

Použitie extrakcie na tuhej fáze (SPE) na izoláciu polycyklických aromatických uhľovodíkov z pitnej vody

ELENA BELAJOVÁ

SÚHRN. Článok pojednáva o použití extrakcie na tuhej fáze pri izolácii polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) z pitnej vody. Na účely izolácie boli vybrané extrakčné kolónky s rôznym usporiadaním nepolárneho sorbentu (stĺpec, disk) od rôznych výrobcov (Tessek, Merck, J. T. Baker). Účinnosť izolácie PAU z vody bola vyhodnotená na základe ich výťažnosti a použitých vybraných elučných rozpúšťadiel (metanol, zmes metanolu a dichlórmétanu, hexán). Zistilo sa, že výťažnosť PAU z vody bola ovplyvnená mnohými analytickými parametrami materiálu použitého na ich izoláciu, ako napríklad typ SPE kolónky, zrnitosť a hmotnosť sorbentu, objem a druh elučného činidla. Najlepšie experimentálne výsledky sa získali pri použití nepolárneho sorbentu C18 od výrobcu J. T. Baker a elučného činidla hexánu. Priemerná výťažnosť benzo(a)pyrénu bola okolo 70 %. PAU izolované z pitnej vody sa analyzovali metódou HPLC s UV a fluorescenčnou detekciou.

KLÍČOVÉ SLOVÁ: polycyklické aromatické uhľovodíky, benzo(a)pyrén, extrakcia na tuhej fáze, pitná voda

Výskyt polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) vo vodách v koncentráciách prekračujúcich platné limity sa stáva čoraz závažnejším problémom vodného hospodárstva. Hoci sa jedná o zlúčeniny s výrazne hydrofóbnymi vlastnosťami, ich prítomnosť v pitnej vode v koncentráciách nad povolenou hodnotou (najmä benzo(a)pyrénu) je nežiadúca najmä z hľadiska ich karcinogénnych účinkov.

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) a Európska komisia (nariadenie 80/778/EEC) stanovili maximálny limit pre sumu šiestich PAU v pitnej vode (fluorantén, benzo(b)fluorantén, benzo(k)fluorantén, benzo(a)pyrén, benzo(ghi)perylén, indeno(123-cd)pyrén) na hranicu 200 ng.l⁻¹ a maximálny limit pre benzo(a)pyrén na úrovni 10 ng.l⁻¹ [1]. Tieto hodnoty koncentrácie sumy PAU a benzo(a)pyrénu korešpondujú s hodnotami, ktoré uvádza

Ing. Elena BELAJOVÁ, Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, P. O. box 25, 824 75 Bratislava.

Slovenská technická norma pre kontrolu kvality pitnej vody [2]. Nariadenia v niektorých krajinách odporúčajú sledovať až 16 druhov PAU v pitnej vode, resp. ďalšie prídavné PAU (ako sú perylén, benzo(e)pyrén a i.).

Americký úrad EPA (Environmental Protection Agency) uviedol do platnosti okrem iných aj štandardizované chromatografické metódy na stanovenie PAU v pitnej vode (metóda 550.1 prostredníctvom HPLC/UV + FLD a plynovej chromatografie GC/MS, metóda 525) [3,4].

Bežné postupy na predúpravu vzoriek zahŕňujú zväčša extrakciu kvapalina-kvapalina, centrifugáciu a extrakciu na tuhej fáze (SPE). Pokiaľ ide o vodné roztoky vzoriek, SPE takmer úplne pokrýva tieto tradičné extrakčné postupy. Je to technika umožňujúca rýchle spracovanie vzorky, eliminuje potrebu väčšieho množstva chemického skla a organických rozpúšťadiel, poskytuje reprodukovateľnejšie výsledky a zlepšuje celkovú ekonomiku extrakčného procesu. Výber stratégie SPE závisí od chemických vlastností izolovaného komponentu, zloženia matrice a zámeru separácie komponentu od ostatných zložiek matrice. Metódy EPA využívajú na izoláciu PAU z pitnej vody SPE v kolónkach s nepolárnym sorbentom v stĺpci a metódu SPE v extrakčnom disku EMPORE (EPA QTM – EPA Quick Turnaround Method) [6], v niektorých iných metódach sa aplikujú polárne sorbenty, resp. iónomeniče [7, 8].

Cieľom predloženej práce bolo určiť optimálny spôsob izolácie PAU z pitnej vody na základe porovnania účinnosti vybraných extrakčných SPE kolóniek a elučného organického činidla premietnutých do výťažnosti. Práca uvádza výsledky pre obsah vybraných šiestich druhov PAU (vrátane benzo(a)pyrénu) a 16 druhov PAU (PAH MIX 62 podľa štandardu EPA) v pitnej vode pomocou HPLC s UV a fluorescenčnou detekciou.

