

OZNACZANIE POLICHLOROWANYCH DIFENYLI (PCB)

Cel ćwiczenia:

1. Zapoznanie się z problemami występowania polichlorowanych difenyli w środowisku, a szczególnie produktach węglowodorowych.
2. Opanowanie podstaw techniki chromatografii gazowej, w szczególności pracy detektora ECD, wykorzystywanego do analizy związków chloroorganicznych.
3. Ustalenie optymalnych warunków pracy chromatografu gazowego.
4. Wykonanie zadanych przez prowadzącego analiz.

1. Polichlorowane pochodne difenyli (PCB), wprowadzenie.

Produkty techniczne zawierające polichlorowane difenyle i trifenyle były w minionych latach powszechnie stosowane jako ciecze elektroizolacyjne w kondensatorach i transformatorach, oleje do pomp próżniowych, oleje sprężarkowe i hydrauliczne a także plastyfikatory do syntetycznych żywic, środki adhezyjne, nośniki ciepła, środki przeciwpyłowe, dodatki do pestycydów potęgujące ich działanie jak i też ciecze do impregnacji papieru w kopiarkach! Szczyt stosowania PCB to 1970 r. Potem nastąpił szybki spadek produkcji PCB, w czym znaczącą rolę odegrała decyzja firmy Monsanto o zaprzestaniu wytwarzania PCB, jako reakcja na niepokojące doniesienia środowiska naukowego. Również w Polsce produkowano ciecze elektroizolacyjne na bazie PCB: Chlorofen w Ząbkowicach Śląskich i Tarnol w Zakładach Azotowych w Tarnowie jak i też importowano preparaty PCB z Czechosłowacji, Francji i ZSRR. Nie były to jednak ilości znaczące. Główny wkład w istniejące do dziś "zasoby" PCB, w naszym kraju wniósł import kondensatorów elektroenergetycznych przede wszystkim z Zakładów Isokond z byłej NRD

Praktycznie w każdym zakładzie przemysłowym były instalowane kondensatory i inne urządzenia energetyczne wypełnione polichlorowanymi difenylami. Do dziś ilość kondensatorów z PCB w naszym przemyśle można oszacować na co najmniej kilkaset tysięcy sztuk, każdy o wadze od kilkunastu do kilkudziesięciu kilogramów. Urządzenia te stanowią stałe potencjalne źródło emisji do środowiska polichlorowanych difenili, stwarzając trudny do pokonania problem z uwagi na ich rozproszenie, długi czas technicznej sprawności i wysokie koszty utylizacji.

Polichlorowane difenyle w małych dawkach nie wywołują natychmiastowych ostrych skutków toksycznych w organizmach ssaków. Jednak z uwagi na tendencje do akumulacji w środowisku, wysoką odporność na naturalne procesy biodegradacji i groźne dla zdrowia ludzi długofalowe skutki kontaktu są powszechnie postrzegane jako jedno z globalnych zagrożeń dla środowiska naturalnego na całym świecie. PCB należą do tej samej klasy związków co niektóre pestycydy (DDT), szkodliwość których nie budzi już chyba u nikogo wątpliwości.

