

ANALÝZA TĚKAVÝCH HALOGENOVANÝCH UHLOVODÍKŮ VE VODÁCH MIKROEXTRAKCÍ TUHOU FÁZÍ A GC-MS

VÁCLAV JANDA a IVAN VÍDEN

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 16.X.1997

Úvod

Pro izolaci a zakoncentrování organických látek z vody před vlastní analytickou koncovkou se kromě extrakce organickým rozpouštědlem a extrakce plynem používá i extrakce tuhrou fází. Látky zachycené na sorbentu jsou pak k analýze (zpravidla chromatografické) uvolněny buď tepelnou desorpčí nebo častěji vhodným organickým rozpouštědlem. V posledních letech byla vypracována nová varianta tohoto postupu: mikroextrakce tuhrou fází (Solid Phase Micro Extraction - SPME). Princip metody je poměrně jednoduchý: malé množství sorbentu je naneseno na vlákno z křemenného skla. Vlákno se ponoří do promíchávaného vzorku vody (jde-li o analýzu těkavých látek, lze vzorkovat i plynnou fází nad vzorkem vody) a vyčká se, až se ustanoví rovnováha. Po ustanovení rovnováhy se vlákno vytáhne ze vzorkované matrice a vloží se do nástřikového prostoru plynového (kapalinového) chromatografu. Látky zachycené na sorbentu tepelně desorbují (v případě kapalinové chromatografie desorbují mobilní fází) a jsou unášeny nosným plynem na kolonu chromatografu, kde dochází k jejich separaci. Při průchodu pryžovými septy vzorkovnice a chromatografu se vlákno zatáhne do jehly, která jej chrání proti mechanickému poškození. Při vzorkování a chromatografické analýze je vlákno z jehly vysunuto.

Koncept SPME byl navržen v první polovině devadesátých let Januszem Pawliszynem (University of Waterloo, Ontario, Kanada). V současné době jsou SPME aparátky komerčně dodávány firmou Supelco. Jsou dodávána vlákna s různou polaritou sorbentu: nepolární na bázi polydimethylsiloxanů, středně polární na bázi polyethylenglykolu a polární na bázi metakrylátu. Dále jsou dodávána i vlákna se smíšeným sorbentem na bázi polydimethylsiloxanu s gra-

fitizovaným uhlíkem (Carboxen), která jsou vhodná pro analýzu těkavých látek.

Po počáteční nedůvěře analytiků se dnes SPME považuje za velmi perspektivní metodu, která nachází uplatnění nejenom v analýze vod, jak ukazuje stručný souhrn prací publikovaných v posledních letech (viz tabulka I).

K důvěryhodnosti SPME metody přispěl i šikovný tah firmy Supelco: zorganizovala okružní rozbor vody na pesticidy v 11 celosvětově uznávaných laboratořích, kterým dodala SPME aparátky, chromatografické kolony, modelový roztok pesticidů a jednotný laboratorní postup. Toto mezilaboratorní srovnání dopadlo úspěšně¹⁷. Dobře dopadlo i obdobné mezilaboratorní testování SPME pro analýzu těkavých látek (BTX aromátů a halogenovaných uhlovdíků) v pitné vodě¹⁸.

Cílem práce popsané v tomto příspěvku bylo otestovat SPME metodu pro analýzu těkavých halogenovaných uhlovdíků ve vodách a ověřit některé kritické parametry tohoto postupu.

Tabulka I
Aplikace SPME

Matrice	Analyt	Lit.
Moč	anorektické látky	1
Voda	substituované benzeny	2,3
Moč	metadon	4
Voda	tetraethylolovo	5
	chlorfenoly	6
	fenoly	7,8
	pesticidy	9, 10, 16
	heteroaromáty	11
	PAH, PCB	12
	těkavé látky	13
	chlorované uhlovdíky	14
Nápoje	kofein	15

Experimentální část

Pro SPME byly použity aparátky od firmy Supelco. Použita byla buď vlákna se sorbentem na bázi dimethylpolysiloxanu (tloušťka filmu 100 μm - katalogové číslo

5-7300) nebo dimethylpolysiloxanu/Carboxenu (tloušťka filmu 75 μm - katalogové číslo 5-7318).