Materiál a metódy

Prístroje a chemikálie

Kvapalinový chromatograf (Pye Unicam, Anglicko): programovacia jednotka PU 4003, vysokotlaková gradientová pumpa PU 4003, diode-array UV/VIS detektor PU 4021, integrátor PU 4810, fluorescenčný detektor LC 1250 (GBC, Austrália), dávkovací ventil Rheodyne 7021 (Rheodyne, USA), ultrazvukový čistiaci stroj UC 005 AJ1 (Tesla, SR), rotačná vákuová odparka RVO 64 (Mikrotechna, ČR), dvanásťmiestne vákuové zariadenie na SPE extrakciu (J. T. Baker Inc., USA).

Organické rozpúšťadlá:

acetonitrol LiChrosolv, gradient grade pre chromatografiu (Merck, SRN), metanol LiChrosolv, gradient grade pre chromatografiu (Merck, SRN), dichlórmétán p. a. (Merck, SRN), hexán UV (Lachema, ČR).

SPE kolónky so sorbentom v stĺpci:

Separon SGX C18 cart, 500 mg, 60 μm (Tessek, ČR); LiChrolut RP-18, 200 mg, 40-63 μm (Merck, SRN); Bakerbond spe Octadecyl C18, 500 mg, 40 μm (J. T. Baker, USA); Bakerbond spe Octadecyl C18, 1000 mg, 40 μm (J. T. Baker, USA); Bakerbond spe Cyano CN, 1000 mg, 40 μm (J. T. Baker, USA).

SPE disky so sorbentom v membráne (EMPORE):

MicroBond Elut – C8, 11 mm/6 ml, 8 μm (Varian, USA); MicroBond Elut C18, 11 mm/6 ml, 8 μm (Varian, USA).

Referenčný materiál PAU fy Dr. Ehrenstorfer, GmbH, SRN:

benzo(a)pyrén (B(a)P), certifikovaný, 99,6 %, kryštalický; benzo(e)pyrén (B(e)P), roztok 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ v izooktáne; dibenzo(ah)antracén (DB(ah)A), certifikovaný, 99,3 %, kryštalický; benzo(ghi)perylén (B(ghi)P), 99,0 %, kryštalický; antantrén (A), roztok 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ v izooktáne; koronén (K), roztok 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ v cyklohexáne.

Referenčný materiál PAU (EPA Method 610):

PAH MIX 62 v acetonitrile, 16 komponentov s koncentráciou každého 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$: naftalén (Naft), acenaftylén (Acf), acenaftén (Acen), fluorén (Fln), fenantrén (Fen), antracén (Ant), fluorantén (Flt), pyrén (Pyr), benzo(a)antracén (B(a)A), chryzén (Ch), benzo(b)fluorantén (B(b)F), benzo(k)fluorantén (B(k)F), benzo(a)pyrén (B(a)P), dibenzo(ah)antracén (DB(ah)A), benzo(ghi)perylén (B(ghi)P), indeno(123-cd)pyrén (I(cd)P).

Pracovné postupy

Príprava zásobných štandardných roztokov

- Kryštalické PAU – 10 mg sa rozpustilo v 100 ml metanolu, resp. cyklohexánu (koncentrácia 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$).
- Roztoky PAU v cyklohexáne a izooktáne – z 5 ml roztoku sa odparilo rozpúšťadlo prúdom dusíka pri teplote vodného kúpeľa 35 až 40 °C

a odparok sa rozpustil v 5 ml metanolu (koncentrácia $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$).

c) 50 μl štandardnej zmesi PAH MIX 62 sa zriedilo acetonitrilom 2000-krát (koncentrácia $50 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$).

Ostatné pracovné roztoky PAU sa pripravili riedením zásobných roztokov.

*SPE extrakcia PAU z vody na nepolárnej fáze
(chromatografický postup LC/UVD)*

Extrakčné kolónky s nepolárnou fázou (Separon SGX C18, 500 mg; LiChrolut RP-18, 200 mg; Bakerbond Octadecyl C18, 500 mg) sa vopred premyli 2 ml metanolu a 2 ml destilovanej vody tak, aby sa povrch sorbentu nevysušil. Cez kolónku sa presalo 200 ml vody, ktorá sa predtým fortifikovala 1 ml štandardnej zmesi šiestich PAU v metanole s koncentráciou v rozsahu $0,460$ až $0,715 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. PAU sa z kolónky eluovali organickým rozpúšťadlom (acetonitril, metanol), ktoré bolo použité v množstvách 1 až 20 ml. Rozpúšťadlo sa odparilo vo vákuovej odparke a odparok rozpustil v 1 ml metanolu.

SPE extrakcia PAU z vody na disku EMPORE

Extrakčné disky so sorbentom MicroBond Elut C8 a C18 vlisovaného do membrány sa vopred premyli 5 ml metanolu a 2 ml destilovanej vody. Postupne sa cez ne presalo 200 až 250 ml pitnej vody, resp. vody fortifikovanej 1 ml štandardnej zmesi šiestich PAU v metanole s koncentráciou v rozsahu $0,368$ až $0,715 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. PAU sa eluovali organickým rozpúšťadlom (metanol, dichlórmetán, hexán) v množstvách 1 až 15 ml. V prípade použitia hexánu ako elučného činidla sa sorbent pred elúciou PAU presušal vákuom asi 30 min. Rozpúšťadlo sa odparilo vo vákuovej odparke a odparok sa rozpustil v 1 ml metanolu.

