

APLIKÁCIA SPME V ENVIRONMENTÁLNEJ ANALÝZE

(Prchavé organické látky)

ÚVOD

SPME (Solid Phase Microextraction) – Mikroextrakcia na tuhej fáze patrí medzi najnovšie vyvinuté predkoncentračné techniky na extrakciu prchavých a semiprchavých látok, ktorá eliminuje niektoré problémy súvisiace s úpravou vzoriek a predkoncentráciou analytov. Nie je však jedinou predkoncentračnou a predseparačnou technikou. V súčasnosti je známych niekoľko predkoncentračných a predseparačných techník, ich modifikácií a variantov. V prípade SPME významným aspektom je nepoužívanie organických rozpúšťadiel (friendly environment¹).

SPME patrí medzi nepriame metódy dávkowania vzoriek. Je založená na prenose a zachytení analytov na aktívne miesta stacionárnej fázy do ustálenia rozdeľovacej rovnováhy, následnom uvoľnení tepelnou desorpciou a analýzou kapilárnej GC¹⁻⁴. Kombinácia SPME s GC resp. GC-MS nie je však jediná, SPME sa dá použiť aj v spojení s HPLC resp. HPLC-MS a je prístupná pre úplnú automatizáciu³.

SPME je technika rýchla, citlivá, presná, vhodná na analýzu tak ako prchavých a semiprchavých, tak aj polárnych a nepolárnych zlúčenín v dôležitých environmentálnych matriciach (pôda^{1,3}, voda² a vzduch³) ovplyvňujúcich ekosystém a zdravie človeka. V súčasnosti sa kladie veľký dôraz na stanovenie a monitorovanie organických mikropolutantov ako sú BTEX, pesticídy, fenoly, nitroaromatické zlúčeniny a poliaromatické uhl'ovodíky vo vode², poliaromatické uhl'ovodíky a pesticídy v pôde^{1,3}. Veľmi široké použitie tejto techniky z hľadiska skupenstva vzoriek (kvapalné, plynné a tuhé), analytov (rôznej polarity a prchavosti) a ich koncentračných hladín dokazuje veľké množstvo publikácií²⁻⁴.

PRINCÍP METÓDY

Mikroextrakcia na tuhej fáze "Solid Phase Microextraction", SPME) je nová izolačná technika, ktorú vyvinul Janusz Pawliszyn s kolektívom na Univerzite vo Waterloo (Waterloo, Ontario, Canada)⁵. Je to extrakčná metóda, ktorá sa používa na extrakciu najmä prchavých organických zlúčenín (VOCs - „Volatile organic compounds“) zo vzoriek životného prostredia - vode^{2,4,6-42,43,53,54}, vzduchu^{43,45}, pôdy^{3,46,47}, piesku a flu^{3,32,46}, ďalej z extraktov liečivých rastlín⁴⁸, zo vzoriek vína⁴⁹ a z ihličiek ihličnanových stromov⁵⁰.

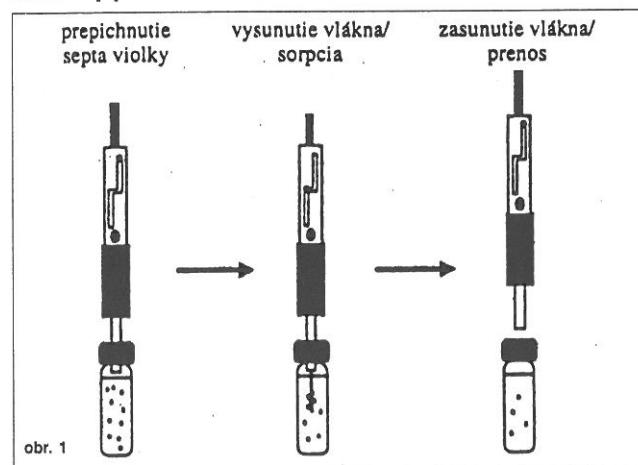
SPME technika je kombináciou extrakcie a predkoncentrácie v jednom kroku^{2,8,32,45}. Počas extrakcie sú analyty zo vzoriek sorbované priamo na vlákno vyrobené z kremeňa potiahnuté vrstvou chemicky viazanéj stacionárnej fázy umiestnejnej na vlákne zariadenia v tvare striekačiek komerčne dostupných (fy Supelco, Varian a Hamilton), obr. 1. Nedochádza pritom k úplnej extrakcii, ale k ustáleniu rozdeľovacej rovnováhy analytu medzi matricou vzorky a stacionárnu fázou vlákna. Počet molekúl, ktoré prejdú do stacionárnej fázy je priamo úmerný rozdeľovaciemu koeficientu, objemu stacionárnej fázy a koncentrácií analytu vzorky. Vlákno je potom zavedené do vyhriateho injektoru plynového chromatografu (GC) alebo plynového chromatografa v spojení s hmotnostným spektrometrom (GC-MS), kde sú analyty termicky desorbované (obr.2), sfokusované (kryogénne, alebo hrubším filmom stacionárnej fázy

v kapilárnej kolóne) a analyzované^{1-3,5-50,53-55}.

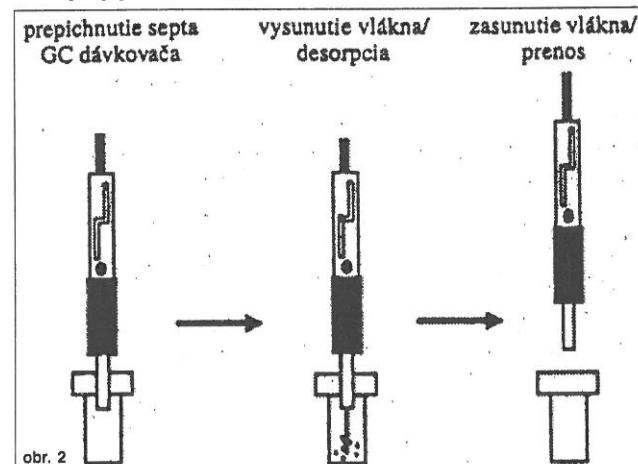
Technika má niekoľko dôležitých výhod^{3-5,8,27,31,32,34,35,51}:

- **rýchlosť** – vzorkovanie vyžaduje len niekoľko minút na dosiahnutie rovnováhy pre stanovené zložky v stacionárnej fáze na povrchu vlákna,
- **citlivosť** – bežne je dosahovaný detektívny limit ppt pre väčšinu prchavých zložiek v závislosti od použitéj analytickej koncovky,
- **správnosť a presnosť** - v prípade manuálnej SPME je

Extrakčný proces SPME



Desorpčný proces SPME



presnosť (vyjadrená relatívou smerodajnou odchýlkou) 5% RSD, v prípade automatického dávkowania 1% RSD,

- **hospodárnosť** – eliminuje ceny na nákup rozpúšťadiel a ich použitie,

- **použiteľná** v spojení s GC alebo GC-MS,
- **použiteľná** v spojení s HPLC alebo HPLC-MS,
- je prístupná na úplnú automatizáciu,
- je použiteľná v kombinácii s elektrochémou.