SPME byla prováděna buď z plynné fáze nebo přímo ze vzorku vody. Pokud byla sorpce prováděna z plynné fáze, byl zvolen tento postup: do vzorkovnice o objemu 5 ml byly odměřeny 2 ml vzorku vody. Vzorkovnice byla uzavřena poteflonovaným pryžovým septem. SPME vlákno bylo zavedeno do plynné fáze nad vzorek vody (vzorek byl promícháván na magnetické míchačce) a ponecháno zde po dobu 15 min. Vzorkování bylo prováděno při 22 °C. Po ukončení sorpce bylo vlákno zataženo do jehly a vytaženo ze vzorkovnice. Pak byla okamžitě provedena chromatografická analýza.

Podobný postup byl aplikován i při sorpci přímo z vody, s tím rozdílem, že vlákno bylo ponořeno přímo do vzorku vody.

Jako finální analytická koncovka byla použita plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (přístroj Fisons GC 8000/MD 800, ionizace nárazem elektronů 70 eV). Chromatografická kolona byla křemenná kapilární 30 m dlouhá, 0,32 mm vnitřní průměr, s tloušťkou filmu stacionární fáze 1 μm SPB-1 - Supelco). Teplotní program byl následující: 35 °C po dobu 3 min (po tuto dobu byla také prováděna desorpce látek z vlákna v nástřikovém prostoru a byl uzavřen vstupní dělič injektoru), pak 10 °C.min⁻¹ do 120 °C. Pro zavedení vzorku do chromatografického systému byl použit standardní split/splitless injektor ve splitless modu. Teplota nástřikového prostoru plynového chromatografu (a tedy i teplota při desorpci) byla 250 °C. Nástřikový prostor plynového chromatografu byl opatřen buď standardní skleněnou vložkou o vnitřním průměru 3,5 mm nebo vložkou zhotovenou pro tyto experimenty, která měla vnitřní průměr 1 mm.

Hmotnostní spektrometr byl provozován ve full-scanmodu při rozsahu hmotností sledovaných iontů $m/z = 50$ až 200 daltonů. Teplota iontového zdroje byla 220 °C. Frekvence snímání hmotnostních spekter byla nastavena na 2 scan.s⁻¹.

Pro přípravu modelových roztoků halogenovaných uhlovodíků ve vodě byla použita standardní směs halogenovaných uhlovodíků v methanolu dodávaná firmou Supelco (QTM Volatile Halocarbons Mix, 2 mg.ml⁻¹, katalogové číslo 4-8001). Jako vnitřní standard byl použit 1-brombutan připravený na VŠCHT v Praze.

Výsledky a diskuse

V první fázi experimentů byla sledována reprodukovatelnost stanovení toluenu ve vodě o koncentraci 150 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Bylo provedeno 24 stanovení, jejichž krátké statistické vyhodnocení bylo toto: plochy píků (z chromatogramu celkového iontového proudu): průměr 13920.10³, minimum 11240.10³, maximum 15770.10³ (vše va.u.), relativní směrodatná odchylka průměru 9,11 %. Pro tyto pokusy bylo použito vlákno s polydimethylsiloxanem 100 μm se sorpcí přímo z vody.

I z tohoto krátkého souhrnu je zřejmé, že SPME je v tomto uspořádání použitelná. Nepřesnost stanovení je kromě jiného dána pravděpodobně tím, že při sorpci přímo z vody se na vlákno během sorpce zachycují bublinky plynů, které se uvolňují z vody. To lze částečně odstranit tak, že se vlákno během sorpce několikrát zatahne do ochranné jehly, čímž se bublinky plynů setřou. Přesto se ale vlivem bublinek na povrchu sorbentu stává sorpční plocha částečně nereprodukovatelnou, protože bublinky zamezují přístupu vody k povrchu sorbentu. Tento nedostatek byl odstraněn tak, že do vzorku vody byl přidán vhodný vnitřní standard. Pro jeho sorpci se pak uplatní stejné podmínky jako pro sorpci analyzovaných látek.