*SPE extrakcia PAU z vody na nepolárnej fáze
(chromatografický postup LC/FLD)*

1. Extrakčné kolónky Bakerbond Octadecyl C18, 1000 mg sa premyli 5 ml hexánu, presušili vákuom 5 min, potom sa opäť premyli 5 ml metanolu a 3 ml destilovanej vody. Kolónkami sa presalo 500 ml vody, ktorá sa predtým fortifikovala 1 ml štandardnej zmesi PAH MIX s koncentráciou každého PAU $30 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Po presatí vody sa kolónky presušali vákuom 20 až 30 min. PAU sa z kolóniek eluovali s 6 x 1 ml hexánu, eluát sa odparil vo vákuovej odparke a odparok sa rozpustil v 500 μl metanolu.
2. Disky EMPORE so sorbentom MicroBond Elut C18 lisovanom v membráne sa najprv premyli 2 ml metanolu a 2 ml destilovanej vody. Ďalší postup bol identický s postupom v bode 1.

Slepé pokusy sa pripravili takým istým postupom - presávaním nefortifikovanej vody cez stĺpec sorbentu, resp. disk.

Chromatografický postup LC/ULD

Kolóna: Separon SGX C18, 150 x 3 mm, 5 μ m (Tessek, ČR)
 Mobilná fáza: acetonitril + voda, 80 + 20, resp. 85 + 15 (v/v)
 Prietok: 1 ml.min⁻¹
 Detekcia: UV pri 300 nm
 Nástreč: 20 μ l

Chromatografický postup LC/FLD

Kolóna: LiChrolut 250-4 so stacionárnou fázou Lichrospher PAH, s predkolónou LiChroCart 4-4 a fázou Lichrospher PAH (Merck, SRN)
 Mobilná fáza: A: acetonitril + voda, 50 + 50 (v/v)
 B: 100 % acetonitril

Program gradientu: 0. – 3. min 0 % B
 3. – 13. min 0 - 53 % B lineárne
 13. – 18. min 53 % B
 18. – 23. min 53 - 100 % B lineárne
 23. – 41. min 100 % B
 41. – 51. min 100 - 0 % B (ustaľovanie kolóny)

Prietok: 1 ml.min⁻¹
 Nástreč: 20 μ l
 Detekcia: fluorescenčná

analyt	λ (excitačná)	λ (emisná)
Naft, Acen, Fen	280 nm	330 nm
Fen, Ant, Flt, Pyr	260 nm	400 nm
B(a)A	300 nm	410 nm
Ch, B(b)F, B(k)F	268 nm	398 nm
B(a)P, DB(ah)A, B(ghi)P, I(cd)P	300 nm	410 nm

Výsledky a diskusia

Na izoláciu resp. skoncentrovanie stopových množstiev PAU z pitnej vody sa vybrali extrakčné kolónky s nepolárnou fázou C8 a C18, na ktorých majú tieto zlúčeniny výbornú retenciu, zatiaľ čo ostatné polárne zložky prítomné

vo vode ňou prechádzajú nezadržané. Podobne, podľa charakteristík rozpustnosti PAU (polarity) a elučnej sily organického činidla (ϵ^0), sa riadila voľba elučného organického činidla. V prípade vody ako matrice sú na elúciu PAU vhodné rozpúšťadlá s nízkou hodnotou ϵ^0 [5] a postup SPE extrakcie je zjednodušený o premývací krok. Metanol sa považuje za všeobecne vhodné činidlo na elúciu nepolárnych zlúčenín z nepolárnych sorbentov a ich kondicionovanie. Okrem metanolu sa ako elučné prostriedky pre experiment vybrali aj zmes dichlórmetánu s metanolom a hexán.

Úvodom sa pozornosť zamerala na výťažnosť PAU, pričom sa použili nepolárne sorbenty usporiadané v stĺpci s hmotnosťou sorbentu 200 a 500 mg od firmy Tessek, Merck a J. T. Baker. Pitná voda sa fortifikovala štandardnou zmesou benzo(e)pyrénu, benzo(a)pyrénu, dibenzo(ah)antracénu, benzo(ghi)perylénu, antantrénu a koronénu v koncentráciách 0,46 až 0,71 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a presávala cez SPE kolónky pomocou vákuového zariadenia pri pracovnom prietoku 4 až 5 ml.min^{-1} (podtlak -30 až -35 kPa). Slepé pokusy sa pripravili presávaním nefortifikovanej vody. Spracované vzorky sa analyzovali chromatografickým postupom LC/UVD, ktorý dovoľoval pri pomerne vysokých fortifikačných hladinách spoľahlivo stanoviť koncentráciu PAU izolovaných z vody. Jednotlivé PAU sa identifikovali na základe retenčných časov, keďže v chromatografickej analýze neinterferovali žiadne koelučné komponenty. Smerodajnými údajmi na vyhodnotenie experimentov boli údaje pre benzo(a)pyrén, ktorý je reprezentantom skupiny PAU s preukázanými karcinogénnymi vlastnosťami.