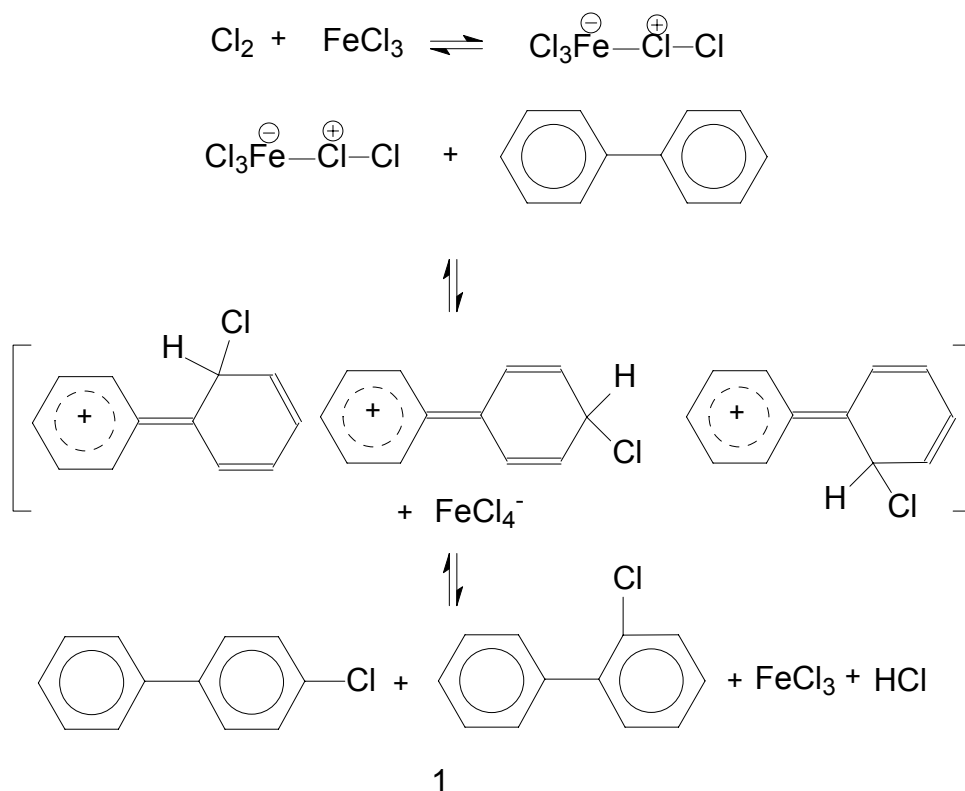
Polichlorowane difenyle nie są od kilkunastu lat produkowane w Europie, nie instaluje się również nowych urządzeń elektroenergetycznych z PCB ale ich poziom w środowisku naturalnym, w tym również w Polsce nie wykazuje tendencji spadkowych. Ślady PCB stwierdzono w organizmach zwierząt nawet w tak odległych dla cywilizacji technicznej regionach jak Arktyka i Antarktyda. Konsekwentnie prowadzone w latach siedemdziesiątych badania wykazały, że PCB drogą łańcuchów troficznych mogą kumulować się w organizmach zwierząt i ludzi, wywołując uszkodzenia wątroby, śledziony i nerek. Stwierdzono także destrukcyjny wpływ PCB na zapis genetyczny w komórkach ssaków. Przedostawanie się PCB do organizmów żywych może następować na skutek awarii urządzeń, w których są stosowane, jak również, a może przede wszystkim, na skutek niewłaściwego składowania i utylizacji zużytych odpadowych produktów zawierających PCB.

1.1. Produkcja i podstawowe właściwości fizyczne PCB

Polichlorowane bifenyle (PCB), a zgodnie z obecnie obowiązującą nomenklaturą difenyle, zsyntezowane były już pod koniec XIX wieku. Jednak ich pierwsze próby zastosowania w technice przypadają na lata trzydzieste bieżącego wieku, a właściwie okres II wojny światowej. Polichlorowane difenyle, trudnopalne, stabilne termicznie i inertne chemicznie związki o oleistej konsystencji, były technicznie doskonałym substytutem olejów węglowodorowych i stąd cieszyły się dużym popytem. Synteza PCB, jest stosunkowo prosta. Działając gazowym chlorem w stosunkowo łagodnych warunkach temperaturowych na difenyl w obecności kwasu Lewisa (FeCl_3 , AlCl_3), w typowej reakcji podstawienia elektrofilowego w pierścieniu aromatycznym, otrzymuje się mieszaninę zwykle kilkudziesięciu z liczby 209 teoretycznie możliwych kongenerów (uwaga kongener jest pojęciem szerszym od izomeru, obejmuje zbiór związków tworzących określoną grupę pochodnych), chloropodstawionych pochodnych o sumarycznym wzorze ogólnym $\text{C}_{12}\text{H}_{10-n}\text{Cl}_n$. Reakcja ułatwiona jest aktywującym wzajemnym oddziaływaniem pierścieni fenylowych w wyniku efektu rezonansowego. Jej przebieg przedstawiono na Rys.1.

