

Malwina Cykowska<sup>1</sup>, Małgorzata Bebek<sup>1</sup>,  
Krzysztof Mitko<sup>1</sup>, Agnieszka Rodak<sup>1</sup>

## ZASTOSOWANIE WSTRZYKOWEJ ANALIZY PRZEPŁYWOWEJ Z DYFUZJĄ GAZOWĄ I DETEKcją SPEKTROFOTOMETRYCZNĄ DO MONITOROWANIA ZAWARTOŚCI SIARCzków ROZPUSZCZALNYCH W WODACH I ŚCIEKACH

**Streszczenie.** Monitorowanie zawartości siarczków w próbkach środowiskowych jest niezwykle ważne ze względu na wysoką toksyczność siarkowodoru. Ponadto siarkowodor jest bardzo istotnym parametrem określającym stopień zanieczyszczenia środowiska. Skomplikowana matryca niektórych próbek środowiskowych utrudnia zastosowanie klasycznych metod badań, przede wszystkim ze względu na pracochłonność i trudny do wyeliminowania wpływ czynników interferujących. Problem rozwiązuje wstrzykowa analiza przepływowa (FIA - Flow Injection Analysis) znajdująca coraz szersze zastosowanie w laboratoriach kontrolno-pomiarowych i środowiskowych zajmujących się monitorowaniem jakości wód i ścieków.

W artykule przedstawiono możliwości wykorzystania wstrzykowego analizatora przepływowego (FIAcompact, firmy MLE) z dyfuzją gazową i detekcją spektrofotometryczną do monitorowania zawartości siarczków rozpuszczalnych w wodach i ściekach. Zastosowanie dyfuzji gazowej w metodyce oznaczania siarczków techniką przepływową pozwala zminimalizować wpływ matrycy na wynik analizy. Użyta hydrofobowa membrana przepuszcza wyłącznie substancje w formie gazowej, stanowiąc barierę dla pozostałych składników próbki, dzięki czemu można skutecznie analizować roztwory o wysokiej zawartości związków interferujących, mętne i barwne. Badania przeprowadzone dla roztworów wzorcowych i próbek środowiskowych, mające na celu optymalizację warunków pomiarowych i określenie wartości podstawowych cech jakościowych i ilościowych metody (m.in. granicy wykrywalności i oznaczalności, precyzji, poprawności), potwierdzają przydatność proponowanej metody do monitorowania stężenia siarczków w wodach i ściekach pod kątem oceny ich jakości. Pełna automatyzacja i praca w układzie zamkniętym znacznie skraca czas analizy, minimalizuje zużycie próbki i odczynników oraz zwiększa bezpieczeństwo pracy analityka.

**Słowa kluczowe:** siarczki, wstrzykowa analiza przepływowa, dyfuzja gazowa, detekcja spektrofotometryczna, woda i ścieki.

---

<sup>1</sup> Główny Instytut Górnictwa w Katowicach, Zakład Monitoringu Środowiska, Laboratorium Analiz Wód i Ścieków, pl. Gwarków 1, 40-166 Katowice, e-mail: mcykowska@gig.katowice.pl, e-mail::mbebek@gig.katowice.pl, e-mail: kmitko@gig.katowice.pl, e-mail: arodak@gig.katowice.pl

## WSTĘP

Związki siarczkowe występują w wodach naturalnych w postaci rozpuszczonego gazowego siarkowodoru lub w postaci siarczków – rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych. W wodach podziemnych obecność siarczków może być efektem rozkładu perytów pod wpływem kwasu węglowego, zaś w silnie zanieczyszczonych rzekach i przydennych częściach jezior siarczki mogą powstawać w wyniku beztlenowego rozkładu związków organicznych zawierających siarkę [1, 2]. Związki siarczkowe mogą przedostawać się do wód wraz z odprowadzanymi ściekami miejskimi lub przemysłowymi m.in. z przemysłu hutniczego, gazowniczego, garbarskiego czy petrochemicznego. Forma, w jakiej występują związki siarczkowe zależy od pH środowiska. Przy  $\text{pH} \leq 6$  przeważa forma niezjonizowanego  $\text{H}_2\text{S}$ , w przedziale  $6 < \text{pH} < 8$  występują głównie jony wodorosiarczkowe  $\text{HS}^-$ , zaś przy  $\text{pH} > 8$  dominującą postacią są jony siarczkowe  $\text{S}^{2-}$  [1]. Siarkowódór jest silnie toksycznym gazem i jego opary, wydzielające się w dużych stężeniach ze ścieków mogą stanowić śmiertelne zagrożenie dla człowieka [3,6]. Siarkowódór rozpuszczony w wodach powierzchniowych wykazuje działanie toksyczne również w przypadku ryb i innych organizmów wodnych. Siarkowódór jest substancją niepożądaną w wodach i ściekach również ze względu na jego silne właściwości korozyjne, niszczące części betonowe i metalowe zbiorników oraz kanałów ściekowych. [1,6]. Zawartość siarkowodoru w wodach środowiskowych może być również wskaźnikiem stopnia ich zanieczyszczenia (stąd jego stężenie w wodach i ściekach podlega ciągłemu monitoringowi) i jest regulowana odpowiednimi przepisami prawnymi [5].