V prípade metanolu ako elučného činidla sa sledovala výťažnosť PAU pri použití jeho objemov 1 až 20 ml. Zámerom bolo zistiť, aké minimálne množstvo metanolu je potrebné na vytesnenie maximálneho množstva PAU zachyteného na sorbente. Výťažnosť B(a)P bola iba mierne stúpajúca so zvyšujúcim sa objemom metanolu do úrovne 8,5 ml (tab. 1, obr. 1) a predstavovala priemernú hodnotu $60 \pm 8 \%$ (kolónky firmy Tessek). Účinnosť SPE kolóniek od firmy Merck a J. T. Baker (elučné objemy metanolu 5, 10, 15, resp. 20 ml) bola nižšia a výťažky PAU nedosiahli úroveň 60 % ani po zvýšení objemu metanolu. Hmotnosť sorbentu v SPE kolónkach (200 a 500 mg) nevýznamne ovplyvňovala výťažnosť eluovaných PAU, avšak pozoroval sa určitý priamoúmerný vzťah medzi zrnitosťou použitého sorbentu (60 μm , 40–63 μm , 40 μm) a koncentráciou vylučovaných PAU (tab. 1, elučný objem metanolu 5 a 10 ml).

V snahe znížiť retenciu PAU na nepolárnom sorbente a minimalizovať objemy elučných prostriedkov sa odskúšali extrakčné disky, v ktorých bol sorbent (MicroBond Elut C8, Varian) spolu s inertnými PTFE mikrovláknami vlisovaný do membrány (EMPORE). Na porovnanie bol použitý ten istý

Tabuľka 1. Priemerná výťažnosť PAU v percentách po ich extrakcii z vody na sorbentoch v stĺpci (elúcia metanolom, chromatografický postup LC/UVD).

Fortifikačná hladina: 0,460–0,715 µg.l⁻¹.

TABLE 1. Mean value of PAHs recovery in % after their extraction from water using sorbents in column arrangement (elution with methanol, chromatographic method LC/UVD).

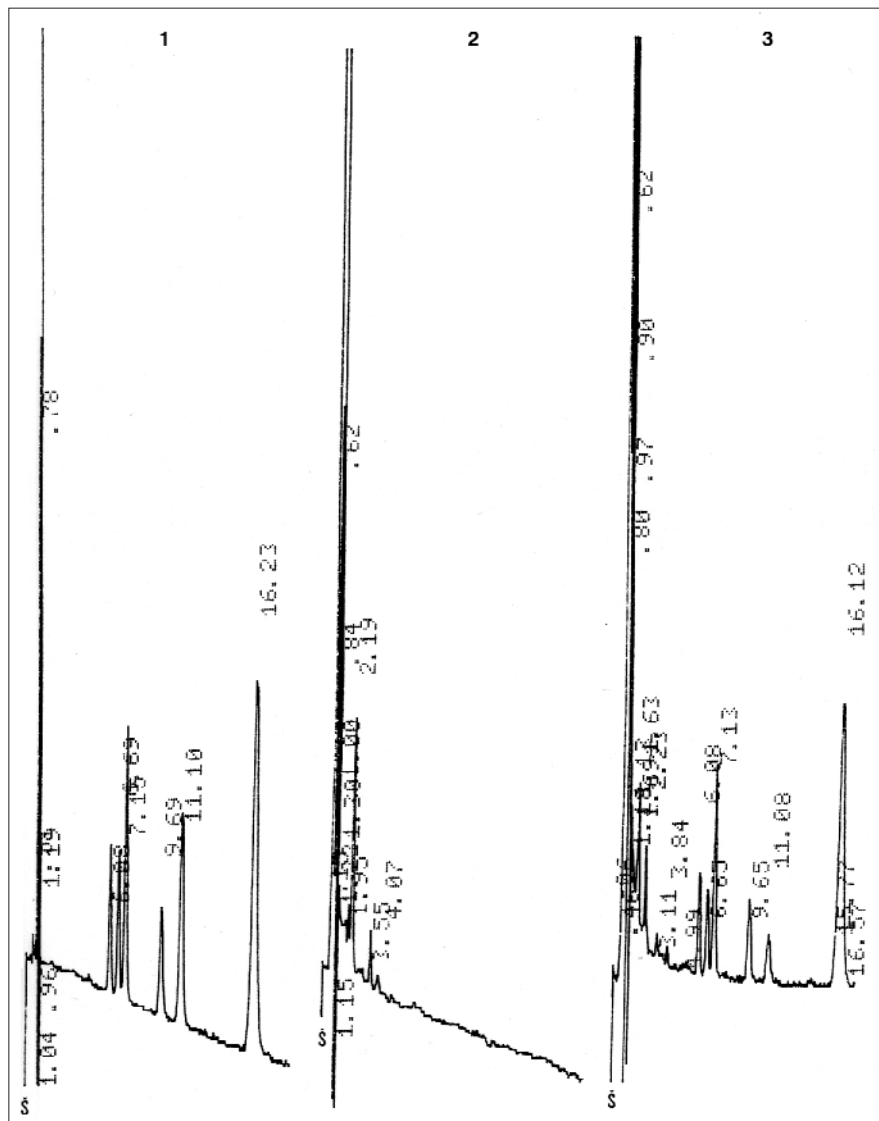
Concentration of spiking: 0.460 – 0.715 µg.l⁻¹.