V další sadě experimentů byla tedy sledována reprodukovatelnost analýzy halogenovaných uhlovodíků ve vodě, do které byl přidán toluen jako vnitřní standard. Opět bylo použito polydimethylsiloxanové vlákno 100 μm a sorpce byla prováděna opět přímo ze vzorku vody. Koncentrace halogenovaných uhlovodíků ve vodě byla 10 až 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Byly provedeny tři analýzy. Výsledky jsou shrnuty v tabulce II, z níž je patrné, že reprodukovatelnost analýzy roste s klesající těkavostí látky. Je to dáno tím, že těkavější látky poskytují podle odezvy na MS detektoru nižší výtěžek, než

Tabulka II

Reprodukovatelnost stanovení halogenovaných uhlovodíků (toluen I.S.)

Látka	Směrodatná odchylka průměru [%]
1,1-Dichlorethen	10,24
<i>trans</i> -1,2-Dichlorethen	11,27
<i>cis</i> -1,2-Dichlorethen	10,15
Chloroform	10,18
1,1,1-Trichlorethan	8,64
Tetrachlormethan	8,29
Trichlorethylen	6,76
Tetrachlorethylen	6,16
Bromoform	2,54
1,1,2,2-Tetrachlorethan	3,46

méně těkavé a tím, že tyto látky se chromatograficky dělí formálně hůře (viz dále) a mají tedy horší tvar píku. Z tabulky II je také zřejmé, že při použití vnitřního standardu je reprodukovatelnost stanovení látek podobné těkavosti lepší, než v případě analýzy samotného toluenu (viz směrodatné odchylky pro trichlorethylen a tetrachlorethylen).

Při tepelné desorpci látek ze sorbentu v nástřikovém prostoru plynového chromatografu neproběhne tento proces okamžitě (standardně se používá doba desorpce 3 min). Pro „zaostření“ zóny látek v koloně je proto zapotřebí využít chromatografické prostředky. Kolona by měla být během desorpce vyhřáta na co možná nejnižší teplotu, měla by mít silný film stacionární fáze a nástřikový prostor by měl mít co možná nejmenší objem.

Pokud není k dispozici přídatné chlazení termostatu chromatografu oxidem uhličitým nebo kapalným dusíkem, pak je nejnižší přijatelná teplota termostatu na začátku analýzy 35 °C. Na nižší teplotu je po předcházející analýze obtížné termostat vychladit. Podle našich zkušeností postačuje pro analýzu těkavých látek kolona s filmem o tloušťce 1 μm. Tenčí film, vzhledem k malé kapacitě, již vede k neúměrnému rozšíření zóny látky v koloně; silnější nevede k významnějšímu „zaostření“ a při vyšších teplotách v termostatu zvyšuje „krvácení“ kolony.

Vnitřní objem nástřikového prostoru je poměrně kritická záležitost. Při desorpci z SPME vlákna se nemůže uplatnit „solvent“ efekt jako u běžného nástřiku látek v rozpouštědle (látky nemohou být sekundárně zachyceny ve z kondenzovaném rozpouštědle v koloně). Je tedy nutné, aby byly co nejrychleji transportovány do kolony. Při uzavřeném vstupním děliči je celkový průtok nosného plynu nástřikovým prostorem roven průtoku nosného plynu kolonou, tedy na úrovni ±1 ml.min⁻¹. Běžné objemy nástřikových vložek splitless injektorů jsou cca 1 ml, což odpovídá objemu par, které vzniknou odpařením 1 μl rozpouštědla při běžném splitless nástřiku. Tento objem injektoruje ale pro SPME příliš velký.

V tabulce III je uvedena formální separační účinnost kolony vyjádřená v počtu teoretických pater pro standardní nástřikovou vložku pro přístroj Fisons GC 8000 o vnitřním průměru 3,5 mm a pro námi zhotovenou vložku o vnitřním průměru 1 mm.

Z tabulky III je zřejmé, že formální separační účinnost kolony je při použití standardní vložky nižší, zvláště pak pro těkavější látky. Vzhledem k rozmytí píku nebylo možné se standardní vložkou analyzovat vinylchlorid vůbec. Pro méně těkavé látky se pak stávají obě vložky rovnocenné, protože i při větším objemu nástřiku dochází k „za-

ostření“ zóny méně těkavé látky při 35°C v termostatu na začátku analýzy.

