjnych w zakresie stężeń 0,2 mg/dm³-5 mg/dm³ NH₄⁺ w zależności od wartości absorbancji roztworu wskaźnika kwasowo-zasadowego

Table 2. Mean absorbance values of calibration standards for some calibration functions in range of 0.2 mg/dm³-5 mg/dm³ NH₄⁺ depending on acid-base indicator solution absorbance

Lp.	Absorbancja roztworu wskaźnika	Stężenie roztworu do kalibracji (mg/dm ³ NH ₄ ⁺)				
		0,2	0,5	1,0	2,0	5,0
		Absorbancja poszczególnych roztworów wzorcowych				
1	0,540	0,0091	0,0238	0,0494	0,1030	0,2837
2	0,531	0,0083	0,0217	0,0453	0,0954	0,2692
3	0,538	0,0083	0,0217	0,0453	0,0954	0,2692
4	0,542	0,0095	0,0252	0,0528	0,1097	0,3035

Selektywność metody badano z wykorzystaniem rzeczywistych próbek środowiskowych (woda mineralna, powierzchniowa i kopalniana oraz surowa ściek miejski i przemysłowy, oczyszczony ściek przemysłowy i surowa woda pogazowa), niezawierających lub zawierających określoną ilość analitu (tab. 3). Dodatek wzorca do każdej próbki był badany na kilku różnych poziomach stężeń (wzrastające stężenie analitu) tak, aby dodatkowo uzyskać informację o ewentualnej liniowości funkcji absorbancji od stężenia zawartych w próbce jonów amonu.

Strugała-Wilczek A., Bocheńska M., Bebek M., Bebek K., 2011. Zastosowanie wstrzykowej analizy przepływowej z dyfuzją gazową do monitorowania stężenia jonów amonu w próbkach środowiskowych. Nauka Przyr. Technol. 5, 4, #48.

Tabela 3. Wybrane parametry walidacji oznaczania jonów amonu metodą FIA
Table 3. Some validation parameters for the determination of ammonium ions by FIA method

Parametr	Wartość	
Zakres roboczy (mg/dm ³ NH ₄ ⁺)	0,02-1,0	0,2-5,0
Granica wykrywalności (mg/dm ³ NH ₄ ⁺)	0,003	–
Granica oznaczalności (mg/dm ³ NH ₄ ⁺)	0,01	–
Powtarzalność (%)	0,22-2,0 (wzorce) 0,82-2,5 (próbki)	0,28-2,0 (wzorce) 1,6-3,2 (próbki)
Precyzja pośrednia (%)	< 5	< 4
Selektywność (odzysk) (%)	80-120 (w większości 90-110)	

Poprawność oznaczania jonów amonu metodą FIA wyznaczono na podstawie wyników krajowych i międzynarodowych porównań międzylaboratoryjnych oraz z wykorzystaniem certyfikowanych materiałów odniesienia, różniących się pod względem zawartości amoniaku oraz matrycy (tab. 4).

Tabela 4a. Wyniki porównań międzylaboratoryjnych dla oznaczania jonów amonu metodą FIA
Table 4a. The results of interlaboratory comparisons for the determination of ammonium ions by FIA method

Porównania międzylaboratoryjne	Wartość oczekiwana (mg/dm ³ N-NH ₄)	Wartość uzyskana (mg/dm ³ N-NH ₄)	Względne odchylenie standardowe (%)	Poprawność (%)	Z-score*
Politechnika Krakowska, 2009	1,90	1,98	0,82	4,1	0,80
	3,30	3,40	0,87	2,4	0,63
Aquacheck, 2009	0,130	0,132	2,5	1,5	0,08
Politechnika Krakowska, 2010	4,20	4,31	0,77	2,5	0,57

* Wskaźnik obliczony przez organizatora porównań międzylaboratoryjnych.

Tabela 4b. Wyniki analizy certyfikowanych materiałów odniesienia dla oznaczania jonów amonu metodą FIA

Table 4b. The results of analysis of certified reference materials for the determination of ammonium ions by FIA method

Certyfikowany materiał odniesienia	Wartość oczekiwana (mg/dm ³ N-NH ₃)	Wartość uzyskana (mg/dm ³ N-NH ₃)
Miramichi-02	0,0234 ± 0,0106*	0,0290 ± 0,0136*
Lethbridg-03	0,385 ± 0,064*	0,422 ± 0,096*

* Niepewność rozszerzona wykonania oznaczenia (dla k = 2, poziom ufności 95%).

Dyskusja wyników i podsumowanie

Badania umożliwiły dobranie optymalnych warunków pomiarowo-analitycznych (czas analizy, krotność powtórzeń, sposób wykreślenia funkcji kalibracyjnej, sposób przygotowania próbek do analizy) oznaczania jonów amonu w wodach i ściekach metodą wstrzykowej analizy przepływowej FIA z dyfuzją gazową i detekcją spektrofotometryczną.