Celem pracy była praktyczna ocena możliwości zastosowania wstrzykowego analizatora przepływowego (FIA – Flow Injection Analysis) z dyfuzją gazową i detekcją spektrofotometryczną do monitorowania zawartości siarczków rozpuszczalnych w wodach i ściekach o zróżnicowanej matrycy i mineralizacji.

## METODYKA BADAŃ

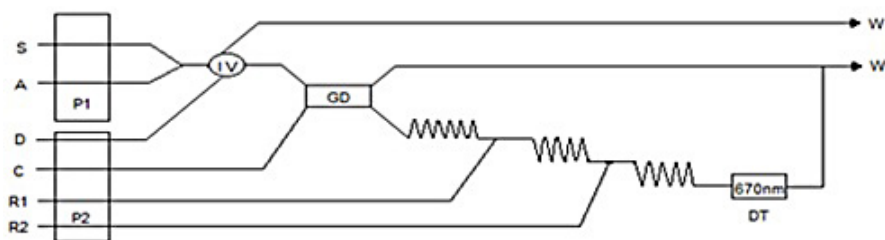
W niniejszej pracy wykorzystano układ do wstrzykowej analizy przepływowej *FIAcompact* niemieckiej firmy MLE, wyposażony w moduł do oznaczania siarczków z wbudowanym dyfuzorem gazowym (dyfuzja gazowa *in-line*) i detektorem spektrofotometrycznym, automatyczny podajnik próbek *FIA sampler* oraz oprogramowanie sterujące *FIA control*. Na rysunku 1 przedstawiono schemat zastosowanego modułu analitycznego do oznaczania siarczków rozpuszczalnych.

Oznaczanie siarczków polega na przekształceniu zawartych w próbce siarczków w postać gazowego siarkowodoru i jego reakcji z dichlorowodorkiem  $\text{N,N}$ -dimetylo-1,4-fentylendiaminy oraz siarczanem(VI) amonu i żelaza(III), w wyniku której powstaje błękit metylenowy.

Próbka w postaci strumienia wprowadzana jest do układu analizatora za pomocą pompy perystaltycznej, gdzie łączona jest z równoległym płynącym strumieniem roz-

tworu buforowego. Rolę roztworu buforowego pełni kwas glutarowy, którego pH wynosi 4. Ściśle określona porcja połączonych strumieni wstrzykiwana jest za pomocą obrotowego zaworu wstrzykowego do spiralnego odcinka przewodu prowadzącego do dyfuzora gazowego, zapewniającego prawidłowe wymieszanie się roztworów i ilościowe wydzielenie gazowego siarkowodoru, powstałego z przekształcenia jonów siarczkowych w zakwaszonym środowisku. Hydrofobowa membrana półprzepuszczalna znajdująca się w dyfuzorze gazowym pozwala oddzielić wydzielony siarkowodor od strumienia cieczy, który następnie absorbowany jest w alkalicznym roztworze akceptora (roztworze wodorotlenku sodu, którego pH wynosi 13) i przekształcany z powrotem w jonową postać siarczków. Po zakończeniu transferu analitu przez membranę zatrzymywana jest pierwsza pompa perystaltyczna i uruchamiana jest druga, odpowiedzialna za wprowadzenie kolejnych roztworów reakcyjnych do układu analizatora oraz za przepływ analitu do detektora (stacjonarny dotychczas roztwór akceptora zaczyna pełnić rolę nośnika analitu).