Substytucja chlorem pierwszego atomu wodoru uprzywilejowana jest w pozycjach *orto* i *para*. Pozycja i szybkość podstawiania dalszych atomów wodoru jest limitowana złożonym wpływem oddziaływań rezonansowych pierścieni fenylowych jak i też rezonansowym i indukcyjnym oddziaływaniem już obecnych podstawników

chlorowych. Sumaryczny efekt tych oddziaływań jest zapewne zbyt skomplikowany aby można go było wyjaśnić w oparciu o proste modele jakościowe - nie jest wszakże przypadkowy. Stąd chlorowanie difenyłu do zakładanego poziomu zawartości chloru w produktach reakcji daje mieszaniny kongenerów o zbliżonym składzie, w niewielkim stopniu zależnym od stosowanych warunków procesowych. Podobnie poddając chlorowaniu trifenyl otrzymać można jego polichlorowane pochodne – PCT.



W zależności od ilości wprowadzonego chloru otrzymuje się produkty ciekłe lub ciała stałe. Średnia masowa zawartość chloru w produktach komercyjnych jest zwykle podstawą powszechnie stosowanego nazewnictwa PCB.

Zasady nomenklatury i podstawowe właściwości fizykochemiczne technicznych mieszanin PCB i PCT zilustrowano w Tabeli 1, na przykładzie produktów firmy Monsanto z USA, tak zwanych Arochlorów.

Polichlorowane difenyle należą do związków trudno rozpuszczalnych w wodzie. W stanie równowagi, w temperaturze pokojowej woda zawiera w stanie nasycenia do 200 ppb Arochloru 1242 i do 25 ppb Arochloru 1260. Poszczególne kongenery tym trudniej rozpuszczają się w wodzie im więcej atomów chloru zawierają w cząsteczce.

Tabela 1. Charakterystyka i podstawowe własności fizykochemiczne technicznych mieszanin PCB i PCT firmy Monsanto

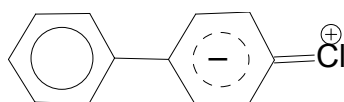
Oznaczenie	Skład	Właściwości fizykochemiczne		
		Gęstość 25 ⁰ C [g/cm ³]	Temperatura wrzenia [°C]	Temperatura płynięcia [°C]
*				
1221	PCB, 20,5-21,5% Cl	1,182	275-320	1**
1232	PCB, 31,4-32,5% Cl	1,270	290-325	-35,5
1242	PCB, 42% Cl	1,381	325-366	-19
1248	PCB, 48% Cl	1,405	340-375	-7
1254	PCB, 54% Cl	1,495	365-390	10
1260	PCB, 60% Cl	1,555	385-420	31
1262	PCB, 61,5-62,5% Cl	1,572	390-425	38
1268	PCB, 68% Cl	1,804	435-450	-
2565	75%PCB, 25%PCT, 65% Cl	1,734	-	-
4465	60%PCB, 40%PCT 65%, Cl	1,670	230-320 /4 mm Hg/	--
5442	PCT, 42% Cl	1,470	215-300 /4 mm Hg/	46
5460	PCT, 58,5-60,6% Cl	1,670	280-335 /5 mm Hg/	-

*Dwie pierwsze cyfry określają węglowodorowy szkielet kongenerów, a dwie drugie cyfry przybliżoną zawartość masową chloru. Produkowany również Aroclor 1016 jest polichlorowanym difenylem o zawartości chloru 41% ale ze zredukowaną zawartością penta, hekza i hepta chloropochodnych

**Ciało krystaliczne

1.2. Właściwości chemiczne PCB

Obecność halogenowych podstawników w pierścieniach difenyłu implikuje niską reaktywność chemiczną tych związków, szczególnie w reakcjach podstawienia nukleofilowego. Chloropochodne difenyłu ulegają tylko nielicznym reakcjom. Chlor, silnie elektroujemny podstawnik, powoduje co prawda przez indukację obniżenie gęstości elektronowej w pierścieniu aromatycznym, jednak z drugiej strony na drodze efektu rezonansowego zwiększa gęstość elektronową w pierścieniu, Rys. 2.