Všeobecne pri analýzach organických zložiek vo vzorkách životného prostredia príprava vzorky včasného zahŕňa extrakciu plynoucou fázou ("purge and trap"^{1,8,11,52}, „headspace“ metódy^{1,51}) a extrakciu tuhou fázou pre skoncentrovanie

prchavých organických látok^{1,5,8,12,52}. Pre semiprchavé a neprchavé látky sú to metódy extrakcie kvapalina-kvapalina ("liquid-liquid extraction", 1-1 extrakcia) a najmä techniky založené na extrakcii tuhou fázou. Tieto metódy majú rozmanité nevýhody, zahrnujúc cenu, čas na prípravu vzorky a použitie rozpúšťadla⁵². SPME eliminuje nevýhody väčšiny týchto používaných extrakčných techník. Okrem spomínaných predností SPME je potrebné vyzdvihnuť jej použitie na skoncentrovanie prchavých a semiprchavých zložiek zo vzoriek životného prostredia. Poskytuje taktiež linearitu predkoncentrácie v širokom intervale koncentrácií analytu. Pri súčasnej technike sa dosahujú v prípade prchavých organických látok požadované medze detekcie, ktoré sú špecifikované metódami U.S.EPA ("United States Environmental Protection Agency") 524.210,11,17,27,31,33 a 62420.22,23,34,37,38,41,42,55.

Na SPME sa používajú komerčne dostupné zariadenie v tvare striekačiek (fy Supelco, Varian a Hamilton), ktoré pozostáva z dlhšieho kremenného vlákna a stojanu 1-4,7,8,17,20,31,34,41,55. Vlákno je potiahnuté vrstvou polymérnej stacionárnej fázy rôzneho typu a rôznej hrúbky polymérnej vrstvy^{2,4,47,52}. Pri správnom používaní môžeme jedno zariadenie na SPME použiť na 50-100 extrakcií^{33,52}.

Podľa spôsobu vzorkovania SPME v závislosti od typu matrice vzorky môžeme techniku rozdeliť^{1,4,8,52} na:

1. Priame vzorkovanie SPME – „direct sampling“ (vlákno sa vysunie do kvapalnej vzorky)¹⁰⁻⁵⁵. Používa sa na analýzu všetkých druhov kvapalných vzoriek. Množstvo analytu sorbovaného na vlákno až do ustálenia rovnováhy je lineárne závislé od koncentrácie analytu v roztoku⁵².

2. „Headspace“ SPME technika (vlákno sa vysunie z ihly do plynnej fázy vzorky)²⁰⁻⁵⁵. Používa sa na analýzu organických zložiek z rôznych matíc. Je založená na rovnováhe analytov medzi polymérnou vrstvou nanesenou na vlákno, „headspace“ plynnej fáze a matricou vzorky. Všeobecne, čas vzorkovania pre „headspace“ SPME (5-15 minút) je kratší ako pre priamu SPME. V „headspace“ SPME hmotnostný prenos prchavých analytov z matice do plynnej fázy limitujú extrakčné rýchlosť. Rýchla extrakcia môže byť dosiahnutá miešaním, agitáciou vodnej vzorky. Hmotnostný prenos analytov možno znázorniť extrakčnou krivkou^{1,9,10,32,43,45}.

Pre „headspace“ SPME spojenej s GC, resp. GC-MS je veľmi dôležité určenie medze detekcie, stanovenia a reprodukovateľnosti. Medza detekcie sa dá ovplyvniť zmenou hrúbky sorpčnej vrstvy, zmenou typu polymérnej fázy⁹, príďavkom NaCl^{11,24,32,35,41}.

Pre oba spôsoby SPME boli navrhnuté matematické modely pre roztoky vzoriek s miešaním a bez miešania s polydimetylsiloxánovým vláknom^{4,40}. V praxi sa miešanie uskutočňuje magnetickým miešadlom, ktoré zníži čas potrebný na ustálenie rovnováhy. Čas potrebný na ustálenie rovnováhy ovplyvňuje rozdelenia konštanta, množstvo analytu a typ polymérnej fázy³⁵.

APLIKÁCIE SPME

Organické mikropolutanty kontaminujúce životné prostredie, ktoré sa monitorujú s využitím SPME v kombinácii s plynovou chromatografiou, možno rozdeliť do troch nasledujúcich skupín:

1. **prchavé organické látky (VOCs – „Volatile organic compounds“),**
2. **stredne polárne a nepolárne semiprchavé organické látky,**
3. **polárne semiprchavé organické látky.**

Pre 1. skupinu látok sa používa komerčne dostupné vlákno

s polydimetylsiloxánovou vrstvou (PDMS) alebo s homogénou vrstvou grafitizovaného uhlíka Carbograph I. Pre 2. skupinu je dostupné vlákno s PDMS vrstvou a pre 3. skupinu vlákno s polyakrylátovou vrstvou (PA). V posledných rokoch sú publikované práce s ďalšími vláknami (Carbowax, Carbowax/divinylbenzén, polydimetylsiloxán/divinylbenzén).

Aplikácie SPME v analýze prchavých organických látok

SPME sa využíva na extrakciu vyššie uvedených látok z tuhých, kvapalných a plynných vzoriek životného prostredia. Prchavé organické látky (VOCs) sa extrahujú z tuhých vzoriek (pôda^{3,46,47}, piesok a íl^{3,32,44,46}, ihličky z ihličnanových stromov⁵⁰), z kvapalných vzoriek (voda^{2,4,6-42,43,44,53,54,55}, extrakty z liečivých rastlín⁴⁸, víno⁴⁹) a z plynných vzoriek (vzduch^{43,45}).