Sorpce látek přímo z vody pomocí SPME má dvě nevýhody: silně se může uplatňovat vliv matrice (vliv dalších látek přítomných ve vodě, kompetitivní sorpce např. humátů, vliv iontově rozpuštěných látek atd.) a při tepelné desorpci se může do chromatografického systému vnášet voda. I když je sorbent na SPME vlákně hydrofobní povahy, vždy na něm zůstanou po sorpci zachyceny kapičky vody, které se při tepelné desorpci převeďte do chromatografického systému, kde mohou ničit stacionární fázi, měnit její polaritu atd.

Z těchto důvodů bylo v další fázi práce přistoupeno k testování SPME halogenovaných uhlovodíků z rovnovážné plynné fáze nad vzorkem vody. V tomto případě byl jako sorbent pro SPME použit typ Carboxen-polydimethylsiloxan 70 μm.

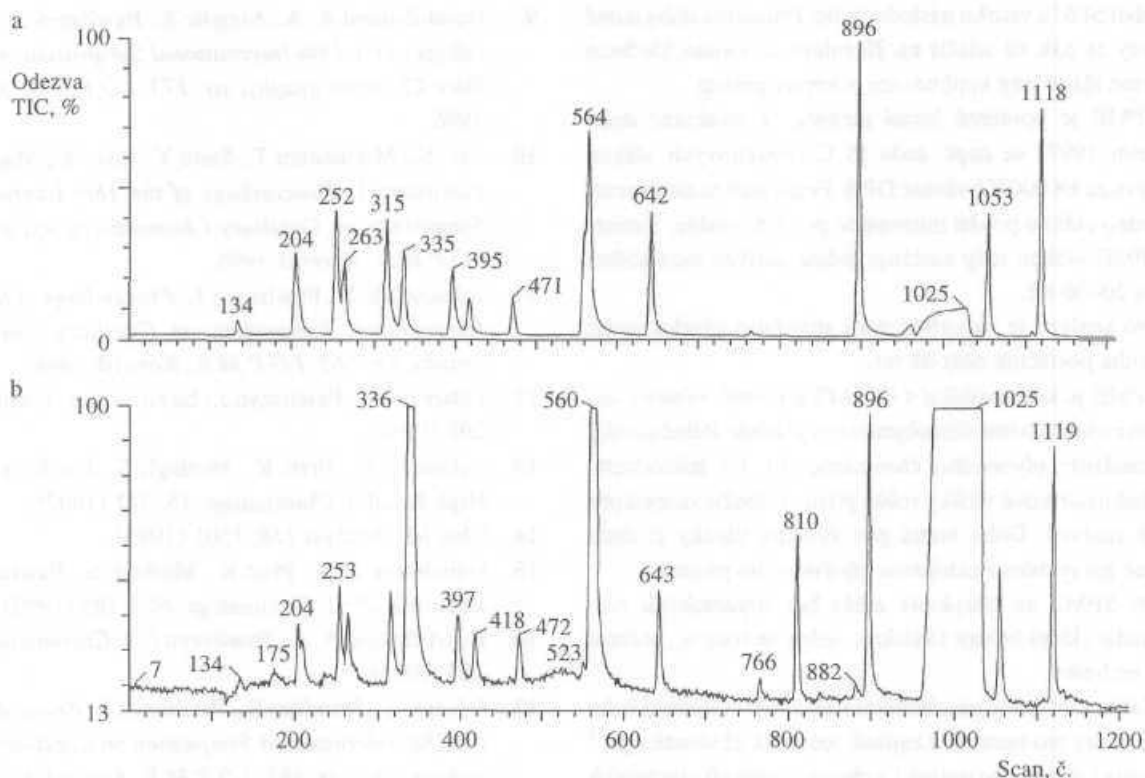
Statistickým vyhodnocením pěti analýz bylo zjištěno, že při použití vnitřního standardu leží relativní směrodatné odchylky průměru v rozmezí 3 až 8 % v závislosti na druhu analytu (koncentrace halogenovaných uhlovodíků byla 25 μg.l⁻¹, tedy zhruba na úrovni limitů daných normou pro kvalitu pitné vody¹⁹). Reprodukovatelnost SPME z plynné fáze je tedy na úrovni přímé SPME vzorku vody. Reprodukovatelnost opět klesá s rostoucí těkavostí analytu. Chro-