2

Przykład efektu rezonansowego w cząsteczce chlorodifenyłu

Obecność wielu podstawników halogenowych zwiększa w dużym stopniu gęstość elektronową w pierścieniu aromatycznym, co w efekcie utrudnia atak czynników nukleofilowych zgodnie z mechanizmem substytucji dwucząsteczkowej. Znane przykłady substytucji atomów chloru w pierścieniu aromatycznym ograniczają się do reakcji zachodzących w wysokich temperaturach (realizowana w skali przemysłowej reakcja hydroksydehalogenacji monochlorobenzenu do fenolu) lub stosowania bardzo silnych zasad - jak na przykład amidku sodowego w ciekłym NH_3 i fenylowych lub alkilowych połączeniach litowców. Reakcje te będą według mechanizmu eliminacji-substytucji, kompleksem przejściowym jest benzyn. Polichlorowane pochodne difenyłu reagują intensywnie na przykład z metalicznym sodem, pod warunkiem, że metal ten jest zdyspergowany do stanu koloidalnego i reakcję prowadzi się w temperaturze wyższej niż temperatura topnienia sodu. Jest to w gruncie rzeczy klasyczna reakcja Wurtza-Fittiga. Prawdopodobnie w pierwszym etapie tworzy się arylosód, który jako silna zasada może atakować dalsze podstawione atomami chloru pierścienie difenyłu. Reakcję kończy dodanie wody, silnego kwasu w tym środowisku reakcji.

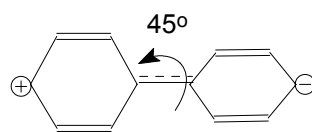
Redukcyjna eliminacja chloru za pomocą wodoru jest kolejną skuteczną metodą degradacji polichlorowanych difenyli. Źródłem aktywnego wodoru może być zarówno stosowany w technice rafinerijnej wodór gazowy, jak i też wodór wnoszony do środowiska reakcji przez związki o właściwościach wodorodonorowych.

Szczególnie atrakcyjnie przedstawia się proces odchlorowania skażonych PCB produktów ropopochodnych. Odzyskuje się wtedy w procesie odchlorowania wysokiej jakości regenerat (hydrorafinat), co poprawia wskaźniki ekonomiczne procesu. Najbardziej właściwe zastosowanie procesu hydroodchlorowania to regeneracja skażonych w niewielkim stopniu produktów ropopochodnych (do 1%, PCB). Nie ma co prawda teoretycznych przeciwwskazań do odchlorowania tą metodą cieczy węglowodorowych skażonych w większym stopniu, ale rodzi to pewne problemy natury technologicznej. Proces jest prowadzony najczęściej w

obecności katalizatorów. Duże stężenie chlorowodoru w produktach może szybko spowodować ich destrukcję. Ponadto wymagana byłaby rozbudowa w instalacjach węzłów wmywania chlorowodoru z gazów poreakcyjnych.

Najbardziej aktywnymi katalizatorami w procesach odchlorowania aromatów są układy monometaliczne pierwiastków VIII grupy. Reakcja hydrogenolizy wiązań C-Cl biegnie w ich obecności w temperaturze już około 100⁰C i pod ciśnieniem wodoru zbliżonym do atmosferycznego. Niestety katalizatory monometaliczne ulegają bardzo szybko dezaktywacji w kontakcie z chlorowodem. Praktycznie warunki procesowe wymuszają stosowanie klasycznych układów katalitycznych typu tlenków i siarczków Ni/Mo/W/Al₂O₃, o mniejszej aktywności uwodarniającej, aktywnych w wysokich temperaturach, ale odpornych na zatrucia związkami chloru i innymi substancjami obecnymi zwykle w rafinowanym surowcu. Znacznie wyższą aktywność odchlorowującą wykazują siarczki metali przejściowych w porównaniu z tlenkami. Typowe warunki procesowe to temperatura około 300⁰C i ciśnienie 50 at wodoru, co zapewnia odchlorowanie w ponad 90%.

Pochodne difenyłu o nie podstawionych pozycjach 2, 2' i 6, 6' tradycyjnie nazywamy koplanarnymi. Pochodne koplanarne zachowują dużą swobodę rotacji wokół wiązania pierścień-pierścień. Energie przejścia pomiędzy takimi izomerami konformacyjnymi mają stosunkowo małą wartość, Rys.3.