Prchavé organické látky sú v súvislosti s využitím SPME v literatúre rozdelené do nasledujúcich skupín:

- nehalogenované prchavé organické látky - benzén, toluén, etylbenzén a izoméry xylénu (BTEX)^{2,3,6-11,13,16,18,20-23,25,27,29-35,38,47}
- nehalogenované prchavé organické látky - alkoholy, estery a terpény⁴⁸⁻⁵⁰,
- nehalogenované prchavé organické látky - heteroaromatické zlúčeniny^{24,53},
- halogenované prchavé organické látky^{2,10,14-16,20,22,23,26,27,31,33,34,37,38,41,45,47,54,55}.

Benzén, toluén, etylbenzén a izoméry xylénu (BTEX)

Prvou skupinou látok študovaných SPME boli benzén, toluén, etylbenzén a o,p-xylén (označované ako BTEX zlúčeniny). Sú často používané ako "terčové" analyty v environmentálnych štúdiach pre ich zdraviu škodlivé účinky a preto, že oni sú ukazovateľmi prítomnosti kontaminácie uhlíkovodíkmi⁶. BTEX zlúčeniny sú bežnými kontaminantmi vo vodných vzorkách^{2,6-11,13,16-18,20-23,25,27,29-35,38-43,44}, v tuhých vzorkách – pôda^{3,46,47}, piesok a íl^{3,32,44,46} a v plynných vzorkách - vzduch^{43,45}.

Na extrakciu BTEX zlúčenín sa použilo vlákno bez polymérnej vrstvy "neobalené" s polyimidovým náterom⁷, vlákno so 7 μm^{25} , 15 $\mu\text{m}^{21,38}$, 30 μm^{39} , 56 $\mu\text{m}^{7,9,21,32,34,35}$, 95 μm^{10} , 100 $\mu\text{m}^{6,11,16-18,20,23,25,27,29,41,42,45,47}$ a 340 μm^{44} polydimetylsiloxánovou vrstvou a vlákno s homogénnou vrstvou grafitizovaného uhlíka Carbograph I⁴³.

Objem vzorkovacej nádoby – violky bol pre „direct sampling“ SPME 2 mL^{6,34}, 4 mL^{29,44}, 12 mL¹⁸ pre ručné dávkovanie a pre automatické dávkovanie 1.8 mL⁹, 2mL²⁵ alebo 40 mL²¹. Pre „headspace“ SPME boli pre automatické dávkovanie používané violky s rovnakým objemom ako pre „direct sampling“ SPME a pre ručné dávkovanie violky s objemom 2mL^{10,32,44}, 4 mL²⁹, 6 mL⁴⁷, 20 mL⁴³, 40 mL^{11,21,39,41} a 50 mL²⁵.

C.J. Arthur a kol.⁷ publikovali prácu o priamej analýze BTEX zlúčenín za použitia "neobaleného" vlákna bez polymérnej vrstvy s polyimidovým náterom a "obaleného" vlákna s polydimetylsiloxánovou vrstvou. Autori testovali obe vlákna, výsledky testov sú zhrnuté v tab.1. Presnosť údajov uvedených v tab.1, obalené vlákno poskytuje presnejšie výsledky, hodnoty relatívnej standardnej odchýlky (RSD - „relative standard deviation“) sú menšie pre viac prchavé zlúčeniny ako v prípade "neobaleného" vlákna. Obe vlákna ponúkajú odlišné lineárne rozsahy, rozdielne objemy stacionárnej fázy a rozdielne

Tabuľka 1. Extraktívny čas, lineárny rozsah, relatívna smerodajná odchýlka (RSD) pre BTEX.

Analyt	Extraktívny čas [min]	Lineárny rozsah [µg/L]	Medza stanovenia [µg/L]	RSD [%]
"neobalené" vlákno				
benzén	2	200-1500	200	50
toluén	2	200-1500	100	11
etylbenzén	2	200-1500	50	4.3
m+p-xylén	2	200-1500	50	5
o-xylén	2	200-1500	50	4.2
vlákno s 56 µm polydimethylsiloxánovou vrstvou				
benzén	2	15-3000	5	5.5
toluén	3	15-3000	2	3.3
etylbenzén	5	15-3000	1	6.5
m+p-xylén	5	15-3000	1	6.9
o-xylén	5	15-3000	1	6.1

extraktívne časy. Vlákno obalené s 56 µm polydimethylsiloxánovou vrstvou má väčší objem stacionárnej fázy než „neobalené“ vlákno, ktoré má iba približne 0,1 µm vrstvičkou silikagélu.

Polydimethylsiloxánová vrstva je nepolárna a bude lepšie sorbovať BTEX zlúčeniny ako polárny povrch (silikagél) „neobaleného“ vlákna. V dôsledku toho, vlákno „obalené“ polysimethylsiloxánovou vrstvou vykazuje väčšiu afinitu pre BTEX zlúčeniny v porovnaní s neobaleným vláknom.

Extraktívny čas BTEX na polymérnu vrstvu závisí od hrúbky vrstvy, koncentrácie analytov a iných experimentálnych podmienok. Pre „direct sampling“ SPME bez použitia magnetického miešadla bol 30 minút^{2,17}, s použitím magnetickejho miešadla bol 5 minút^{18,21,27,35,42}, 10 minút²⁵, a pre „headspace“ SPME bez použitia magnetického miešadla 5 minút^{47,30}, 30 minút²⁵, s miešaním 2 minúty^{7,9,21,32,34,35,44} a 10 minút⁴¹.

Účinok miešania roztoku vzorky na medzu stanovenia, extraktívne časy a presnosť otestovali C. L. Arthur, J. Pawliszyn a kol., D. Louch a kol. v roku 1992^{35,40}. Na základe týchto kritérií porovnávali nemiešané a miešané roztoky vzoriek^{35,40}. Hodnoty kritérií pre oba druhy roztokov (nemiešaných a miešaných) sú zhrnuté v tab.2³⁵.