W reaktorze 1 strumień alkalicznego nośnika łączony jest z kwaśnym strumieniem roztworu dichlorowodoru N,N-dimetylo-1,4-fenylendiaminy. W efekcie reakcji chemicznej pomiędzy zawartymi w nośniku siarczkami a dichlorowodorkiem N,N-dimetylo-1,4-fenylendiaminy powstaje błękit leukometylenowy, utleniany następnie do błękitu metylenowego w reaktorze 2 przez zawarty w kolejnym strumieniu roztworu siarczan(VI) amonu i żelaza(III). Stężenie powstałego błękitu metylenowego jest proporcjonalne do zawartych w analizowanej próbce siarczków, a pomiar jego absorbancji dokonywany jest w sposób ciągły przez spektrofotometryczny detektor przepływowy przy długości fali 670 nm. Dodatkowo, po zakończonym transferze analitu przez membranę hydrofobową uruchamiany jest przepływ strumienia cieczy pomocniczej (roztwór wodorotlenku sodu) przez dyfuzor gazowy, w celu ochrony membrany przed zniszczeniem spowodowanym różnicami ciśnień po obu jej stronach.



**Rys. 1.** Schemat modułu FIA do oznaczania siarczków rozpuszczalnych: S – próbka; P1, P2 – pompy perystaltyczne; C – roztwór nośny; A, D, R1, R2 – reagenty; IV – zawór wstrzykowy; GD – dyfuzor gazowy; DT – detektor; W – ścieki

**Fig. 1.** Schematic diagram of the FIA manifold for determination of dissolved sulphide: S – sample; P1, P2 – pompy perystaltyczne / peristaltic pumps; C – carrier; A, D, R1, R2 – reagents; IV – injection valve; GD – gaseous diffusion unit; DT – detector; W – wastes

Wszystkie stosowane w badaniach roztwory sporządzono z odczynników charakteryzujących się czystością cz.d.a oraz wody o przewodności elektrycznej właściwej  $< 0,1 \mu\text{S/cm}$ . Roztwory odgazowywano poprzez sączenie ich pod zmniejszonym ciśnieniem przez sączek membranowy o wielkości porów  $0,45 \mu\text{m}$ .

Kalibracyjne roztwory wzorcowe sporządzano w oparciu o roztwór wzorcowy siarczków o stężeniu wynoszącym około  $1000 \text{ mg/L S}^{2-}$ , sporządzony w laboratorium z naważki  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (*Sigma Aldrich*, USA). Do określenia podstawowych parametrów jakościowych i ilościowych metody wykorzystywano roztwór wzorcowy siarczków o stężeniu wynoszącym około  $1000 \text{ mg/L S}^{2-}$ , sporządzony w laboratorium z naważki  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (*Acros Organics*, Belgia) oraz próbki środowiskowe o różnicowanym składzie fizyko-chemicznym (woda podziemna, woda powierzchniowa oraz surowe ścieki komunalne i przemysłowe).

Roztwory wzorcowe siarczków o stężeniu wynoszącym około  $1000 \text{ mg/L S}^{2-}$  mianoowano jodometrycznie w dniu ich sporządzenia i odpowiednio rozcieńczano wodą dejonizowaną w celu uzyskania roboczego roztworu wzorcowego siarczków o stężeniu  $10 \text{ mg/L S}^{2-}$ . Robocze roztwory wzorcowe siarczków utrwalano poprzez alkalizację kilkoma kroplami 50% roztworu wodorotlenku sodu do  $\text{pH} > 9$  i dodatek  $0,2 \text{ mL}$  roztworu octanu cynku ( $c = 1 \text{ mol/L}$ ) na każde  $100 \text{ mL}$  roztworu wzorcowego siarczków. Tak sporządzone roztwory przechowywano bez dostępu światła w temperaturze  $2\text{--}6 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Próbki wód i ścieków bezpośrednio po pobraniu sączono pod zmniejszonym ciśnieniem przez sączek membranowy o wielkości porów  $0,45 \mu\text{m}$ , utrwalano jak wyżej i przechowywano bez dostępu światła w temperaturze  $2\text{--}6 \text{ }^\circ\text{C}$  aż do czasu przeprowadzenia analizy.

W oparciu o wyniki badań ustalono, że czas przechowywania roboczych roztworów wzorcowych oraz próbek wód podziemnych i powierzchniowych utrwalonych w sposób opisany powyżej wynosi maksymalnie 14 dni, zaś w przypadku próbek ścieków 2 dni. Próbki, jak i robocze roztwory wzorcowe bezpośrednio przed analizą mieszano w stosunku 4:1 z roztworem buforująco-przeciwutleniającym, zawierającym EDTA, NaOH i kwas askorbinowy. Do ewentualnych rozcieńczeń próbek środowiskowych i roztworów wzorcowych o stężeniu  $\leq 10 \text{ mg/L S}^{2-}$  stosowano zamiast wody dejonizowanej 5-krotnie rozcieńczony roztwór buforująco-przeciwutleniający.