Metanol ¹ [ml]	1	2	3	4	5	7	8,5	10	12	15	20
Typ kolónky ²	Separon SGX C18 cart, 500 mg, 60 µm (Tessek)										
B(e)P	ND	30,3	54,2	73,5	72,8	63,8	70,6	66,1	51,4	–	74,0
B(a)P	ND	27,0	39,8	31,0	45,3	54,9	60,1	46,2	40,3	–	50,1
DB(ah)A	ND	23,2	49,4	66,2	67,4	60,9	78,1	70,1	55,3	–	73,9
B(ghi)P	25,8	ND	35,9	59,2	64,0	62,5	72,5	69,4	69,3	–	78,8
A	ND	ND	ND	8,6	ND	19,3	17,3	14,3	26,0	–	11,4
K	ND	ND	ND	15,8	50,9	14,8	76,5	63,6	84,4	–	84,7
Typ kolónky	Lichrolut RP-18, 200 mg, 40 - 63 µm (Merck)										
B(e)P	–	–	–	–	32,7	–	–	32,8	–	36,3	–
B(a)P	–	–	–	–	11,7	–	–	23,3	–	20,3	–
DB(ah)A	–	–	–	–	34,5	–	–	37,3	–	44,1	–
B(ghi)P	–	–	–	–	65,3	–	–	74,5	–	77,6	–
A	–	–	–	–	4,3	–	–	8,1	–	7,9	–
K	–	–	–	–	39,1	–	–	48,1	–	59,7	–
Typ kolónky	Bakerbond Octadecyl C18, 500 mg, 40 µm (J. T. Baker)										
B(e)P	–	–	–	–	9,7	–	–	21,5	–	21,5	46,0
B(a)P	–	–	–	–	ND	–	–	7,6	–	12,9	44,5
DB(ah)A	–	–	–	–	17,7	–	–	40,0	–	39,5	70,6
B(ghi)P	–	–	–	–	ND	–	–	47,2	–	52,4	63,5
A	–	–	–	–	ND	–	–	4,6	–	9,1	69,4
K	–	–	–	–	ND	–	–	27,7	–	61,2	80,3

Štandardné odchýlky pre n = 4 sa pohybovali v rozpätí 0,09 - 20,50. Analyzované množstvo vody: 200 ml. ND - nedetegované, – - neanalyzované.

Standard deviations for n = 4 were 0.09 - 20.50. Analysed water volume: 200 ml. ND - not detected, – - not analysed, 1 - methanol, 2 - sort of the cartridge.

typ disku so sorbentom MicroBond Elut C18. PAU sa vytesnili z diskov metanolom v množstvách 1 a 2 ml (tab. 2). Výťažnosť B(a)P na diskoch EMPORE C8 bola približne na rovnakej úrovni ako na kolónke od firmy Tessek pri elučnom objeme metanolu 2 ml. Keďže ani v tomto prípade sa nepreukázala vyššia účinnosť diskov EMPORE, metanol sa nahradil



OBR. 1. Chromatogram štandardnej zmesi PAU (1), slepého pokusu (2) a PAU z fortifikovanej vody extrahovanej na kolónkach Tessek, elúcia s 8,5 ml metanolu (3) (chromatografický postup LC/UVD).

Retenčné časy pre (3): B(e)P - 6,08, B(a)P - 6,65, DB(ah)A - 7,13, B(ghi)P - 9,65, A - 11,08, K - 16,12.

Fig. 1. Chromatogram of standard PAH mix (1), blank (2) and PAHs isolated from spiked water, extracted on Tessek cartridges and eluted with 8.5 ml of methanol (3) (chromatographic method LC/UVD).

Retention times for (3): B(e)P - 6.08, B(a)P - 6.65, DB(ah)A - 7.13, B(ghi)P - 9.65, A - 11.08, K - 16.12.

nepolárnejšou zmesou metanol + dichlórmetán, 2 + 8 (v/v) a hexánom. V oboch prípadoch sa použil disk EMPORE C18 a elučné objemy 2 a 6 ml (tab. 3). Vyššia hodnota výťažnosti B(a)P sa zaznamenala pri elúcii PAU so 6 ml hexánu ($64,5 \pm 5 \%$). Dávkovanie hexánu na elúciu PAU z diskov EMPORE sa upravilo na 6 x 1 ml, čím sa zabezpečilo až 80-násobné skoncentrovanie PAU.