Extraktívne časy v prípade nemiešaných roztokov boli výšie ako v prípade miešaných roztokov, kde sa hodnoty pohybovali v rozmedzí 2-10 minút. Medza stanovenia bola nižšia v prípade miešaných roztokov vzoriek a zlepšovala sa so vzrastajúcim počtom otáčok. Presnosť techniky vyjadrená RSD je okolo 5%.

SPME sa uskutočňovala pri laboratórnej teplote^{9,16,21,25,29,32,34,35,41,44}, pri teplote 22-60°C⁴⁷ a pri teplote 60°C²⁵.

Po prenosení SPME zariadenia do GC injektoru sa analyty kryogénne fokusovali pri teplote $t = -20^{\circ}\text{C}$ ^{10,45}, -15°C ⁴¹, -5°C ^{9,35} a 15°C ⁷.

Termodesorpcia sa uskutočňovala v injektoroch:

- split/splitless^{16,18,25,27,29,32,42-44,47},
- SPI ("Septum-equipped programmable injector" - injektor s programovanou teplotou a septom)^{2,7,9,11,17,30,35,40,41,45},
- PTV ("Programmed temperature vaporization" - vyparovanie s programovateľnou teplotou)⁴³.

Na analýzu sa použili kolóny typu VOCOLTM (Supelco)^{17,25,27,31,32,35,41,42,44}, CLOT ("Carbon-layer open tubular", Supelco)^{6,18}, SPB-1 (Supelco)^{7,35}, SPB-5

(Supelco)^{21,22,38,39,42}, DB-5 (J&W Scientific)^{9,35}, DB-624 (J&W Scientific)^{10,11,30}, Carbograph I (Altech)⁴³ a HP-1 (Hewlett Packard)⁴⁷. Parametre týchto kolón sú uvedené v tab. 3a. V tab. 3b sú uvedené najčastejšie používané stacionárne fázy v kapilárnej GC a ich zloženie.

Detekcia BTEX bola uskutočnená detektormi ECD^{30,45}, PID³⁹, FID^{6,7,9-11,16,18,21,25,29,30,32,34,35,38,39,43,45} a MS^{2,9,17,27,38,41,44,47}.

Vo vodných vzorkách s použitím „direct sampling“ SPME (vlákno so 100 µm PDMS vrstvou, GC-IT-MS - „gas chromatography-ion trap-mass spectrometry“) dosiahla medza stanovenia 15 ppt vo vode. To zodpovedá celkovému množstvu 5 pg extraohavaných SPME vláknom. Medza stanovenia pre ostatné BTEX zlúčeniny boli 5 ppt toluénu, 2 ppt etylbenzénu, 1,5 ppt o-xylénu a 1 ppt m- a p-xylénu. Presnosť charakterizovaná RSD bola <8% pri koncentrácií 50 ppt BTEX zlúčenín vo vode, pri koncentrácií 15 ppb bola < 7%^{2,17,27,34}. Medza stanovenia vo vodných vzorkách (s obsahom 0,1 ppm BTEX) s „directsampling“ SPME (vlákno s 56 µm PDMS vrstvou, GC-FID - „gas chromatography – flame ionization detector“) sa vypočítala s presnosťou charakte-

Tabuľka 2. Extraktívne časy, medza stanovenia a relatívna smerodajná odchýlka miešaných a nemiešaných roztokov BTEX zlúčenín, matrica: voda, vlákno: 100 µm PDMS, "headspace"

Analyty	Miešané roztoky		Nemiešané roztoky
	Extraktívne časy [min]		
benzén	2.0		15
toluén	3.0		25
etylbenzén	10		60
m+p-xylén	10		120
o-xylén	10		120
Medza stanovenia [µg/L]			
benzén	3.0		8.0
toluén	1.0		3.0
etylbenzén	0.3		2.0
m+p-xylén	0.3		2.0
o-xylén	0.3		2.0
Relatívna smerodajná odchýlka [%]			
benzén	5.0		3.0
toluén	5.0		5.0
etylbenzén	3.0		8.0
m+p-xylén	4.0		8.0
o-xylén	4.0		4.0

rizovanou RSD 3-17,5% a pre „headspace“ SPME (vlákno s 15 µm PDMS vrstvou, GC-FID) s presnosťou 1,3-6,3%²¹, (vlákno s 30 µm PDMS vrstvou, GC-FID) s presnosťou 2,87-5,6%³⁹, (vlákno s 30 m PDMS vrstvou, GC-PID - „gas chromatography-photoionization detector“ (s presnosťou 1,90-10,23%³⁹). Vo vzorkách odpadových vôd s použitím „direct sampling“ SPME (vlákno so 100 µm PDMS vrstvou, GC-FID) sa dosiahla medza stanovenia 0,22 µg/L benzénu, 0,11 µg/L toluénu, 0,04 µg/L etylbenzénu, 0,09 µg/L m- a p-xylénu a 0,03 µg/L o-xylénu a pre „headspace“ SPME (vlákno so 100 µm PDMS vrstvou, GC-FID) 0,15 g/L benzénu, 0,13 µg/L toluénu, 0,08 µg/L etylbenzénu, 0,21 µg/L m- a p-xylénu a 0,41

Tabuľka 3a. Druh a parametre kolón použitých na analýzu prchavých organických látok – BTEX.

Druh kolóny	LxDxh	Citácia
VOCOL™	60m x 0.25mm x 1.5µm	27
VOCOL™	60m x 0.25mm x 1.0µm	17,21
VOCOL™ Rtx-624	30m x 0.32mm x 1.8µm	25
VOCOL™	30m x 0.25mm x 1.5µm	17,32,41,42
VOCOL™	10m x 0.20mm x 0.20µm	42
VOCOL™	2.5m x 0.10mm x 0.6µm	38
CLOT	60m x 0.32mm	6
CLOT	30m x 0.32mm	18
SPB-1	30m x 0.32mm x 1.0µm	7
SPB-1	2.5m x 0.10mm x 0.6µm	38
SPB-5	30m x 0.25mm x 0.25µm	45
SPB-5	4m x 0.25mm x 0.25µm	21,31,38,39
DB-5	30m x 0.32mm x 0.25µm	35
DB-5	30m x 0.25mm x 0.25µm	9
DB-624	75m x 0.53mm x 3µm	10
DB-624	30m x 0.53mm x 3µm	30
DB-624	30m x 0.32mm x 1.8µm	11
Carbograph I	30m x 0.25mm	43
HP-1	50m x 0.20mm x 0.5µm	47