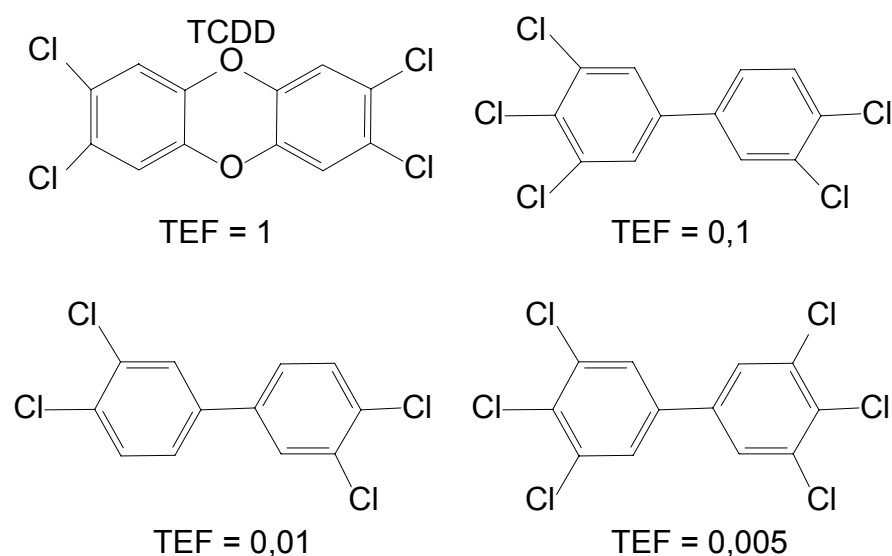
3

Dipolarny stan wzbudzony difenyłu

Podstawienie atomów wodoru w pozycjach meta do łączącego pierścienie wiązania dużymi atomami lub grupami, w tym Cl, zasadniczo zmienia sytuację. Dipolarne sprzężenie rezonansowe zostaje ograniczone, pierścienie fenylowe tracą zdolność do swobodnej rotacji przyjmując prostopadłe położenie, do tego stopnia trwałe, że możliwe jest rozdzielenie izomerów konformacyjnych (jeżeli takie występują) bez spowodowania racemizacji obydwu form. Koplanarne tetra- i penta-

chloropodstawione kongenery difenyłu strukturalnie zbliżone są do 2,3,7,8 tetrachlorodibenzodioskyny (TCDD) i 2,3,7,8 tetrachlorodibenzofuranu (TCDF), związków uważanych za bardzo toksyczne substancje chemiczne. Toksyczność poszczególnych kongenerów PCB określa się za pomocą specjalnie zdefiniowanego ekwiwalentnego współczynnika toksyczności (TEF) właśnie w stosunku do TCDD,

Rys. 4.

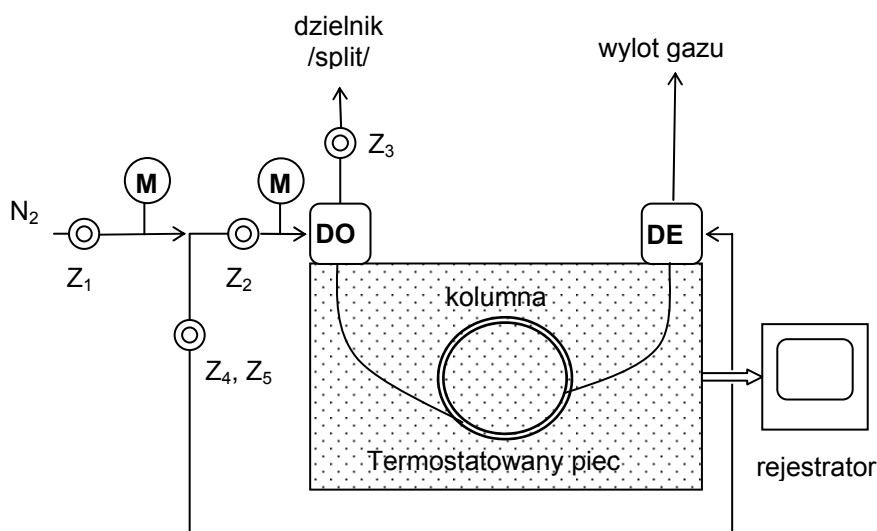


4

Struktura "dioksynopodobnych" kongenerów PCB

3. Ogólne zasady działania chromatografu gazowego z detektorem ECD

Chromatografia gazowa jest wysokosprawną metodą rozdzielania mieszanin lotnych związków umożliwiając ich jakościowe i ilościowe oznaczanie. Ideowy schemat chromatografu gazowego, wyposażonego w kolumnę kapilarną i detektor wychwytu elektronów (ECD) przedstawiono poniżej:



Z₁ - zawór regulacyjny gazu nośnego (carrier pressure), poziom ciśnienia, ustawiony tym zaworem limituje przepływ przez detektor dodatkowego strumienia azotu omywającego anodę

Z₂ - zawór regulujący ciśnienie azotu na wlocie kolumny (column head pressure), a tym samym wielkość przepływu przez kolumnę

Z₃ - zawór regulujący wypływ gazu przez dzielnik (split)

Z₄, Z₅ - zawory odcinające przepływ „dodatkowych strumieni azotu (aux gas, anode purge) przez detektor, zamknięcie ich umożliwia pomiar przepływu gazu przez kolumnę

DO - dozownik

DE – detektor

Analizowana próbka rozcieńczona w odpowiednim rozpuszczalniku (lekki alkan C₆-C₈) jest wstrzykiwana do dozownika chromatografu, w który następuje jej odparowanie i wprowadzenie w strumień azotu bez przerwy płynącego przez układ analityczny chromatografu. Wraz ze strumieniem azotu próbka wpływa do kolumny. Ponieważ nie można, nawet precyzyjną strzykawką podać dowolnie małej ilości

analizowanego roztworu z wymaganą precyzją, a z drugiej strony cienka kolumna chromatografu ogranicza wielkość rozdzielanych substancji, podaje się do dozownika odpowiednio dużą ilość roztworu analitycznego (np. 1µm) świadomie za pomocą dzielnika wypuszczając część gazu nośnego z parami badanych substancji na zewnątrz.

Kapilarna kolumna chromatograficzna to cienka (tu 0,32mm), elastyczna rurka szklana, o długości zwykle kilkudziesięciu metrów z odpowiednio przygotowaną powierzchnią wewnętrzną pokrytą termostabilną fazą organiczną o precyzyjnie dobranych właściwościach fizykochemicznych, w tym polarności. Właśnie oddziaływanie pomiędzy przepływającymi z gazem nośnym parami rozdzielanych substancji, a aktywną fazą kolumny leży u podstaw ich rozdzielenia. Związki o dużym powinowactwie do fazy aktywnej kolumny, wysokowrzące z natury poruszają się wolniej wzdłuż kolumny itd. Przemieszczanie się rozdzielanych substancji w strumieniu gazu w kolumnie i ich rozdzielenie przypomina działanie wysokosprawnej kolumny rektyfikacyjnej.

Skuteczności rozdzielenia chromatograficznego sprzyjają odpowiednio dobrane:

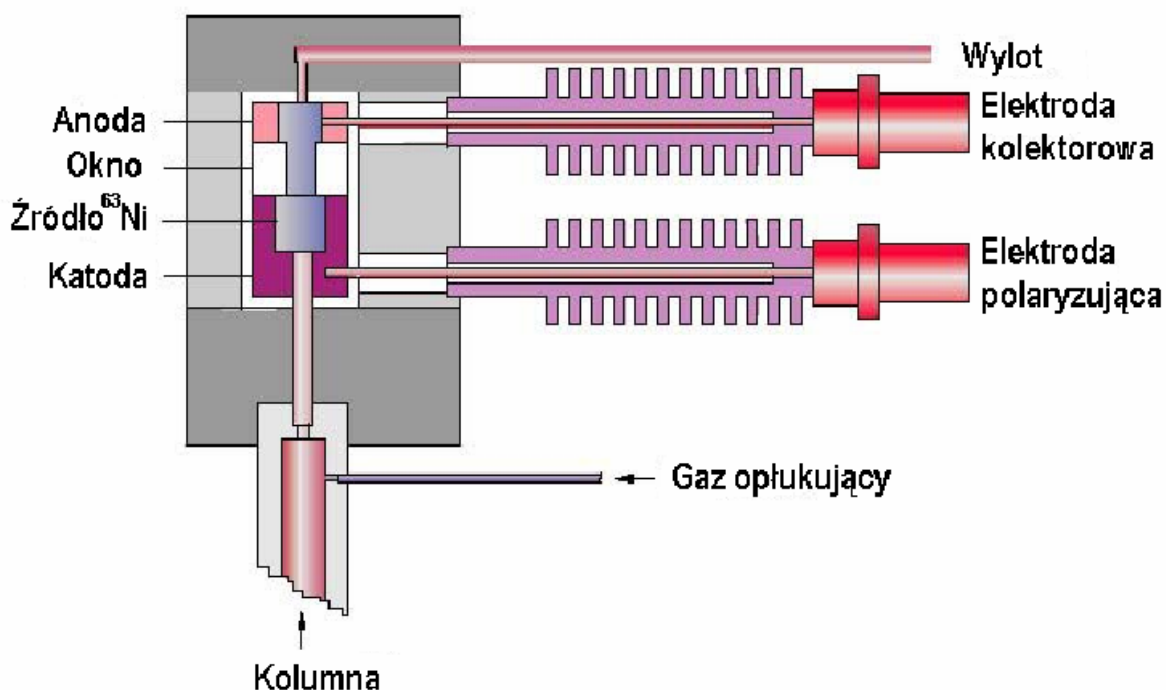
- długość, średnica kolumny
- rodzaj i grubość fazy aktywnej kolumny
- program temperaturowy
- szybkość i rodzaj gazu nośnego w kolumnie