Okrem stanovenia minimálnych objemov elučných činidiel sa sledovala aj reprodukovateľnosť výťažnosti PAU z vody na nepoužitých a jednorázovo použitých extrakčných diskoch EMPORE C18, ktoré sa premyli čistým metanolom a zmesou metanol + chloroform, 1 + 1 (v/v), a znovu sa kondicionovali. Použité disky sa skúšali na slepé pokusy. Zistilo sa, že priemerná diferencia výťažnosti, o ktorú by mala byť redukovaná výťažnosť na jednorázovo použitých diskoch, bola v priemere asi 12 % (pre B(a)P 21 %). Navyše, odlišnosť výsledkov premietnutých do výťažnosti môže byť spôsobená kolísaním a neštandardnosťou parametrov jednotlivých šarží sorbentov a rozdielmi výrobných značiek, ktoré sú deklarované samotnými výrobcami hodnotou 10 %.

Reálny obsah PAU v pitnej vode bol stanovený chromatografickým postupom LC/FLD, ktorý umožnil detegovať stopové množstvá PAU v koncentra-

TABUĽKA 2. Priemerná výťažnosť PAU v percentách po ich extrakcii z vody na diskoch EMPORE s MicroBond Elut C8 a C18, 8 μm (elúcia s metanolom, chromatografický postup LC/UVD). Fortifikačná hladina: 0,368 - 0,572 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

TABLE 2. Mean value of PAH recovery in % after their extraction from water using EMPORE disks with MicroBond Elut C8 and C18, 8 μm (elution with methanol, chromatographic method LC/UVD). Concentration of spiking: 0.368 – 0.572 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Typ disku ¹	C8		C18	
Metanol ² [ml]	1	2	1	2
B(e)P	19,8	29,2	22,1	38,6
B(a)P	19,2	26,5	19,7	28,7
DB(ah)A	44,2	46,7	36,8	55,8
B(ghi)P	49,3	55,2	38,8	62,5
A	45,2	47,7	28,4	51,3
K	63,4	76,5	49,1	80,5

Štandardné odchýlky pre $n = 4$ sa pohybovali v rozpätí 0,01 až 5,76. Analyzované množstvo vody: 250 ml.

Standard deviations for $n = 4$ were 0.01 – 5.76. Analysed water volume: 250 ml.

1 – sort of the disk, 2 - methanol.

TABUĽKA 3. Priemerná výťažnosť PAU v percentách po ich extrakcii z vody na diskoch EMPORE s MicroBond Elut C18 (elúcia zmesou metanol + dichlórmetán a hexán).

Fortifikačná hladina: 0,460 - 0,715 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

TABLE 3. Mean value of PAH recovery in % after their extraction from water using EMPORE disks with MicroBond Elut C18 (elution with methanol + dichloromethane mix and hexane). Concentration of spiking: 0.460 – 0.715 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Elučný prostriedok ¹	Metanol + dichlórmetán ² 2 + 8, v/v		Hexán ³	
	[ml]			
B(e)P	68,4	78,8	71,1	76,4
B(a)P	41,0	58,9	55,9	64,5
DB(ah)A	78,0	86,6	82,5	80,7
B(ghi)P	72,2	81,4	78,2	78,6
A	10,4	8,3	10,6	30,1
K	82,6	88,6	86,4	85,1

Štandardné odchýlky pre $n = 4$ sa pohybovali v rozpätí 0,01 až 7,98. Analyzované množstvo vody: 200 ml.

Standard deviations for $n = 4$ were 0.01 – 7.98. Analysed water volume: 200 ml. 1 - elution agent, 2 - methanol + dichloromethane, 3 - hexane.

čnej oblasti ppt. Fluorescenčný detektor (FLD) v tomto prípade vykazoval v porovnaní s UV detektorom až 300-násobne vyššiu citlivosť na koncentráciu benzo(a)pyrénu (pre ostatné PAU asi 70-násobne vyššiu citlivosť). Na extrakciu sa použili SPE kolónky firmy T. J. Baker so sorbentom Bakerbond Octadecyl C18 v stĺpci a extrakčné disky firmy Varian so sorbentom MicroBond Elut C18 v membráne a na elúciu hexán (tab. 4). Stanovenie sa doplnilo o výťažnosť PAU na úrovni fortifikácie 30 ng.l^{-1} štandardnou zmesou PAH MIX 62. Chromatogram stanovenia PAU s použitím diskov EMPORE C18 je na obr. 2. Ako sa zistilo už pri chromatografickej analýze štandardného roztoku PAH MIX 62 s koncentráciou každého PAU 30 ng.ml^{-1} , acenaftylén, ktorý sa mal eluovať z kolóny v poradí druhý po naftaléne, nevykazoval žiadnu fluorescenčnú odozvu a nebolo ho možné identifikovať na žiadanom chromatograme. Naftalén, acenaftén a fluorén vykazovali vyššiu absorbanciu v UV oblasti spektra, preto sa vo výsledkoch s fluorescenčnou detekciou uvádzajú ako nestanovené (tab. 4). Výťažnosť PAU bola v prevažnej miere vyššia pri použití SPE kolóniek so sorbentom v stĺpci, koncentrácie vyfarených PAU boli na približne rovnakej úrovni s výnim-

kou fenantrénu, pyrénu a benzo(k)fluoranténu. V pitnej vode sa vôbec nevyskytovali dibenzo(ah)antracén a indeno(123-cd)pyrén. Vo všeobecnosti boli PAU vo vode prítomné v koncentráciách, ktoré sú akceptovateľné v súvislosti s nariadeniami Európskej komisie a WHO.