L - dĺžka kolóny, ID - vnútorný priemer kolóny, h - hrúbka filmu stacionárnej fázy

Tabuľka 3b. Najčastejšie používané stacionárne fázy

Chemické zloženie	Označenie
100% dimetylsiloxán	DB-1, HP-Ultra 1, BP-1, SE-30, OV-1, OV-101, SPB-1, SP-2100, 007-1, CP Sil 5 CB
95% dimetyl-5% fenylsiloxán	DB-5, HP-Ultra 2, BP-5, SPB-5, SE-52, OV-73, SE-54, 007-2, CP-Sil 8 CB, PTE-5
50% fenyl-50% methylpolysiloxán	DB-17, OV-17, GC-17
6% kyanopropylfenylmethylpolysiloxán	DB-624
85% dimetyl-7% fenyl-1% vinyl -7% kyanopropyl	DB-70, BP-0, SPB-7, OV-1701, SP-10, SP-2250, 007-1701, CP-Sil 19 CB
50% dimetyl-25% fenyl-25% kyanopropyl	OV-225, DB-225, BP-5, SP-2300, 007-OV-225B, CP-Sil 43 CB
polyetylénglykol	DB-Wax, Supelcowax-10, BP-20, Carbowax 20M, CP-Wax 52 CB
polyetylénglykol ester	FFAP, CP-Wax 58 CB
nitrotoreftalovej kyseliny	

µg/L o-xylénu. Presnosť charakterizovaná RSD bola <10% ("direct sampling" SPME) a <12% ("headspace sampling" SPME) pri koncentrácií 200 µg/L BTEX zlúčenín vo vode²⁵. V prípade tuhých látok k s použitím „headspace sampling" SPME (vlákno s 340 µm PDMS vrstvou, GC-IT-MS, S/N 3:1) sa dosiahla medza stanovenia 0,12-0,32 ppt⁴⁴.

3.1.2. Alkoholy, estery a terpény

Prvou skupinou látok študovaných SPME boli benzén, toluén, etylbenzén a o,p-xylén (označované ako BTEX zlúčeniny). Okrem uvedených BTEX zlúčenín do skupiny nehalogenovaných prchavých organických látok patria alkoholy, estery a terpény, ktoré sa v posledných rokoch stávajú predmetom záujmu z hľadiska využitia SPME techniky. Extrahujú sa z kvapalných vzoriek - vody (alkoholy, estery)²⁸, extraktov z liečivých rastlín (terpény)⁴⁸, vína (alkoholy, estery a terpény)⁴⁹ a z tuhých vzoriek – ihličiek z ihličnanových stromov (terpény)⁵⁰.

Na extrakciu alkoholov a esterov z vody sa použilo vlákno s 85 µm polyakrylátovou (PA) a so 100 µm polydimetylsiloxánovou (PDMS) vrstvou²⁸, na extrakciu terpénov z extraktov z liečivých rastlín sa použilo vlákno so 100 µm PDMS vrstvou⁴⁸, na extrakciu alkoholov, esterov a terpénov z 5 druhov vína sa použilo vlákno so 7,30 a 100 µm PDMS vrstvou, s 85 µm PA vrstvou, so 65 µm polyetylénglykol/divinylbenzénovou (CW/DVB) vrstvou a vlákno so 65 m polydimetylsiloxán/divinylbenzénovou (PDS/DVB) vrstvou⁴⁹ a na extrakciu terpénov z ihličiek z ihličnanových stromov sa použilo vlákno so 7, 30 a 100 µm PDMS vrstvou⁵⁰.

Objem vzorkovacej nádoby – violky bol pre „direct sampling" SPME 2 mL (objem vzorky 1.3 mL)²⁸ pre ručné dávkovanie a pre „headspace sampling" SPME (ručné dávkovanie) violky s objemom 4 mL (objem vzorky 1.3 mL²⁸ a 3 mL⁴⁸).

Extrakčný čas alkoholov a esterov z vody na polymérnu vrstvu pre „direct sampling" SPME s použitím magnetického miešadla bol 5, 7,5, 10, 15 a 20 minút a pre „headspace sampling" SPME s miešaním 7,5 minúty²⁸. Extrakčný čas terpénov z extraktov z liečivých rastlín na polymérnu vrstvu vlákna pre „headspace sampling" SPME bez použitia magnetického miešadla bol 30 sekúnd - 40 minút⁴⁸. Extrakčný čas alkoholov, esterov a terpénov zo vzoriek vína na polymérnu vrstvu pre „headspace sampling" SPME s miešaním bol 30 minút⁴⁹.

SPME sa uskutočňovala pri teplote 20°C⁴⁸, 25-60°C²⁸.

Termodesorpcia sa uskutočňovala v injektore split/splitless^{28,49,50}.

Na analýzu sa použili kolóny typu:

- 60m x 0,53mm x 5µm CP-Sil 8 CB (Chrompack)²⁸,
- 30m x 0,32mm x 0,5µm DB-5 (J&W Scientific)⁴⁸,
- 30m x 0,25mm x 0,25µm DBWAX (J&W Scientific)⁴⁹.

Detekcia bola uskutočnená detektormi FID^{28,49,50} a MS⁴⁸.

Vo vzorkách extraktov z liečivých rastlín s použitím „headspace sampling". SPME (vlákno so 100 µm PDMS vrstvou, GC-MS) sa dosiahla medza stanovenia poriadkové niekoľko µg/kg (ppb)⁴⁸.

Heteroaromatické zlúčeniny

SPME je vhodná technika na extrakciu stopových množstiev piatich sledovaných prchavých heteroaromatických zlúčenín (tiofén, 2-metylpyrol, pyrol, 2-metylpyridín, 4-dimetylpyridín) zo vzoriek životného prostredia – z vody^{24,53}.

Objem vzorkovacej nádoby - violky so závitom, vrchnáčikom a teflónovým septom pre „direct sampling" SPME bol 4:6 mL. Violky sa plnili pripravenou vzorkou (do 10 mL vodnej vzorky sa pridalo 3:6 g NaCl a 1-2 kvapky 1M KOH, z takto pripravenej vzorky sa odobralo 4 mL na SPME analýzu)^{24,53}.

