

Ligevægtsopsamling gennem membraner

Ligevægtsopsamling gennem membraner (Equilibrium Sampling Through Membranes, ESTM) er et nyt koncept med hulf bre til oprensning, opkoncentrering og måling af polære organiske stoffer og metaller. Metoden kan anvendes til såvel prøveforberedelse i laboratoriet som prøveudtagning i felten

Af Lars Toräng¹, Fredrik Reichenberg¹, Niklas Larsson², Jing-fu Liu³, Roberto Romero², Jan Åke Jönsson² og Philipp Mayer¹

¹ Afd. for Miljøkemi og Mikrobiologi, Danmarks Miljøundersøgelser, Roskilde; ² Institut for Analytisk Kemi, Lunds Universitet;

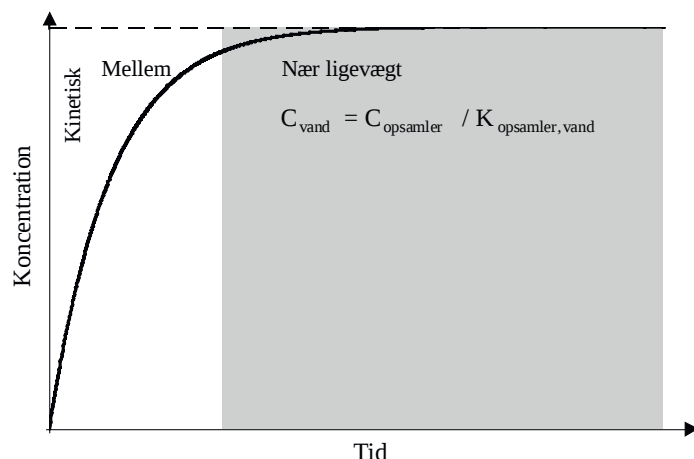
³ Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing

Mange analytiske metoder måler den totale koncentration af kemikalier. Det er ikke nødvendigvis et relevant mål for eksponeringen, da de kemiske forbindelser kan være bundne eller på andre måder utilgængelige i miljøet. Et relativt nyt område inden for eksponeringsanalyse - baseret på simple diffusive opsamlingssteknikker - er derfor opstået. Metoderne måler den frit opløste koncentration, eller i yderste konsekvens stoffernes fugacitet eller kemiske aktivitet [1]. Den kemiske aktivitet af et kemikalie er en drivende kraft for transport, fordeling og biokoncentrering og er således et nøgleparameter for vurdering af biotilgængelighed og toksiske effekter i miljøet [2].

Passiv prøvetagning

Udviklingen af passiv prøvetagning inden for miljøovervågning er i stærk vækst, og i dag findes der mange forskellige former og metoder [3]. De fleste metoder opererer i det kinetiske optagsområde, som kan ses i figur 1. Her er optagelseskurven linear, og kalibreringen kræver et præcist kendskab til optagelsesraten. Den afhænger bl.a. af analytterne og de hydrologiske forhold, der også kan ændre sig, når der dannes en biofilm på overfladen af den passive opsamler. De mest prominente metoder, der bruges i det kinetiske område, er »Semipermeable Membrane Devices (SPMD)« for organiske stoffer samt »Diffusive Gradient in Thin Films (DGT)« for kationiske metaller.

Ligevægtsopsamlere (Equilibrium Sampling Devices) opererer i området med ligevægt, hvor det ikke er nødvendigt at kende den præcise optagelsesrate [1]. Her kræves det blot, at



Figur 1. Optagelseskurve for en passiv prøveopsamler. En passiv prøveopsamler kan operere i tre områder; kinetisk (hvidt), mellem (prykket) og nær ligevægt (gråt), og eksperimentelle data kan ofte modelleres med en simpel eksponentiel funktion (ligning 1). Ved ligevægt vil den kemiske aktivitet være ens i prøven og i opsamleren, $a_{\text{vand}} = a_{\text{opsamler}}$, og koncentrationen vil derfor være givet gennem fordelingskoefficienten, $K_{\text{opsamler, vand}}$.