W trakcie badań wyodrębniono dwa zakresy robocze obejmujące stężenia od 0,02 mg/dm³ NH₄⁺ do 1 mg/dm³ NH₄⁺ oraz od 0,2 mg/dm³ NH₄⁺ do 5 mg/dm³ NH₄⁺. Badania wskazały na konieczność wykonywania kalibracji przed każdą serią pomiarową ze względu na występującą ścisłą zależność absorbancji roztworów wzorcowych od absorbancji roztworu wskaźnika kwasowo-zasadowego, biorącego bezpośredni udział w reakcji.

Na podstawie metody dodatku wzorca stwierdzono dla każdej analizowanej rzeczywistej próbki środowiskowej liniową zależność absorbancji od stężenia zawartych w próbce jonów amonu (współczynnik korelacji r lepszy niż 0,999), co potwierdza wysoką selektywność stosowanej metody.

Wyznaczone w procesie walidacji wartości istotnych cech charakterystycznych zastosowanej metody analitycznej (granica wykrywalności i oznaczalności, precyzja w warunkach powtarzalności, precyzja pośrednia, poprawność i selektywność) spełniają wymagania stawiane metodom analitycznym i potwierdzają przydatność metody do rutynowej analizy laboratoryjnej.

Przyjęta w procesie walidacji granica oznaczalności metody (0,02 mg/dm³ NH₄⁺) jest dużo mniejsza od najmniejszego dopuszczalnego stężenia jonów amonu, określonego w ROZPORZĄDZENIU MINISTRA ŚRODOWISKA (2008) na poziomie poniżej 0,051 mg/dm³ NH₄⁺.

Krótki czas wykonania oznaczenia (2,5 min), mała ilość materiału badawczego (rzędu 20 ml), niewielkie zużycie odczynników (równoznaczne z ograniczeniem ilości generowanych odpadów), bardzo dobra odtwarzalność dzięki całkowitej automatyzacji procedury analitycznej, a także możliwość określenia zawartości jonów amonu na poziomie bardzo małych stężeń, nawet w próbkach o skomplikowanej matrycy – to niewątpliwe zalety omawianej metody, które pozwalają na jej zastosowanie również w badaniach monitoringowych.

Literatura

- GOMÓŁKA E., SZAYNOK A., 1997. *Chemia wody i powietrza*. Ofic. Wyd. P. Wr., Wrocław.
- HERMANOWICZ W., DOJLIDO J., DOŻAŃSKA W., KOZIOROWSKI B., ZERBE J., 1999. *Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków*. ARKADY, Warszawa.
- KALBERG B., PACEY G.E., 1994. *Wstrzykowa analiza przepływowa dla praktyków*. WNT, Warszawa.
- PN-EN ISO 5667-3:2005. *Jakość wody. Pobieranie próbek. Część 3: Wytyczne dotyczące utrwalania i postępowania z próbkami wody*.
- PN-EN ISO 11732:2007. *Jakość wody: Oznaczanie azotu amonowego. Metoda analizy przepływowej (CFA i FIA) z detekcją spektrometryczną*.

Strugała-Wilczek A., Bocheńska M., Bebek M., Bebek K., 2011. Zastosowanie wstrzykowej analizy przepływowej z dyfuzją gazową do monitorowania stężenia jonów amonu w próbkach środowiskowych. *Nauka Przyr. Technol.* 5, 4, #48.

ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ŚRODOWISKA z dnia 20 sierpnia 2008 roku w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych. 2008. Dz. U. Nr 162, poz. 1008.

STANDARD METHODS for the Examination of Water and Waste Water, 20th edition, 1998. American Public Health Association, Water Environmental Feder.

AN APPLICATION OF FLOW INJECTION ANALYSIS WITH GAS DIFFUSION FOR THE MONITORING OF AMMONIUM IONS CONCENTRATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

Summary. In this paper, flow injection analyser with photometric detection has been examined for the possibility of monitoring of ammonium ions in water and wastewater samples. Ammonium ions determination (even trace amounts) in environmental samples with great matrix differentiation (mainly with complex or atypical composition) seemed to be workable after appropriate sample pre-treatment and due to in-line separation and preconcentration by gas diffusion. Established method shows low limit of detection, good precision and good correctness. The described full automatic method takes effect in short-time analysis, small sample volume and waste restriction. Proposed flow injection system comply with requirements and, therefore it may be applied in monitoring studies, as well as in the routine analysis of real samples of water and wastewater from different sources.

Key words: ammonium ions, flow injection analysis, gas diffusion, photometric detection, water, sewage

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Aleksandra Strugała-Wilczek, Zakład Monitoringu Środowiska, Laboratorium Analiz Wód i Ścieków, Główny Instytut Górnictwa, pl. Gwarków 1, 40-166 Katowice, Poland, e-mail: a.strugala@gig.katowice.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

11.05.2011

Do cytowania – For citation:

*Strugała-Wilczek A., Bocheńska M., Bebek M., Bebek K., 2011. Zastosowanie wstrzykowej analizy przepływowej z dyfuzją gazową do monitorowania stężenia jonów amonu w próbkach środowiskowych. *Nauka Przyr. Technol.* 5, 4, #48.*