Oczywiście każdy z tych parametrów ma istotne ograniczenia. Nie można prowadzić analiz w warunkach termicznej destrukcji analizowanych substancji lub niszczących urządzeń. Analiza nie może też trwać kilkanaście godzin. Nawet dorośli studenci powinni jednak wracać do domu.

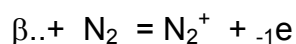
Substancje opuszczające kolumnę trafiają do detektora. Detektor ECD specyficznie reaguje na związki zawierające pierwiastki elektrono-akceptorowe. Węglowodory alifatyczne praktycznie „nie są widziane” Stąd szerokie zastosowanie detektorów ECD do oznaczania związków chlorowcoorganicznych (PCB, pestycydy). Mała ilość gazu płynąca do detektora z kolumny nie zapewnia właściwego jego działania. Dlatego zachodzi konieczność doprowadzania do przestrzeni detektora dużego dodatkowego strumienia azotu. Zasadę działania detektora ECD przedstawiono poniżej.

3.1. Detektor wychwytu elektronów ECD.

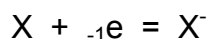
Jest detektorem selektywnym. Sygnały w detektorze ECD pojawiają się w wyniku gwałtownego spadku natężenia prądu płynącego w komorze jonizacyjnej po wprowadzeniu do niej substancji o dużym powinowactwie elektronowym. Poniżej przedstawiono schemat takiego detektora.



W komorze detektora znajduje się źródło promieniowania β (folia z ^{63}Ni , katoda oraz elektroda zbiorcza – anoda). Gaz nośny, azot lub mieszanina argonu z metanem jest jonizowany przez cząstki β , emitowane ze źródła, zgodnie z równaniem:



Jony dodatnie i elektrony „zbierane są przez elektrody. W ten sposób tworzy się prąd tła. Wprowadzone do komory związki o dużym powinowactwie elektronowym, wychwytyują wolne elektrony według równania:



Jony X^- , rekombinują z dodatnimi jonami gazu nośnego N_2^+ , powodując spadek prądu tła. Detektor charakteryzuje się dużą czułością w stosunku do związków halogenoorganicznych. Poziom detekcji jest rzędu 10^{-14} g Cl na cm^3 gazu nośnego.

3.2. Warunki pracy chromatografu:

- temperatura dozownika: 250⁰C
- temperatura detektora: 320⁰C
- stosunek dzielnika (split): 5 : 1
- przepływ azotu przez detektor 40-60 ml/min
- czas początkowy izotermy: 1,0 min
- początkowa temperatura: 120⁰C
- narost temp.: do 168⁰C- 50⁰C/min; 168-270⁰C/4 ⁰C
- kolumna: HP-5, długość – 50m, średnica 0,32mm
- nastrzyk: 1μl
- ciśnienie azotu „na wejściu do kolumny” – 20 psi, co odpowiada przepływowi azotu przez kolumnę, w 120⁰C - 3,4 ml/min

Czas analizy wynosi około 27 min.