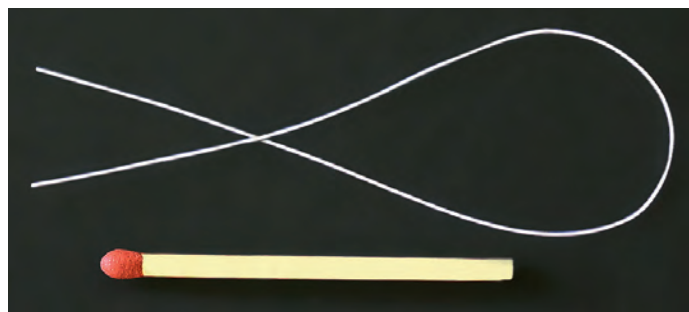
fordelingskoefficienten mellem vandprøven og opsamleren, $K_{\text{opsamler, vand}}$, er veldefineret og kendt. Koncentrationen i vandprøven kan herefter beregnes som $C_{\text{vand}} = C_{\text{opsamler}} / K_{\text{opsamler, vand}}$. Den mest benyttede metode er Solid Phase MicroExtraction (SPME), som bruger en tynd glasfiber med et endnu tyndere polymerlag til at opsamle stofferne. Fiberen kan derefter stikkes direkte i injektionsporten af en GC til termisk desorption og efterfølgende analyse. SPME er velegnet til ligevægtsopsamling pga. dets meget store overflade- til volumenforhold, der giver en hurtig optagelseskinetik [1]. Desværre er SPME mindre egnet til analyse af de mere polære stoffer vha. HPLC.

Der er derfor behov for nye opsamlingssteknikker, som kombinerer et stort overflade- til volumenforhold med en god kompatibilitet med HPLC. Det er baggrunden for udviklingen af det nye analytiske koncept »ligevægtsopsamling gennem membraner«, der kombinerer erfaringer fra passiv prøvetagning med traditionel membranekstraktion.

Princip for ligevægtsopsamling gennem membraner

Kernen i metoden er, at der både opnås ligevægt mellem prøve og membran og igen mellem membran og et prøvetagningsmedium. Den kemiske aktivitet af analytterne er således ens i prøven og i opsamleren ved ligevægt, $a_{\text{vand}} = a_{\text{opsamler}}$. Analyseoptimeringen skal derfor tage hensyn til at disse ligevægte opnås og opretholdes. Parametre som membrantype og -tykkelse, overflade/volumenforhold, omrøring, temperatur, ionstyrke og pH i prøven har betydning for, hvor hurtigt ligevægten opnås.

Vi bruger hulfibermembraner med et meget stort overflade- til volumenforhold for at opnå ligevægt så hurtigt som muligt (figur 2). Mediet til prøveopsamlingen designes efter, hvilke



Figur 2. Ligevægtsopsamling gennem en membran kan f.eks. udføres i en porøs hulfiber af polypropylen (240 µm ID, 29 µm vægtykkelse, 0,04 µm porestørrelse, 40% porøsitet), som imprægneres med en organisk væske, der udgør selve membranen. Afhængigt af hvilke kemikalier man ønsker at måle, kan membranen imprægneres med f.eks. undecan, dihexyl ether eller poly(propylene glycol). Et medium til prøvetagningen sprøjtes herefter ind i fiberen og lukkes, og herefter placeres hulfiberen i prøvematrixen. Efter at ligevægten er opnået analyseres mikrokonzentratet på f.eks. HPLC/LC-MS.

analytter man er interesseret i og efter hvor høj en opkoncentrering, man ønsker. F.eks. kan mediet optimeres mht. pH og indholdet af kompleksbindere og antistoffer. Ved ligevægtsopsamling gennem membraner skal følgende to forudsætninger altid være opfyldt: 1) ligevægten opnås inden for en rimelig tidshorisont og 2) prøvetagningen må ikke påvirke koncentrationen i prøvemeditet.

Modellering af data

Eksperimentelle data kan ofte modelleres med følgende funktion:

$$C_{\text{opsamler}}(t) = C_{\text{vand}} \cdot \frac{k_1}{k_2} \cdot (1 - e^{-k_2 \cdot t}) \quad (1)$$

hvor $C_{\text{opsamler}}(t)$ er koncentrationen af kemikalie i prøveopsamleren som funktion af tiden, t , C_{vand} er den frit opløste koncentration af kemikalien i miljøet, og k_1 og k_2 er hhv. optagelses- og afgivelses-hastighedskonstanter.