TABUĽKA 4. Priemerný obsah PAU vo vode v ng.l^{-1} a ich výťažnosť v percentách.

Fortifikačná hladina: 30 ng.l^{-1} .

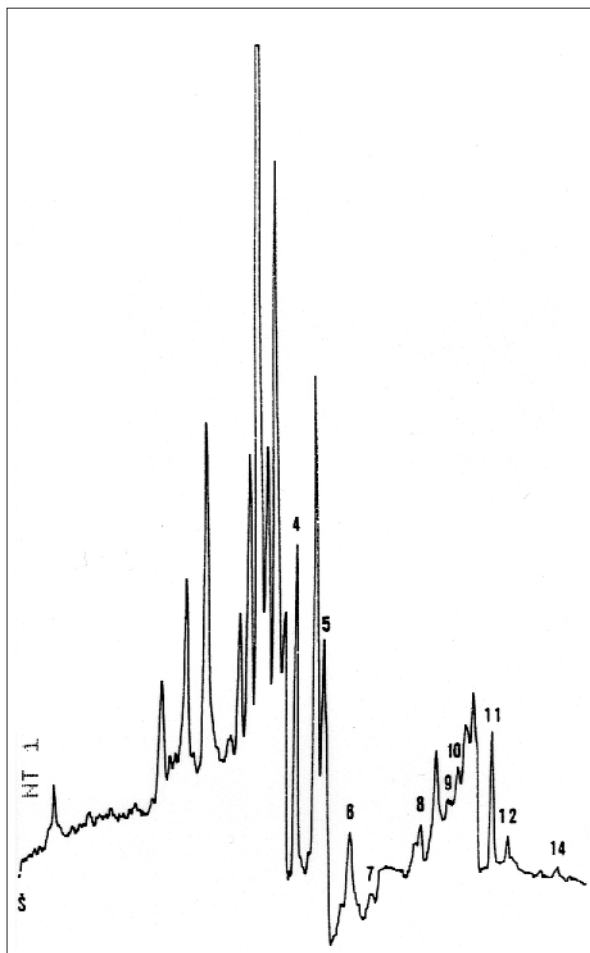
TABLE 4. Mean value of PAH content in water (ng.l^{-1}) and PAH recovery in %.

Concentration of spiking: 30 ng.l^{-1} .

PAU	LOD [ng.l^{-1}]	LOQ [ng.l^{-1}]	Bakerbond Octadecyl C18, 1000 mg, 40 μm		Empore MicroBond Elut C18, 8 μm	
			Obsah ¹ [ng.l^{-1}]	Výťažnosť ² [%]	Obsah [ng.l^{-1}]	Výťažnosť [%]
Naft	0,48	1,00	*	*	*	*
Acen	0,19	0,37	*	*	*	*
Flu	0,10	0,30	*	*	*	*
Fen	0,45	0,75	34,1	125,8	10,1	73,1
Ant	0,18	0,30	7,1	88,2	9,7	44,6
Flt	1,37	4,57	16,3	86,9	17,8	39,7
Pyr	0,48	1,49	6,1	98,7	16,1	104,6
B(a)A	3,54	8,30	21,4	58,9	25,0	68,7
Ch	0,22	0,43	3,2	90,4	2,4	54,2
B(b)F	0,04	0,28	4,6	63,9	3,8	49,6
B(k)F	0,21	0,46	17,1	79,0	9,6	51,3
B(a)P	0,02	0,11	1,8	69,7	1,8	54,4
DB(ah)A	0,05	0,26	ND	67,8	ND	51,0
B(ghi)P	0,10	0,27	1,0	58,5	1,3	46,1
I(cd)P	0,26	0,88	ND	61,8	ND	40,4
Σ PAU			112,7		97,6	
s_x (n = 4)			0,09 - 8,77	2 - 21	0,18 - 2,22	6 - 32

* - nebolo stanovené, ND - nedetegované, LOD - detekčný limit (najnižšia hodnota koncentrácie PAU vo vzorke vyjadrená ako trojnásobok štandardnej odchýlky plochy získanej pri minimálnom signále detektora), LOQ - limit stanovenia (desaťnásobok štandardnej odchýlky plochy).

* - not determined, ND - not detected, LOD - limit of detection (the smallest value of the PAH concentration in a sample expressed as the threefold value of the area standard deviation obtained at the minimal signal of detector), LOQ - limit of quantification (the tenfold value of the area standard deviation). 1 - content, 2 - recovery.



