

Stanovení Polycyklických Aromatických Uhlovodíků ve vodách a sedimentech metodou SFE-GC/MS

Úvod:

Polycyklické Aromatické Uhlovodíky (PAU, v angličtině PAH – Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) patří do skupiny prvních prokázaných karcinogenů. Existují stovky polyaromatických uhlovodíků. Fyzikální a chemické vlastnosti jednotlivých látek závisejí na jejich molekulové hmotnosti - s rostoucí molekulovou hmotností klesá jejich těkavost nebo rozpustnost ve vodě a naopak roste bod tání, bod varu či lipofilita. Tyto nepolární látky představují pro životní prostředí i pro všechny živočichy včetně člověka potenciální hrozbu v podobě své karcinogenity a mutagenity. Významným zdrojem znečištění polyaromatickými uhlovodíky jsou průmyslové podniky (chemičky, hutě, elektrárny, teplárny), ale i spalovací motory dopravních prostředků nebo lokální topeniště. Do vodního prostředí se pak dostávají především při úniku ropných látek, olejů a maziv. Vyskytují se téměř ve všech vodách buď nerozpuštěné, adsorbované na tuhých látkách (sedimentů, suspenzí), nebo v rozpuštěné formě. Vzhledem ke svému nepolárnímu charakteru jsou sice ve vodě nerozpustné (vyjma naftalenu), ale o to více se usazují a adsorbují na všechny povrchy. PAU se silně adsorbují na sedimenty ve vodách, které proto působí jako určité rezervoáry. Přestože jsou poměrně velmi málo rozpustné, musí být zejména v pitných, ale i v povrchových vodách sledovány právě pro jejich vysoce nebezpečné zdravotní účinky. Vlastní stanovení představuje nejjednodušší část experimentu. Mnohem důležitější roli zde hraje odběr a úprava vzorku a následná izolace a prekoncentrace PAU z tohoto vzorku.

Normy a standardizace analýz

Stanovení PAU ve vodách či zeminách začíná extrakcí vzorků vhodným rozpouštědlem (obvykle hexan), pokračuje přečištěním extraktů a následně končí analýzou plynovým nebo kapalinovým chromatografem. Konkrétní detaily postupu se mohou v jednotlivých laboratořích lišit. Plynová a kapalinová chromatografie jsou jako analytická koncovka využívány ve srovnatelné míře. Jelikož do skupiny PAU spadá celá řada látek, je vhodné upozornit na fakt, že to, které konkrétní PAU se v daném případě započítávají do sumy PAU ve vzorku, vychází z příslušné legislativy (potravinářství, životní prostředí atd.), a proto pro různé typy původu vzorků se počet sčítaných PAU liší. U vzorků z oblasti životního prostředí se například sčítá obsah devíti přesně definovaných PAU.

Stanovení PAU (šesti základních - fluoranthen, benzo(a)pyren, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(ghi)perylene a indeno(1, 2, 3-cd)pyren) metodou HPLC s fluorescenčním, a metodou GC s hmotnostním detektorem upravuje česká technická norma ČSN 75 7554 (Jakost vod - Stanovení vybraných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU)). Stanovení šesti vybraných PAU touto metodou lze použít i jako ukazatel přítomnosti řady dalších PAU v některých povrchových a vyčištěných odpadních vodách.

Pozn. *vzhledem k nebezpečnosti používaných a stanovovaných látek je bezpodmínečně nutné, aby s uvedenými metodami pracovali zkušení a kvalifikovaní analytici dokonale obeznámení s chromatografickou technikou podle zásad správné laboratorní činnosti!*

Princip analytických metod

Stanovení PAU je standardně prováděno buď vysoko-účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s fluorescenčním detektorem (FLD), nebo plynovou chromatografií (GC) s hmotnostním detektorem (MSD) po extrakci kapalina-kapalina, nebo po extrakci do tuhé fáze (SPE). Představená metoda izolace (FSE) a stanovení (GC/MS) PAU je standardně používána na Katedře analytické chemie Přf UP v Olomouci.

Superkritická fluidní extrakce (FSE) využívá k izolaci analytů unikátních vlastností superkritické fluidní tekutiny vzniklé za určitých podmínek z CO₂. Tato tekutina se chová jako plyn a kapalina zároveň a má nepolární charakter. Proto se využívá k izolacím nepolárních sloučenin. Díky podobnosti s plyny snáze proniká do struktury matrice (tj. pórů zeminy a sedimentů) a vlastnosti kapalin využívá ve své schopnosti rozpouštět nepolární sloučeniny. Kombinace těchto dvou vlastností je proto v případě stanovení PAU naprosto ideální.

Po izolaci všech analytů ze vzorku sedimentu je nutné provést následnou analýzu, abychom zjistily obsah jednotlivých PAU ve vzorku. K tomuto účelu se využívá **plynová chromatografie (GC) s hmotnostním detektorem (MS)**. Tato vysoko-účinná separační technika využívá rozdělování mezi mobilní (plynnou) a stacionární (kapalnou) fázi v dlouhé kapilární koloně a odděluje (separuje) jednotlivé složky složité směsi od sebe.