Na SPME uvedených analytov sa použilo vlákno so 7 µm a 100 µm PDMS vrstvou, vlákno s 85 µm PA vrstvou a vlákno so 65 m vrstvou Carbowax^{24,53}.

Extrakčný čas v prípade „direct sampling" SPME s rýchlym miešaním vzorky s vláknom s PDMS vrstvou bol 120 minút, s vláknom s PA vrstvou bol 200 minút^{24,53}.

Analyty extrahované vláknom pri teplote 25°C boli termo-desorbované v injektoru typu SPI a následne analyzované na chromatografickej kolóne typu:

- 25m x 0,25mm x 0,25 µm SPB-5 (Supelco)^{24,53}.

Detekcia bola uskutočnená pomocou IT MS ("Ion Trap Mass Spectrometer") a FID^{24,53}.

Medza stanovenia piatich sledovaných heteroaromatických zlúčenín dosiahnutá pomocou „direct sampling“ SPME v kombinácii s GC-IT MS mala hodnotu v rozmedzi 1-10 ppb s presnosťou charakterizovanou RSD 5-14%^{24,53}.

Tabuľka 4. Druh a parametre kolón použitých na analýzu halogénových prchavých organických látok

Druh kolóny	Počet analytov	L x ID x h	Citácia
VOCOL™	60	60m x 0.25mm x 1.5µm	20,27,31,33,42
VOCOL™	26,28	30m x 0.25mm x 1.5µm	34,41
VOCOL™	31	10m x 0.20mm x 1.2µm	22,37,42
VOCOL™	25,28	2.5m x 0.10mm x 0.6µm	38,55
SPB-1	31	10m x 0.20mm x 1.2µm	22,23,37,42
SPB-1	25,28	2.5m x 0.10mm x 0.6µm	38,55
SPB-5	6	30m x 0.25mm x 0.25µm	32,45
SPB-5	25	4m x 0.25mm x 0.25µm	38
CP Sil 8 CB	4	25m x 0.25mm x 1.2µm	54
DB-624	60	75m x 0.53mm x 3µm	10
Carbograph I	5	30m x 0.25mm	43
HP-1	4	50m x 0.20mm x 0.5µm	47

L - dĺžka kolóny, ID - vnútorný priemer kolóny, h - hrúbka filmu stacionárnej fázy

3.1.4. Halogénované prchavé organické látky (VOCs)

Zo vzoriek životného prostredia sa extrahujú tie halogenované VOCs, ktoré sú uvedené v U.S.EPA metóde 624^{20,22,23,32,37,38,41,42,55} a v U.S.EPA metóde 524^{2,10,27,31,33}. Extrahujú sa z vodných vzoriek^{2,10,14-52,4,210,27,31,33}, z tuhých vzoriek - pôdy^{14,47,54}, piesku a kalu³², a z plynných vzoriek - zo vzduchu^{26,38,43,45}.

Objem vzorkovacej nádoby - violky pre „direct sampling“ SPME pre koncentrácie 5-50 ppb bol 2 mL (objem vzorky 1,8 mL)^{10,22,23,33,34,37,42}, pre koncentrácie nad 50 ppb väčší ako 5 mL²⁰. Pre vzorky s veľmi nízkymi koncentráciami 1-5 ppb SPME sa používali violky (objem vzorky 2 mL) so závitom, vrchnáčikom a teflónovým septom³². Pre „headspace sampling“ SPME sa používali violky s objemom 6 mL⁴⁷, 20 mL (objem vzorky 2-4 mL)⁴³, 40 mL (objem vzorky 20 mL)^{16,38}, objem vzorky 25 mL s prídavkom 10 g N aCl⁴¹ so septom.

Na extrakciu halogénovaných VOCs sa použilo vlátko s 15 µm PDMS³⁸, s 56 µm³⁴, s 95 µm¹⁰, so µ 100m PDMS vrstvou^{2,16,20,22,23,27,31-33,37,41,45,47,55} a vlátko s homogénnou vrstvou grafitizovaného uhlíka Carbograph I⁴³.

Doba extrakcie pre „direct sampling“ SPME bola 5 minút²⁷, 10 minút^{20,32} a pri „headspace sampling“ SPME 2 minúty^{32,38}, 5 minút⁴⁷ a 10 minút⁴¹. Pomocou rýchleho miešania počas celej extrakcie bol postačujúci čas 5 minút^{10,23,31,33,37}.

SPME sa uskutočňovala pri laboratórnej teplote.

Po prenesení SPME zariadenia do injektoru sa analyty kryogénne fokusovali pri teplote 100°C^{32,33,37,42}. Ak nebola použitá kryogénna fokusácia, bolo potrebné zabezpečiť veľmi rýchlu termodesorpciu^{22,23,27,32,37,41-43,47}. Termodesorpcia sa

uskutočnila v troch rôznych typoch injektorov používaných v GC:

- split/splitless^{20,22,23,27,31,33,37,41,47},
- SPI ("Septum-equipped programmable injector" - injektor s programovateľnou teplotou so septom)^{10,32,38,42,43,45},
- PTV ("Programmed temperature vaporization" - vyparovanie s programovateľnou teplotou)⁴³.

Na analýzu sa použili kolóny typu VOCOL™ (Supelco)^{20,22,27,31,37,38,41,42,55}, SPB-1 (Supelco)^{22,23,37,38,42,55}, SPB-5 (Supelco)^{31,38,45}, CP- Sil 8 CB (Chrompack)⁵⁴, DB-624 (J&W Scientific)¹⁰, Carbograph I (Alltech)⁴³ a HP-1 (Hewlett Packard)⁴⁷. Parametre týchto kolón sú uvedené v tab. 4.

Kolóny VOCOL™ a SPB-1 boli porovnané a zistilo sa, že doba analýzy závisí od dĺžky kolóny, vnútorného priemeru kolóny a hrúbky filmu stacionárnej fázy. So skracujúcou sa dĺžkou a zmenšovaním ostatných parametrov kolóny sa skráti doba analýzy na 1/10 pôvodnej dĺžky, vid tab. 5^{37,42}. Na zvýšenie rozlíšenia sa používajú dvojrozmerné systémy s použitím kolón SPB-1 a VOCOL™^{37,42}.