Czynniki przeszkadzające w oznaczaniu siarczków takie jak substancje utleniające, wysoka pojemność buforowa, barwa i mętność eliminowano na etapie utrwalenia próbki oraz w trakcie analizy.

## WYNIKI

Badania prowadzono w zakresie roboczym obejmującym stężenia siarczków od  $0,02 \text{ mg/L S}^{2-}$  do  $1,0 \text{ mg/L S}^{2-}$ . Zastosowany zakres roboczy stężeń nie umożliwił osiągnięcia liniowości funkcji kalibracyjnej. W literaturze [4] nieliniowość funkcji kalibracyjnej tłumaczona jest tworzeniem się jonowej formy błękitu metylenowego

(MB)<sup>2+</sup> powstającej w ilości proporcjonalnej do stężenia błękitu metylenowego (MB), charakteryzującej się nieco słabszym zabarwieniem od formy niejonowej. Wielomianową funkcję kalibracyjną wykreślono dla czterech poziomów stężeń (0,01 mg/L; 0,1 mg/L; 0,5 mg/L i 1,0 mg/L), dla każdego punktu pomiarowego rejestrując po dwa niezależne powtórzenia absorbancji. Funkcję kalibracyjną wykreślano każdorazowo przed analizą, wykorzystując do tego roztwory wzorcowe siarczków przygotowywane w dniu wykonywania pomiarów. Tabela 1 zawiera zestawione średnie wartości absorbancji z 16 wybranych funkcji kalibracyjnych dla czterech stosowanych w kalibracji poziomów stężeń roztworu wzorcowego.

**Tabela 1.** Średnie wartości absorbancji  $\bar{x}$  dla czterech poziomów stężeń kalibracyjnych roztworów wzorcowych wraz z wartościami odchylenia standardowego  $s$

**Table 1.** The mean absorbance value  $\bar{x}$  obtained for the four calibration standard solution with values of standard deviation  $s$

Stężenie kalibracyjnego roztworu wzorcowego The concentration of the calibration standard solution	$\bar{x} \pm s$
0,01	0,0053 ± 0,0002
0,1	0,0484 ± ,0025
0,5	0,2365 ± 0,0122
1,0	0,4621 ± 0,0225

Granica wykrywalności i oznaczalności metody została wyznaczona na podstawie pomiarów przeprowadzonych dla próbek ślepych z dodatkiem roztworu wzorcowego siarczków na poziomie stężeń wynoszącym 0,01 mgS<sup>2-</sup>/L i 0,02 mgS<sup>2-</sup>/L oraz dla trzech domieszkowanych analitem (0,01 mgS<sup>2-</sup>/L i 0,02 mgS<sup>2-</sup>/L) próbek środowiskowych o zróżnicowanej matrycy (woda podziemna, woda powierzchniowa, surowy ściek przemysłowy). Granicę wykrywalności i oznaczalności obliczono odpowiednio jako trzykrotną (3\*s) i dziesięciokrotną (10\*s) wartość odchylenia standardowego wyznaczonego na podstawie wyników stężeń uzyskanych dla serii 10 niezależnie przygotowanych wyżej wymienionych próbek. Obliczona wartość granicy wykrywalności wyniosła 0,003 mg/L S<sup>2-</sup>, zaś granicy oznaczalności 0,01 mg/L S<sup>2-</sup>. Jako granicę oznaczalności przyjęto jednak wartość 0,02 mg/L S<sup>2-</sup>, gdyż dopiero na tym poziomie stężenia uzyskano satysfakcjonujące wyniki odzysku wzorca.