OBR. 2. Chromatogram PAU po extrakcii z vody na membráne EMPORE C18, elúcia hexánom (chromatografický postup LC/FLD).

FIG. 2. Chromatogram of PAHs extracted from water by using of membrane EMPORE C18 and eluted with hexane (chromatographic method LC/FLD).

- 4 - Fen
- 5 - Ant
- 6 - Flt
- 7 - Pyr
- 8 - B(a)A
- 9 - Ch
- 10 - B(b)F
- 11 - B(k)F
- 12 - B(a)P
- 14 - B(ghi)P

Záver

Z vykonaných experimentov vyplýva, že výťažnosť PAU z pitnej vody pri použití techniky SPE závisí od typu použitej extrakčnej kolónky, resp. disku (výrobca), zrnitosti sorbentu, typu a objemu elučného činidla a násobnosti použitia SPE kolónky. Vhodným spôsobom izolácie stopových koncentrácií PAU z vody je použitie SPE extrakcie na nepolárnom sorbente. Pri experimentálnych podmienkach uvedených v tejto práci sa spomedzi odskúšaných typov SPE kolóniek najlepšie osvedčila kolónka so sorbentom Bakerbond Octadecyl C18, s hmotnosťou sorbentu 1000 mg, zrnitosťou

40 μm a elučným prostriedkom hexánom v množstve 6 x 1 ml, čím sa dosiahlo až 80-násobné skoncentrovanie PAU z veľkého objemu vody. Výťažnosť benzo(a)pyrénu bola pri aplikácii tohoto sorbentu okolo 70 %, u ostatných PAU sa pohybovala v rozpätí 58 až 126 %. Výťažnosť PAU sa stanovila prostredníctvom HPLC s UV a fluorescenčnou detekciou, mapovanie stopových koncentrácií PAU v pitnej vode pomocou rádovo niekoľkonásobne citlivejšej fluorescenčnej detekcie.

Zoznam skratiek (Abreviation list):

PAU	polycyklické aromatické uhľovodíky	polycyclic aromatic hydrocarbons
SPE	extrakcia na tuhej fáze	solid phase extraction
ϵ^0	eluotropická sila rozpúšťadla	solvent eluotropic strength
PTFE	polytetrafluoroetylén	polytetrafluoroethylene
EPA	Úrad na ochranu životného prostredia	Environmental Protection Agency
FLD	fluorescenčná detekcia/detektor	fluorescence detection/detector
UVD	UV detekcia/detektor	ultraviolet detection/detector
LC	kvapalinová chromatografia	liquid chromatography

Literatúra

1. PHILIPS, Cambridge, Great Britain: Philips Analytical Bulletin, 11, 1989, č. 2, s. 6.
2. STN 75 7111. Kvalita vody. Pitná voda. 1991.
3. SUPELCO, Gland, Switzerland: Supelco chromatography products. Environmental, semi-volatiles by US EPA Method 525. 1994, s. 742.
4. VARIAN, Harbor City, USA: 3 M EMPORE extraction disks. Method summary EPA Method 550.1. Varian aplikačný list 78-6900-3732-6(113.05)R1.
5. ZIEF, M. - KISER, R.: Solid phase extraction for sample preparation manual. Phillipsburg N. J. USA, J. T. Baker Inc. 1988. 57 s.
6. BASHE, W. J. - BAKER, T. V.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection. Supplement I. US EPA, Office of R & D, Washington DC 20460, EPA/600/4-90/020.
7. MACHEREY-NAGEL-DUREN, Germany: Applications for sample preparation based on solid phase extraction. Sample preparation with chromabond and chromafil. 1992, s. 31.
8. LEBO, J. A. et al.: Use of semipermeable membrane devices for in situ monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environments. Chemosphere, 25, 1992, č. 5, s. 697-718.

Do redakcie došlo 7.10.1998.

Use of solid phase extraction (SPE) for isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water

BELAJOVÁ, E.: Bull. potrav. Výsk., 37, 1998, p. 267-280.

SUMMARY. Use of solid phase extraction cartridges for isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from drinking water is discussed. The extraction cartridges of various non-polar sorbent arrangement (column, disk) and various producers (Tessek, Merck, J. T. Baker) were chosen. Effect of the PAHs isolation was evaluated on the basis of their recovery and of the used organic elution solvent (methanol, mixture of methanol and dichloromethane, hexane). It was found that the PAHs recovery was influenced with many analytical parameters of the material used in PAHs isolation, for instance with a sort of the SPE cartridge, sorbent particle size, sorbent weight, sort and volume of the elution agent. The best experimental results were obtained using the nonpolar sorbent C18 of the J. T. Baker firm and hexane as the elution agent. The mean recovery of benzo(a)pyrene was about 70 %. PAHs isolated from drinking water were analysed using HPLC with UV and fluorescence detection.

KEYWORDS: polycyclic aromatic hydrocarbons, benzo(a)pyrene, solid phase extraction, drinking water