Tiden for at opnå 90% af ligevægtskoncentrationen kan estimeres med ligning 2:

$$t_{90\%} = \frac{\ln 10}{k_2} = K_{\text{opsamler, vand}} \cdot \frac{\ln 10}{k_1} \quad (2)$$

hvor $K_{\text{opsamler, vand}}$ er fordelingskoefficienten mellem vandprøven og prøveopsamleren.

Analogi

I mange henseender kan udstyr til ligevægtsopsamling ses som en analog til et termometer. Et termometer måler en intern temperatur, men ikke nødvendigvis temperaturen i dets omgivelser. Anvendes termometeret korrekt med opmærksomhed på responstiden, kan man bestemme temperaturen i forskellige medier. I stedet for temperatur kan ligevægtsopsamling måle den kemiske aktivitet eller fugacitet. Tabel 1 beskriver tre basale forudsætninger for at anvende ligevægtsopsamling, som alle er velkendte fra brugen af et termometer.

Tre basale forudsætninger for at kunne anvende ligevægtsopsamling er velkendte fra måling med et termometer.

	Ligevægtsopsamling	Termometer
Ligevægts bestemmelse	En stabil koncentration opnås efter en kendt responstid	En stabil temperatur kan aflæses efter en kendt responstid
Negligierbar påvirkning af prøven	Opsamlerens sorptionskapacitet er meget mindre end matricens for at forhindre et koncentrationsfald	Termometerets varmekapacitet er meget mindre end matricens for at forhindre en temperaturforandring
Responstid	Responstiden skal være hurtigere end de fluktuationer som måles	Termometeret skal respondere hurtigere end de fluktuationer som måles

Tabel 1. Sammenligning af ligevægtsopsamling med et termometer.

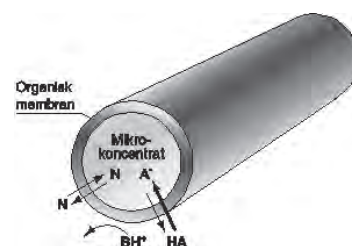
Eksempel på anvendelse...

Phenoler

Den frit opløste koncentration af svage syrer og baser kan bestemmes med ligevægtsopsamling gennem en membran. Princippet bygger på, at det kun er uladete molekyler, der kan passere en imprægneret hulfibermembran [4]. For stoffer med syre-base-egenskaber kan dette udnyttes ved inde i fiberen at have en vandig phosphatbuffer med et pH højere end stoffets pK_a og højere end pH i prøven. Svage syrer vil her i højere grad være dissocieret og vil derfor opkoncentreres i phosphatbufferen (figur 3). Neutrale stoffer kan ligeledes passere membranen

men opkoncentreres ikke i bufferen og diffusionshastigheden afhænger bl.a. af molekylstørrelsen. Vha. en pH-gradient over membranen er det derfor muligt at oprense og opkoncentrere kemikalier, der i prøven optræder på en delvis dissociert form. Det er for phenoler muligt at beregne en teoretisk fordelingskoefficient ud fra kendskab til stoffets pK_a og pH i vandprøven og i prøveopsamleren, $K_{\text{opsamler, vand}} = (1 + 10^{pH \text{ i vandprøve} - pK_a}) / (1 + 10^{pH \text{ i opsamler} - pK_a})$. I andre tilfælde kan det være nødvendigt at bestemme fordelingskoefficienten eksperimentelt. Princippet er med succes anvendt på fem chlorphenoler med meget forskellige pK_a -værdier (4.9-9.2) og log K_{ow} -værdier (2,35-5,01) i både åvand og drænvand i µg/L-området [5]. Det er for nogle af stofferne muligt at opnå en opkoncentrering på mere end en faktor 1000, men her vil tiden for at opnå ligevægt øges fra få timer til et par dage. Det udviklede prøveudtagningsudstyr består af en enkelt imprægneret hulfiber og er billigt og let at lave (svarende til hulfiberen vist på figur 2).

Figur 3. Principtegning for ligevægtsopsamling gennem en hulfibermembran med opkoncentrering af svage syrer (f.eks. chlorphenoler) ind i en statisk basisk phosphatbuffer.