Detekcia bola uskutočnená v plameňovoionizačnom detektore (FID)^{16,23,32,37,38,42,43,55}, v detektore elektrónového záchytu (ECD)^{2,10,14,16} a v hmotnostnom detektore (MS)^{20,22,26,27,31,33,34,38,41,47,55}.

Medze stanovenia analýzy niektorých VOCs vo vzorkách odpadovej vody (s obsahom 5 ppb VOCs) s použitím „headspace sampling“ SPME (laboratórna teplota, 2 minúty) sa vypočítali zo spektrálnych údajov (IT-MS, S/N ("signal-to-noise ratio") - signál/šum = 3) a malí hodnotu 2-400 ppt s presnosťou charakterizovanou RSD (relativná smerodajná odchýlka) 3-14%. Pri rovnakých podmienkach bola medza stanovenia VOCs vo vzorkách kalu 30-550 ppt s RSD 3-14% a vo vzorkách piesku dosiahla hodnoty 1-80 ppt s RSD 2-6%. Hodnoty pre konkrétné látky sú uvedené v tab. 6³².

Na U.S.EPA oznamuje medzi 129 prioritnými polutantami nachádzajú toxické zlúčeniny hexachlóro-1,3-butadién (HCBD), 1,1,4,4-tetrachlóro-1,3-butadién (TCBD), 1,1,2,4,4-pentachlóro-1,3-butadién (1,1,2,4,4-PCBD), cis-1,1,2,3,4-pentachlóro-1,3-butadién (cis-1,1,2,3,4-PCBD)⁵⁴. Tieto zlúčeniny sa nedávno zistili vo vzorkách pôdy nedaleko Milána v Taliansku⁵⁴ a TCBD vo vzorkách riečnej vody na

Tabuľka 5. Doba analýzy pre halogénové VOC pre rôzne kolóny^{37,42}

Parametre kolóny	Doba analýzy [min]	
	SPB-1	VOCOL™
60m x 0.25mm x 1.5µm	28.5	29.5
20m x 0.20mm x 1.2µm	11.5	12
10m x 0.20mm x 1.2µm	5.5	6
5m x 0.15mm x 0.9µm	4.5	5
3m x 0.10mm x 0.6µm	3.5	4

L - dĺžka kolóny, ID - vnútorný priemer kolóny, h - hrúbka filmu stacionárnej fázy

Slovensku⁵⁴ Vo vzorkách sa s použitím „direct sampling“ SPME (100 µm PDMS vrstva, GC-MS, SIM - „Selected Ion Monitoring“) dosiahla medza stanovenia 25 ng/L (25 ppt) pre 1,1,2,4,4-PCBD s presnosťou charakterizovanou RSD 6%, 25 ng/L (25 ppt) pre cis-1,1,2,3,4-PCBD (RSD=9%), 50 ng/L (50 ppt) pre HCBD (RSD=6%) a 50 ng/L (50 ppt) pre TCBD (RSD=12%) bez použitia vnútorného štandardu. Použitím vnútorného

torného štandardu - 1,3,5-trichlóro-2,4,6-trifluorobenzénu sa nedosiahlo zlepšenie, presnosť vyjadrená RSD sa pohybovala v rozmedzí 5-19%⁵⁴. S použitím „headspace sampling“ SPME v kombinácii s GC-ECD sa dosiahla medza stanovenia 1-10 ng/L (1-10 ppt) pre prchavé kontaminanty: 1,1,1-C₂H₃Cl₃, CCl₄, CHClBr₂, C₂HCl₃, C₂Cl₄ alebo CHBr₃ vo vode¹⁴. Vo vodných vzorkách s použitím „headspace sampling“ SPME (vlákno so 100 m PDMS vrstvou, GC- IT-MS) sa dosiahla medza stanovenia analýzy 28 VOCs 0,4-238,1 ppt. Presnosť charakterizovaná RSD bola 0,64-6,89 % pri koncentrácií 100 ppb 28 VOCs vo vode⁴¹. V prípade tuhých vzoriek (pôdy) s použitím „headspace sampling“ SPME (vlákno so 100 m PDMS vrstvou, GC-MS) sa dosiahla medza stanovenia 4 chlórovaných VOCs 2-20 ppb⁴⁷.

Tabuľka 6. Medza stanovenia (LOD) a RSD 6 chlórovaných VOCs v troch matriciach s obsahom ppb.

Látka	Matrica					
	Odpadová voda		Kal		Piesok	
	LOD [ppt]	RSD [%]	LOD [ppt]	RSD [%]	LOD [ppt]	RSD [%]
1,1-dichlóretán	400	14	450	14	80	4
chloroform	6	5	150	9	40	2
tetrachlórmetyán	20	6	70	3	20	4
trichlóretán	110	7	550	7	70	6
dibromochlórmetyán	210	3	110	7	3	3
chlórbenzén	2	14	30	6	1	4

ZÁVER

Z rozsiahleho množstva publikácií vyplýva, že použitie tejto techniky je veľmi široké, čo sa týka skupenstva vzoriek (kvapalné, plynné, tuhé), prchavých analytov a ich koncentračných hladín. SPME je technika vhodná na analýzu prchavých organických látok (VOCs) tak ako nehalogénovaných (BTEX zlúčeniny, alkoholy, estery, terpény), tak aj halogénovaných prchavých organických látok a heteroaromatických zlúčenín v dôležitých environmentálnych matriciach (pôda, voda, vzduch, víno, ihličky z ihličnových stromov, extrakty z liečivých rastlín) ovplyvňujúcich ekosystém a zdravie človeka. Preto sa kladie veľký dôraz na ich stanovenie a monitorovanie.

Metóda SPME eliminuje väčšinu nevýhod bežne používaných metód na úpravu vzoriek. Jej najdôležitejším výhodom sú rýchlosť (niekoľko minút – použitie bez úpravy vzorky), citlivosť (SPME bežne dosahuje detektívny limit ppt pre väčšinu prchavých zložiek v závislosti od použitia analytickej koncovky), hospodárnosť (bezrozprúšľadlová metóda). Má široké využitie v spojení s GC, resp. GC-MS a je prístupná pre úplnú automatizáciu.