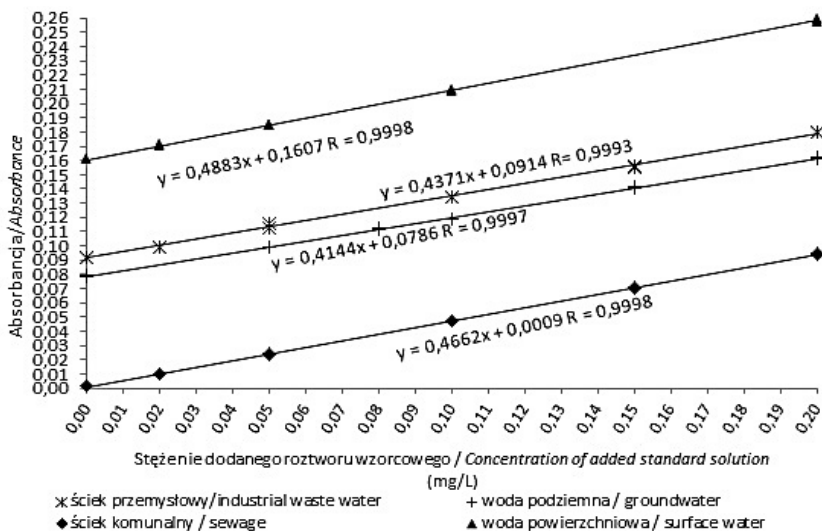
Precyzję w warunkach powtarzalności określono na podstawie wyników pomiarów dla roztworów wzorcowych (po 10 niezależnych oznaczeń stężenia analitu na kilku poziomach stężeń) oraz dla próbek środowiskowych o zróżnicowanej matrycy (woda podziemna, woda powierzchniowa, oraz surowe ścieki komunalne i przemysłowe). Dla każdej próbki środowiskowej wykonano po trzy niezależne oznaczenia. Powtarzalność metody wyznaczono w oparciu o wartość współczynnika zmienności CV (%). Precyzja opracowanej metody w warunkach powtarzalności nie przekroczyła wartości 5% (tab. 2).

**Tabela 2.** Wybrane parametry walidacji proponowanej metody  
**Table 2.** Some validation parameters for the proposed method

Granica wykrywalności / Limit of detection (mg/L)		0,003
Granica oznaczalności / Limit of quantification (mg/L)		0,02
Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna / Intra-laboratory reproducibility %		4,0 - 5,0
Rodzaj próbki / Sample	Powtarzalność / Repeatability %	Odzysk / Recovery %
Roztwory wzorcowe / Standard solutions	0,8 - 2,6	–
Ściek przemysłowy / Industrial waste water	0,5 - 4,0	85 - 96
Ściek komunalny / Sewage	0,3 - 4,9	94 - 100
Woda podziemna / Groundwater	0,2 - 0,4	93 - 96
Woda powierzchniowa / Surface water	0,5 - 3,3	98 - 105

Precyzję w warunkach odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej określono w oparciu o wartość współczynnika zmienności CV (%) obliczoną na podstawie wyników pomiarów roztworów wzorcowych, w których siarczki oznaczane były na czterech różnych poziomach stężeń w okresie 3 miesięcy (n=16). Obliczona, wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność metody również nie przekroczyła wartości 5% (tab. 2).

Poprawność metody określono na podstawie wyników międzynarodowych badań biegłości oraz badań odzysku. W badaniach biegłości (RTC, USA, liczba uczestników 32) uzyskano wynik poprawny, obarczony 3,2% błędem w stosunku do wartości praw-



**Rys. 2.** Wykres zależności absorbancji od stężenia roztworu wzorcowego dodanego do próbki  
**Fig. 2.** The graphical relationships between absorbance and corresponding concentration of standard addition

dziwej ( $7,56 \text{ mg/L S}^{2-}$ ). Badania odzysku przeprowadzono dla zróżnicowanych pod kątem składu fizyko-chemicznego próbek środowiskowych (woda podziemna, woda powierzchniowa oraz surowe ścieki komunalne i przemysłowe) z zastosowaniem metody wielokrotnego dodatku wzorca. W przypadku powyższych badań jako miarę poprawności przyjęto procentową wartość odzysku w próbce wzbogaconej (lub domieszkowanej) obliczoną względem próbki bez dodatku analitu. Przyjęto, iż dopuszczalna wartość odzysku wynosi od 85% do 115%, zaś zadawalająca wynosi od 90% do 110%. Dodatkowo w przypadku każdej analizowanej próbki środowiskowej sprawdzono liniowość zależności uzyskanej absorbancji od stężenia dodanego do próbki wzorca siarczków, poprzez wyznaczenie wartości współczynnika korelacji R. W tabeli 2 przedstawiono uzyskane wartości odzysków dla wybranych próbek. W większości wypadków uzyskano zadawalające wyniki odzysków jak i wartości współczynników korelacji  $> 0,999$ , co zilustrowano na rysunku 2.