Kobber

Princippet med ligevægtsopsamling gennem en membran er også anvendt i udviklingen af en sensitiv spektrofotometrisk metode til måling af frit opløst kobber (Cu^{2+}) i vandige prøver [6]. Metoden er baseret på ligevægtsopsamling gennem en kobber-selektiv hulfibermembran ind i et prøvetagningsmedium indeholdende 4-(pyridyl-2-azo)resorcinol (PAR), som både fungerer som kompleksbinder og som metalindikator. Den selektive membran gør det muligt at kvantificere Cu-PAR-komplekset ved simple målinger af den optiske densitet på spektrofotometer, hvilket er næsten uhørt i miljøprøver. Den optimerede metode for måling af Cu^{2+} har en opkoncentringsfaktor på 93 mellem opsamleren og prøven, god reproducerbarhed (RSDs < 6%, $n = 6$) og en detektionsgrænse på 4 µg/L. Kationer af Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} og Mn^{2+} påvirker ikke målingen af Cu^{2+} . Prøver med forskelligt indhold af ligander og kationer viser samtidig en fin overensstemmelse mellem målte og teoretiske beregnede koncentrationer (tabel 2). Metoden har været anvendt ►

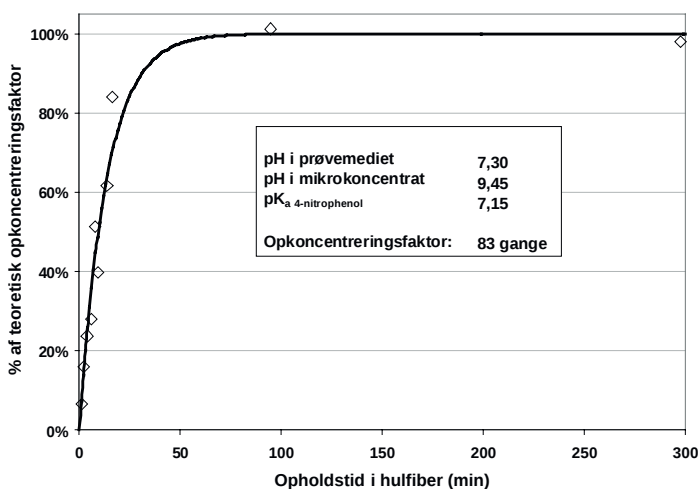
		Vand 1	Vand 2	Vand 3
pH		7.4	7.5	7.9
total Cu	µg/L	200	100	50
Ni^{2+}	µg/L		50	100
Co^{2+}	µg/L	10		40
Fe^{3+}	µg/L	40	100	
Pb^{2+}	µg/L	75		100
Zn^{2+}	µg/L		300	
Cd^{2+}	µg/L	10	50	
Mn^{2+}	µg/L	25		
humus syre	mg/L	1		
phthalsyre	M		10^{-4}	
EDTA	M			10^{-7}
catechol	M		10^{-7}	
salicylsyre	M			10^{-6}
frit Cu^{2+} teoretisk	µg/L	61.9	32.8	12.4
frit Cu^{2+} experimentielt	µg/L	58.8	31.4	12.2

Tabel 2. Analyse af frit opløst kobber, Cu^{2+} , i fremstillede vandprøver (data fra [6]).

på overfladevand og kræver generelt mindre arbejde og mindre sofistikeret udstyr end konventionelle metoder, der typisk er baseret på atom absorption spektrometri eller ICP-MS.

Online måling af 4-nitrophenol

Det er også muligt at udnytte princippet til online-målinger [7]. Her placeres en lang hulfiber i en vandprøve, f.eks. direkte i et rensningsanlæg, og gennem hulfiberen pumpes langsomt en fosfatbuffer. Ved at variere hastigheden på pumpen kan opholdstiden i hulfiberen ændres. Hulfiberen kobles herefter direkte med en 100 cm lang Long-Pass Flow Cell fra Ocean Optics, hvorved man får en yderst følsom spektrofotometrisk metode til bestemmelse af frit opløst 4-nitrophenol direkte i en miljømatrice. Metoden har en detektionsgrænse under 1 µg/L i aktiv slam. I figur 4 er vist nogle eksperimentelle resultater, hvor tiden for at opnå 90% af ligevægtskoncentration kan bestemmes til 31 minutter. Samtidig er der fin overensstemmelse mellem den målte værdi for opkoncentreringsfaktoren på 83 og den teoretiske værdi beregnet vha. formlen givet i eksemplet om phenoler.