Tabulka III

Separací účinnost kolony při SPME pro různé vložky nástřikového prostoru

Látka	Počet teoretických pater pro vložku o průměru	
	3,5 mm	1 mm
Vinylchlorid	^a	756
1,1-Dichlorethen	115	1681
<i>trans</i> -1,2-Dichlorethen	135	2601
<i>cis</i> -1,2-Dichlorethen	270	4032
Chloroform	244	4624
1,2-Dichlorethan	429	6162
1,1,1-Trichlorethan	650	6806
Tetrachlormethan	1183	8556
Trichlorethylen	1648	11772
Tetrachlorethylen	14641	24806
Bromoform	20164	21609
1,1,2,2-Tetrachlorethan	35627	38025

^a Vinylchlorid není možno analyzovat



Obr. 1. SPME analýza plynné fáze nad vzorkem vody (a) a pražské pitné vody kontaminované $1 \mu\text{g.l}^{-1}$ halogenovaných uhlovodíků (b). a: koncentrace halogenovaných uhlovodíků $25 \mu\text{g.l}^{-1}$, celkový iontový proud (TIC). Identifikace píků: 134 = vinylchlorid, 204 = 1,1-dichlorethen+dichlormethan, 252 = *trans*-1,2-dichlorethen, 263 = 1,1-dichlorethan, 315 = *cis*-1,2-dichlorethen, 335 = chloroform, 395 = 1,2-dichlorethan, 416 = 1,1,1-trichlorethan, 471 = tetrachlormethan, 564 = bromdichlormethan+trichlorethylen, 642 = 1-brombutan (vnitřní standard), 896 = tetrachlorethylen, 1053 = bromoform, 1118 = 1,1,2,2-tetrachlormethan. b: čísla píků a jim odpovídající látky korespondují s obr. 1 a

matogram těkavých halogenovaných uhlovodíků z této SPME analýzy je uveden na obr. 1a (na ose x je uvedeno číslo scanu; na ose y odezva látky v TIC normalizovaná na nejvyšší pík chromatogramu).

Detekční limit metody je dokumentován na obr. 1b. Jedná se o výsledek analýzy pražské pitné vody v Dejvicích, která byla uměle kontaminována směsí halogenovaných uhlovodíků na výslednou koncentraci $1 \mu\text{g.l}^{-1}$. Z obr. 1b je patrné, že poměr signál/šum dovoluje analyzovat většinu těkavých halogenovaných uhlovodíků na koncentrační úrovni pod $1 \mu\text{g.l}^{-1}$, což je pro většinu aplikací postačující. Dominantními těkavými halogenovanými látkami v pražské pitné vodě jsou chloroform a bromdichlormethan. Vedle toho chromatogram 1b obsahuje pík 810 dibromchlormethan, který nebyl obsažen ve směsi halogenovaných uhlovodíků na obrázku 1a. Tyto látky (haloformy) jsou obsaženy v pražské pitné vodě (vedlejší produkty chlorace přirozených makromolekulárních organických látek). Široký pík 1025 je artefakt z desorpce Carboxenového

vlákná, který se nepodařilo odstranit. Jedná se zřejmě o hexamethyl-cyklo-trisiloxan.

GC-MS analýza byla prováděna ve full-scan modu. Pokud by bylo aplikováno sledování pouze vybraných iontů, detekční limit by poklesl ještě minimálně o jeden řád (ovšem za cenu ztráty informace o hmotnostních spektrech látek).