LITERATÚRA

- J. Pawliszyn, Trends in Analytical Chemistry, 14, 113 (1995).
- R. Eisert, K. Levsen, J. Chromatogr. A, 733, 143 (1996).
- R. Eisert, J. Pawliszyn, Critical Reviews in Anal. Chem., 27, 103 (1997).
- J. Sedláčková, E. Matisová, M. Slezáčková, Chemické listy, 92, 663 (1998).
- R. E. Majors, LC-6GC 8, 128 (1995).
- S. P. Thomas, R. S. Ranjan, G. R. B. Webster, L. P. Sarna,

- Environ. Sci. Technol. 30, 1521 (1996).
- C. L. Arthut, L. M. Killam, S. Motlagh, M. Lim, D. W. Potter, J. B. Pawliszyn, Environ. Sci. Technol. 26, 979 (1992).
- Z. Zhang, M.J. Yang, J.B. Pawliszyn, Anal. Chem. 66, 844A (1994).
- Z. Zhang, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 65, 1843 (1993).
- T. Nilsson, F. Pelusio, L. Montanarella, B. Larsen, S. Faccetti, J. O. Madsen, High Resolut. Chromatogr. 18, 617 (1995).
- B. Mac Gillivray, J. B. Pawliszyn, P. FoWlie, Ch. Sagara, J. Chromatogr. Science 32, 317 (1994).
- C. Rivas Sean, M. Caude, Chromatografia 41, 462 (1995).
- Y. Assadi, D. Djozan, 21th International Symposium on Chromatography, In Com 96, Stuttgart 1996, str. 81.
- P. Popp, G. Opperman, 21th International Symposium on Chromatography, In Com 96, Stuttgart 1996, str. 87.
- D. Djozan, Y. Assadi, 18th International Symposium on Chromatography, In Com 96, Riva del Garda 1996, str. 2272.
- T. Nilsson, R. Ferrari, S. Faccetti, 18th International Symposium on Chromatography, In Com 96, Riva del Garda 1996, str. 618.
- D. W. Pottr, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 625, 247 (1992).
- L. P. Sarna, G. R. B. Webster, M. R. Friesen-Fischer, R. S. Ranjan, J. Chromatogr. A 677, 201 (1994).
- P. Popp, A. Paschke, V. Schroeter, G. Oppermann, Anal. Chem. 40, 897 (1995).
- R. E. Shirey, Supelco Inc. (1994).
- T. Grecki, J. Pawliszyn, J. High Resolut. Chromatogr. 18, 161 (1995).
- The Supelco Reporter 13, No. 5, 2 (1994).
- Supelco Application 56 (1994).
- S. S. Johansen, J. Pawliszyn, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 627 (1996).
- I. Valor, C. Cortada, J. C. Molto, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 472 (1996).
- J. Czervinski, B. Zygmunt, J. Namiestnik, Fresenius Environ. Bulletin 5, 55 (1996).
- The Supelco Reporter 12, No. 4, 8 (1993).
- E. Matisová, J. Sedláčková, M. Slezáčková, T. Welsch, J. High Resolut. Chromatogr. (odoslané).
- E. Matisová, J. Sedláčková, T. Welsch, Chromatografia (odoslané).
- GC Advantages 4.
- The Supelco Reporter 12, No. 4 (1994).
- J. Zhang, J. Pawliszyn, J. High Resolut. Chromatogr. 16, 689 (1993).
- Supelco Application 11 (1994).
- C. L. Arthur, D. W. Potter, K. D. Buchholz, S. Motlang, J. Pawliszyn, LC.GC 10, 656 (1992).
- C. L. Arthur, L. M. Killam, K.D. Buchholz, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 64, 1960 (1992).
- F. J. Santos, M. T. Galceran, D. Fraisse, J. Chromatogr. A 742, 181 (1996).
- R. Shirley, Rapid Analysis of Environmental Samples, Using Solid Phase Microextraction (SPME), Supelco Inc. Supelco Park, Bellefonte, Pennsylvania 16 823 USA (1994).
- T. Górecki, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 67, 3265 (1995).
- T. Górecki, J. Pawliszyn, 18th International Symposium on Capillary Chromatography, In Com 96, Riva del Garda 1996 str.1634.
- D. Louch, S. Motlagh, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 64, 1187 (1992).
- Z. Zhang, J. Pawliszyn, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 155 (1996).
- R. E. Shirley, J. High Resolut. Chromatogr. 18, 495 (1995).
- F. Mangani, R. Cenciarini, Chromatographia 41, 678 (1995).
- Z. Zhang, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 67, 34 (1995).
- M. Chai, J. Pawliszyn, Environ. Sci. Technol. 29, 693 (1996).
- T. Nilsson, A. Fromberg, B. Larsen, L. Montanarella, S. Faccetti, J. O. Madsen, 26th International Symposium on Environmental Chemistry, In Com 96, Vienna 1996, TH 5.
- K. J. James, M. A. Stack, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 515 (1996).
- J. Czervinski, B. Zygmunt, J. Namiestnik, Fresenius J. Anal.

- Chem.356, 80 (1996).
49. D. De la Calle Garcia, M. Reichenbacher, K. Danzer, Ch. Hurlbeck, Ch. Bartzsch, K. Feller, J. High Resolut. Chromatogr. 20, 665 (1995).
50. B. Schfer, P. Hennig, W. Engewald, J. High Resolut. Chromatogr. 18, 587 (1995).
51. E. D. Conte, D. W. Miller, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 294 (1996).
52. M. Straková, E. Matisová, Chem. Listy 91, 330 (1997).
53. S. S. Johansen, J. Pawliszyn, 18th International Symposium on Capillary Chromatography, In Com 96, Riva del Garda 1996, str. 663.
54. E. Fattore, E. Benfenati, R. Fanelli, J. Chromatogr. A 737, 85 (1996).
55. T. Grecki, A. Boydoland, Z. Y. Zhang, J. Pawliszyn, Canadien J. Chemistry – Revue Canadienne de Chimie 74, 1297 (1996).

Martina Slezáčková, Slovnaft VÚRUP, a.s.,
Vlčie hrdlo, 824 12 Bratislava SR
Doc. Ing. Eva Matisová, DrSc.,
Ing. Jana Sedláčková, Katedra analytickej chémie
Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9,
Bratislava SR