Hmotnostní detektor je velice citlivý detektor, který všechny složky vycházející z kolony v průběhu separace analyzuje a s použitím hmotnostního spektra je identifikuje na základě shody s knihovnou hmotnostních spekter.

Provedení:

Prvním úkolem při analýze PAU je **odebrání vzorků sedimentu**. Odběr vzorku provedeme podle metodiky ZVHS (Zemědělská Vodohospodářská Správa) za pomoci tzv. hrabákové sondy. Hrabáková sonda se skládá z teleskopické tyče a nádoby z inertního materiálu (**Obr.1**). Odebereme povrchovou část sedimentu do hloubky 15 cm. Po odběru odstraníme hrubé částice, jako jsou větve, kameny, listí. Následně odebraný materiál zhomogenizujeme a odebereme adekvátní podíl odebraného vzorku (cca 3 kg). Odebraný materiál necháme po dobu 14 dnů sušit za laboratorní teploty, provedeme síťování na frakci 0 – 2 mm a následně kvartaci vzorku. **Pozn.** vzorek sedimentu je možno také odebrat za pomoci potápěčské techniky z větší hloubky do jednoduché vzorkovnice.



Obr.1: Odběr vzorku za pomoci hrabákové sondy.
(foto P. Hekera)

Dále provedeme **izolaci analytů**. Pro izolaci použijeme přístroj pro superkritickou fluidní extrakci Lizard 2001 (SEKO-K, Brno, Česká republika) (**Obr.2**). Jako extrakční plyn použijeme oxid uhličitý (4.8, SIAD, Bergamo, Itálie), jako chladící medium oxid uhličitý (potravinářský E290, SIAD, Bergamo, Itálie) a dusík (4.7, SIAD, Bergamo, Itálie).

Do ocelové patrony navážíme 5 až 20 g připraveného vzorku sedimentu, přidáme 100 μ l methanolu jako modifikátoru, patronu uzavřeme a dále pokračujeme podle návodu k přístroji při nastavení všech parametrů. Patronu umístíme do extraktoru a zvolíme příslušný extrakční program (tlak: 15 MPa, čas: 30 min, teplota cely: 35 °C, teplota destruktora: 100 °C, teplota záchytu: 30 °C). Záchyt analytů provádíme do 1 ml toluenu. V průběhu extrakce doplňujeme malá množství toluenu, aby ve vialce bylo stále rozpouštědlo a nedocházelo ke ztrátám analytů.



Obr.2: Přístroj pro Superkritickou Fluidní Extrakci. (foto M. Zapadlo)

Pokračujeme **GC-MS analýzou extraktu**. Vialku s extraktem vzorku po ukončení extrakce uzavřeme víčkem s teflonovým septem. Umístíme vialku do zásobníku autosampleru a vybereme přístrojovou metodu pro analýzu extraktů sedimentů (viz. níže).

Pro GC-MS analýzu použijeme plynový chromatograf HP 6890 s hmotnostním detektorem MSD 5973 N a autosamplerem HP 7683 (Agilent, Palo Alto, USA), knihovna hmotnostních spekter NIST 02 (USA). Analýzu provedeme na kapilární koloně s nepolární stacionární fází 30m x 0,25 mm I.D. x 0,25 μ m (5% difenyl-95% polydimethylsiloxan). Jako nosný plyn používáme helium (4.8, SIAD, Bergamo, Itálie), 0,9 ml/min. Dávkujeme 1 μ l vzorku s dávkovacím pulsem 140 kPa po dobu 0,4 min (pulsní splitless). Teplota nástřiku 280 °C, teplotní program 80 °C – 1 min – 20 °C/min – 130 °C – 5 °C/min – 320 °C – 5 min. Teplota kapiláry spojující GC s MS: 280 °C. Pro sběr MS dat použijeme selektivní monitoring iontů (SIM).

Vyhodnocení výsledků

Po provedení analýzy metodou GC/MS provedeme vyhodnocení pomocí programového balíku MSD ChemStation a předem připravených kalibračních závislostí a vyhodnocovacího softwaru, který je součástí MSD ChemStation. Vyhodnocený obsah stanovovaných analytů následně přepočteme na obsah jednotlivých složek ve vzorku sedimentu a to v μ g/kg.

Použitá a doporučená literatura:

- Česká norma ČSN 75 7554 <http://nahledy.normy.biz/nahled.php?i=52312>
- http://www.irz.cz/latky/polycyklicke_aromati
- http://en.wikipedia.org/wiki/Polycyclic_aromatic_hydrocarbon
- Horáková M., Lischke P. & Grünwald A. (1986): Chemické a fyzikální metody analýzy vod
- T. R. E. Southwood & P. A. Henderson (1999): Ecological Methods
- http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ (Encyklopedie hydrobiologie)
- Návody k použití uváděných přístrojů

Tento studijní materiál byl vytvořen díky finanční podpoře projektu **FRVŠ/G4/1506/2009** „*Aplikace analytických metod do výuky hydrobiologie*“.