Závěr

Z experimentů popsaných výše vyplývá, že SPME je perspektivní metoda pro analýzu těkavých nepolárních organických látek ve vodách. Její výhody lze shrnout následovně: Postup je jednoduchý a rychlý. Jedna analýza trvá 15 minut extrakce + dobu chromatografické analýzy (v našem případě 13 minut). Celková doba analýzy větší sady vzorků však není součtem těchto časů, protože zatímco probíhá chromatografická analýza jednoho vzorku, může

probíhat SPME vzorku následujícího. Průměrná doba jedné analýzy se pak dá stlačit na 20 minut. Z tohoto hlediska najdeme těžko jiný konkurenční schopný postup.

SPME je poměrně levná metoda. V současné době (podzim 1997) se např. sada tří Carboxenových vláken prodává za ±8 000 Kč včetně DPH. Podle našich zkušeností lze jedno vlákno použít minimálně pro 100 analýz. Samotné SPME vlákno tedy zatěžuje jednu analýzu maximálně cenou 20-30 Kč.

Pro analýzu je zapotřebí malé množství vzorku vody; zpravidla postačuje několik ml.

SPME je kompatibilní s GC-MS a kromě výměny nástřikové vložky o menším objemu nevyžaduje žádné zásahy do standardu plynového chromatografu. Po jednoduché výměně nástřikové vložky může přístroj sloužit vzápětí pro běžné analýzy. Doba nutná pro výměnu vložky je dána vlastně jen rychlostí ochlazení nástřikového prostoru.

Při SPME se obejdeme zcela bez organických rozpouštědel (která bývají toxická). Jedná se tedy o „solvent free“ techniku.

Kalibrační grafy jsou lineární v širokém koncentračním oboru, který nás zpravidla zajímá, jednotek až stovek $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (linearita kalibrace je patrná i z chromatogramů uvedených na obr. 1).

Při SPME však doporučujeme pracovat vždy s vnitřním standardem, který se přidává přímo do vzorku vody.

LITERATURA

- Chiarotti M., Strano-Rossi S., Marsili R.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 931. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Arthur C. L., Killam L. M., Motlagh S., Lim V., Potter D. W., Pawliszyn J.: *Environ. Sci. Technol.* 26, 979 (1992).
- Potter D. W., Pawliszyn J.: *J. Chromatogr.* 625, 247 (1992).
- Chiarotti M., Marsili R.: *J. Microcolumn Sep.* 6, 577 (1994).
- Górecki T., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 762. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Haghebaert K., David F., Sandra P.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 746. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Bucholz K. D., Pawliszyn J.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 2844 (1993).
- Bucholz K. D., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 66, 160 (1994).
- Boyd-Boland A. A., Magdic S., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 173. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Jino K., Muramatsu T., Saito Y., Kiso Y., Magdic S., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 184. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Johansen S. S., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 663. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Potter D. W., Pawliszyn J.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 298 (1994).
- Arthur C. L., Pratt K., Motlagh S., Pawliszyn J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 75, 741 (1992).
- Chai M.: *Analyst* 118, 1501 (1993).
- Hawthorne S. B., Pratt K., Motlagh S., Pawliszyn J., Belardi R., P.: *J. Chromatogr.* 603, 185 (1992).
- Boyd-Boland A. A., Pawliszyn J.: *J. Chromatogr.* 704, 163 (1995).
- Górecki T., Mindrup R., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 163. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- Nilsson T., Ferrari R., Facchetti S., Pawliszyn J.: *Proceedings of the 18th International Symposium on Capillary Chromatography*, str. 618. I.O.P.M.S., Kortrijk 1996.
- ČSN 757111: Pitná voda.

V. Janda and I. Viden (Institute of Chemical Technology, Prague): Analysis of Volatile Halogenated Hydrocarbons in Water by Solid-Phase Microextraction and GC-MS

Experience with solid-phase microextraction (SPME) in the analysis of volatile halogenated hydrocarbons in water samples is described. Gas chromatography-mass spectrometry was used as the final analytical method. It was found that SPME provides reproducible results, especially when the method of internal standard is used for the calibration. The detection limit of the SPME-GC-MS is below $1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ for most of the volatile halogenated hydrocarbons tested, even if the MS instrument is operated in the full-scan mode. Advantages of the SPME can be summarized as follows: the method is simple, rapid and straightforward, does not require solvents, and only a small volume of water sample is needed