Mimo zastosowania wysokosprawnej kapilarnej kolumny chromatograficznej nie jest możliwe pełne rozdzielanie mieszaniny kongenerów na poszczególne indywidua chemiczne. Aby pokonać ten problem trzeba by stosować sprzężone układy kolumn o różnej polarności. Wymaga to znacznego nakładu środków i nie zawsze jest wymagane. Zwykle polecany jest do analizy PCB standardowy układ co zapewnia odtwarzalność analiz w różnych laboratoriach (sprecyzowany rodzaj kolumny i parametry pracy chromatografu). Poszczególne kongenery PCB lub grupy kongenerów są identyfikowane na podstawie ich czasów retencji (czasu „przejścia” przez układ chromatograficzny).

4. Przebieg ćwiczenia.

Student otrzymuje do analizy wzorcową próbkę oleju o znanej zawartości PCB oraz drugą próbkę, w której należy określić obecność, rodzaj i stężenie polichlorowanych bifenyli. Przed przystąpieniem do ćwiczeń należy dokładnie zapoznać się zasadami działania chromatografu gazowego.

Do fiolki o pojemności 2-4 ml należy naważyć około 20-25 mg badanej próbki oleju, którą rozcieńczamy 50 krotnym nadmiarem rozpuszczalnika węglowodorowego, za pomocą odpowiedniej strzykawki analitycznej. W rozpuszczalniku znajduje się 2,4,6-dichlorodifenyl o znanym stężeniu, który spełnia rolę wzorca wewnętrznego. Następnie dodaje się, do rozcieńczonej próbki 2-3 krople

stężonego kwasu siarkowego. **Uwaga!** – należy zachować przy tym szczególną ostrożność! Konieczne jest użycie rękawiczek gumowych i okularów. Po dokładnym zamknięciu fiolki, wytrząsa się zawartość przez 1 minutę. Następnie dwufazowy układ należy rozdzielić na wirówce laboratoryjnej. Zalecana szybkość obrotowa wynosi 4000 obr./min. Nie należy pod żadnym pozorem przekraczać szybkości 5000 obr./min. Grozi to rozerwaniem cienkościennego naczynka szklanego. Kwas siarkowy stosowany jest do usuwania związków o charakterze aromatycznym (sulfonowanie!) i heteroatomów, które dają sygnały w detektorze ECD przeszkadzające w analizie. Część górnej węglowodorowej warstwy przenosimy do nowej fiolki z pomocą jednorazowej strzykawki. Próbka jest gotowa do analizy, którą przeprowadzamy pod kierunkiem prowadzącego.

Analogicznie postępujemy z próbką wzorcowego oleju o znanym stężeniu PCB. W tym jednak przypadku procedura rafinacji próbki stężonym kwasem siarkowym jest zbędna. Odwirowywanie próbki też.

4.1. Określenie rodzaju PCB

W wyniku analizy chromatograficznej otrzymujemy wydruk sygnałów kongenerów PCB, w postaci pików. Układ pików, ich czasów retencji jest charakterystyczny dla określonego rodzaju PCB (stopnia schlorowania bifenyli), a natężenie sygnałów (wysokość lub pole powierzchni pików) do stężenia PCB w badanym roztworze. W ramach zadania, identyfikujemy jakościowo typ Arochloru (1242, 1254, 1260), przez porównanie chromatogramu próbki z chromatogramami próbek wzorców.

4.2. Analiza ilościowa.

Na chromatogramie badanej próbki i chromatogramie odpowiedniego wzorca Arochloru wybieramy po 7 odpowiadających sobie sygnałów kongenerów dichlorodifenyli. Wybór konsultujemy z prowadzącym. Następnie pole powierzchni każdego z wybranych sygnałów dzielimy przez pole powierzchni sygnału wzorca wewnętrznego, w ramach każdego chromatogramu. Otrzymujemy tą drogą 7 par wartości, które pozwalają obliczyć, uwzględniając znane stężenie PCB wzorca, stężenie PCB w analizowanej próbce, jako średnią arytmetyczną. Przed uśrednieniem wyników, formalnie siedmiu, należy odrzucić wyniki zdecydowanie odbiegające od pozostałych.