Figur 4. Eksempel på online-målinger af 4-nitrophenol opnået gennem en 5 meter lang hulfiber. Hulfiberen er anbragt i prøvediet med pH 7,30, mens der kontinuert pumpes en fosfatbuffer med pH 9,5 igennem med forskellige hastigheder. Opkoncentringsfaktoren blev målt til 83.

Fremtidig brug af ESTM

Fremtiden tegner lovende for brug af ligevægtsopsamling gennem membraner (ESTM) til prøvetagning i felten. Andre prøvetagnings- og ekstraktionsteknikker som anvendes kan kun vanskeligt bruges direkte i felten, da de ofte kræver et veldefineret prøvolumen eller kontrollerede og standardiserede forhold under prøvetagning. ESTM kræver kun, at prøveopsamlere kommer i ligevægt med et tilstrækkeligt stort prøvolumen, det gør det meget velegnet til feltmålinger. I den henseende ligner ESTM andre ligevægtsprøvetagere, sensorer og selektive elektroder. Alle disse teknikker kan anvendes under mange forskellige forhold. I den sammenhæng ser brug af ligevægtsopsamlere baseret på hulfibre dog ud til at være et attraktivt format til prøvetagning i felten, da de er billige, simple og har et højt overflade-til-volumenforhold.

Tak

Vi takker MISTRA, stiftelse for miljøstrategisk forskning, Sverige for bevillingen til samarbejdsprojektet »Equilibrium sampling through membranes – towards online and onsite exposure measurements of available pollutants«. Desuden

takker vi forskerskolen RECETO samt STVF for støtte til forskningsområdet.

E-mail-adresser
Lars Toräng: lato@dmu.dk
Philipp Mayer: phm@dmu.dk

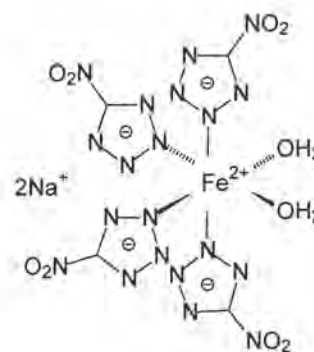
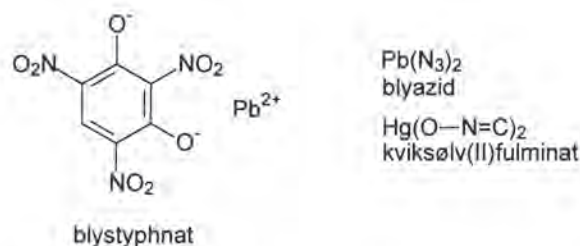
Referencer

1. Mayer, P.; Tolls, J.; Hermens, L.; Mackay, D. *Environmental Science & Technology*. 2003, 37 (9), 184-191.
2. Reichenberg, F.; Mayer, P. *Environ Toxicol Chem*. 2006, 25 (5), 1239-1245.
3. Stuer-Lauridsen, F., *Environmental Pollution* 2005, 136 (3), 503-524.
4. Jonsson, J. A. In *Comprehensive Analytical Chemistry XXXVII*, Elsevier Science, ed.; Pawliszyn J. Ed.; 2002; Chapter 15, p. 503-530.
5. Liu, J. F.; Jonsson, J. A.; Mayer, P. *Analytical Chemistry*. 2005, 77 (15), 4800-4809.
6. Romero, R.; Liu, J. F.; Mayer, P.; Jonsson, J. A. *Analytical Chemistry*. 2005, 77 (23), 7605-7611.
7. Toräng, L.; Mayer, P.; Romero, R.; Jing-fu L.; Jönsson J.Å. 2006. Præsentation ved HTC-9 / ExTech 2006. 6-10 February 2006, York, United Kingdom.

Nyt om...

... miljøvenlige sprængstoffer

Man har som initialsprængstoffer, sprængstoffer, der skal tænde en større mængde sprængstof, anvendt knaldkviksølv, (kviksølv(II)fulminat), blyazid eller blystyphnat, der alle giver tungmetallforureninger eller organiske forbindelser med et højt nitrogenindhold i form af azider eller



tetrazolderivater. Disse sidste er imidlertid stærkt chok- og temperaturfølsomme. Det er nu lykkedes at fremstille initialsprængstoffer med miljøvenlige metaller, som ikke er så følsomme. Nederst er vist et jernkompleks.

Carl Th.

Green primaries: Environmentally friendly energetic complexes, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 2006 side 5409.