## DYSKUSJA WYNIKÓW I WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły dobrać odpowiednie warunki pomiarowo-analityczne oznaczania siarczków rozpuszczalnych w wodach i ściekach metodą wstrzykowej analizy przepływowej FIA z dyfuzją gazową i detekcją spektrofotometryczną. Ustalono najbardziej optymalny (dla potrzeb rutynowych pomiarów) zakres roboczy obejmujący stężenia siarczków od 0,02 oraz sposób przygotowania, postępowania i utrwalania próbek. Stwierdzono konieczność wykonywania kalibracji przed każdą serią pomiarową w celu poprawy dokładności wyników pomiarów.

Wyznaczone w procesie walidacji wartości istotnych parametrów proponowanej metody takich jak granica wykrywalności i oznaczalności, precyzja w warunkach powtarzalności, odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna i poprawność spełniają wymagania stawiane metodzie analitycznej oraz potwierdzają jej przydatność w rutynowych warunkach pomiaru. Niska, potwierdzona przeprowadzonymi badaniami granica oznaczalności ( $0,02 \text{ mg/L S}^{2-}$ ) oraz wysoka czułość metody wskazują na możliwość wykorzystania metody w oznaczaniu siarczków również w zakresie niskich stężeń. Ponadto granica oznaczalności, którą przyjęto w procesie walidacji jest dużo niższa od dopuszczalnej, określonej w Rozporządzeniu Ministra Środowiska [5] jako  $0,2 \text{ mg/L S}^{2-}$ .

Wyposażenie wstrzykowego analizatora przepływowego w dyfuzor gazowy w istotny sposób wpływa na selektywność oznaczenia ze względu na wyodrębnienie analitu z matrycy, co znacznie zwiększa konkurencyjność wstrzykowej analizy przepływowej w porównaniu z metodami klasycznymi, gdyż daje możliwość analizy roztworów o wysokiej zawartości czynników zakłócających. Pełna automatyzacja układu zapewnia wysoką powtarzalność i odtwarzalność wykonywanych oznaczeń oraz zwiększa bezpieczeństwo pracy analityka z odczynnikami o dużej toksyczności. Ponadto niewielkie rozmiary przewodów i modułów przepływowych znacznie

redukują objętość próbek i odczynników niezbędnych do przeprowadzenia analizy, co pozwala na sklasyfikowanie wstrzykowej analizy przepływowej jako techniki przyjaznej środowisku (zielona chemia).

## PIŚMIENNICTWO

1. Hermanowicz W., Dojlido J., Dożańska W., Koziorowski B., Zerbe J. 1999. Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków. Arkady, Warszawa: 71-79.
2. Małecki Z., 2007. Koncepcja rekultywacji zbiornika retencyjnego Pokrzywnica k/Kalisza. Inżynieria Ekologiczna, 19: 113-122.
3. Patniak P. 2007. A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances. Third ed., Wiley, New York: 407.
4. Rabinowitch E., Epstein L.F., 1941. Polymerization of dye stuffs in solution - Thionine and methylene blue: Journal of the American Chemical Society, 63: 69-78.
5. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego. Dz.U. nr 137, poz. 984.
6. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998. 20th ed., APHA, DC, USA: 4-162.

## AN APPLICATION OF FLOW INJECTION ANALYSIS WITH GAS DIFFUSION AND SPECTROPHOTOMETRIC DETECTION FOR THE MONITORING OF DISSOLVED SULPHIDE CONCENTRATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

### Abstract

The monitoring of the concentration of sulphide is very important from the environment point of view because of high toxicity of hydrogen sulphide. What is more hydrogen sulphide is an important pollution indicator. In many cases the determination of sulphide is very difficult due to complicated matrix of some environmental samples, which causes that most analytical methods cannot be used. Flow injection analysis allows to avoid matrix problem what makes it suitable for a wide range of applications in analytical laboratories. In this paper determination of dissolved sulphide in environmental samples by gas-diffusion flow injection analysis with spectrophotometric detection was presented. Used gas-diffusion separation ensures the elimination of interferences caused by sample matrix and gives the ability of determination of sulphides in coloured and turbid samples. Studies to optimize the measurement conditions and to determine the value of the validation parameters (e.g. limit of detection, limit of quantification, precision, accuracy) were carried out. Obtained results confirm the usefulness of the method for monitoring the concentration of dissolved sulphides in water and waste water. Full automation and work in a closed system greatly reduces time of analysis, minimizes consumption of sample and reagents and increases safety of analyst's work.

**Keywords:** sulphide, flow injection analysis, gas diffusion, spectrophotometric detection, water and waste water.