

ANALÝZA CHLORFENOLŮ VE VODÁCH MIKROEXTRAKCÍ TUHOU FÁZÍ A PLYNOVOU CHROMATOGRAPHIÍ S HMOTNOSTNĚ SPETROMETRICKOU DETEKCÍ

KRISTÝNA JURSIKOVÁ^a a VÁCLAV JANDA^b

^aÚstav chemických procesů, Akademie věd České republiky, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6, ^bÚstav technologie vody a prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 16628 Praha 6

Došlo dne 4.II. 1999

Klíčová slova: chlorfenoly, mikroextrakce tuhou fází (SPME), GC-MS

Úvod

Chlorfenoly se do životního prostředí dostávají prakticky pouze v důsledku lidské činnosti. Některé z chlorfenolů se buď používaly jako pesticidní prostředky (například pentachlorfenol jako fungicid) nebo vznikají rozkladem některých pesticidů (prekurzorem mohou být v tomto případě herbicidy na bázi chlorfenoxykarboxylových kyselin). Mono-, di- a trichlorfenoly také vznikají při vodárenské chloraci pitné vody s obsahem přirozených vysokomolekulárních organických látek (například látek huminových).

Působení chlorfenolů ve vodě na člověka je dvojího typu: toxické a senzorké. O toxickém působení se uvažuje především u pentachlorfenolu, zvláště pak ve spojitosti s možným výskytem chlordibenzdioxinů a chlordibenzfuranů v technickém pentachlorfenolu. Senzorké působení se týká především níže chlorovaných chlorfenolů. Jejich koncentrace již na úrovni několika jednotek $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ v pitné vodě již dává charakteristický zápach a přichuť.

Hrubou představu o tom, jaké koncentrace chlorfenolů ve vodě je zapotřebí analyzovat, si můžeme učinit podle limitních hodnot určených pro pitnou vodu. Například Světová zdravotnická organizace¹ doporučuje pro pentachlorfenol limitní hodnotu $9\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Dosud platná norma pro kvalitu pitné vody² uvádí limitní hodnotu pro pentachlorfenol $10\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 2,4,5-trichlorfenol $1\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a 2,4,6-trichlorfenol $12\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. V připravované vyhlášce Ministerstva zdravotnictví ČR³ se uvažuje pro limit 2,4,6-trichlorfenolu s koncentrací $10\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a soumou koncentrací chlorfenolů a dichlorfenolů $2\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

„Klasické metody“ pro analýzu chlorfenolů ve vodách vycházejí zpravidla z několikanásobné extrakce těchto látek z okyseleného vzorku vody vhodným organickým rozpouštědlem (např. dichlormethanem), zahuštění extraktu odpařením rozpouštědla a finální analýzy plynovou chromatografií

s detekcí elektronovým záchytem⁴. Tyto metodiky jsou však pracné a zdlouhavé, vyžadují velký objem vzorku vody a manipulaci s poměrně velkými objemy mnohdy toxického rozpouštědla. Navíc se volně chlorfenoly jakožto silně polární látky špatně analyzují plynovou chromatografií.

Princip zde navržené metodiky vychází z toho, že chlorfenoly lze přímo ve vzorku vody převést jednoduchým postupem na acetylchlorfenoly⁵ podle rovnice (7).

Acetylchlorfenoly se z vodného roztoku jakožto méně polární látky izolují snadněji, než mateřské volné fenoly, ať již extrakcí kapalinou⁵ nebo extrakcí sorbentem⁶. Některé práce^{7,8} naznačují, že acetylované chlorfenoly lze z vody úspěšně izolovat i mikroextrakcí tuhou fází (princip této metody a její aplikace na analýzu těžkavých halogenovaných uhlovodíků ve vodách byl publikován i v Chemických listech⁹; teoretické úvahy a široké aplikační možnosti pak v knize Pawliszyna¹⁰). Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction - SPME) je rychlá a experimentálně nenáročná metodika, která nevyžaduje použití vůbec žádných rozpouštědel.

Cílem práce bylo otestovat postup přímá acetylace chlorfenolů ve vodě \rightarrow SPME chlorfenolacetátů z vody \rightarrow analýza GC-MS, jeho detekční limit, linearitu kalibračních grafů a další parametry pro analýzu široké škály chlorfenolů od jednoduchých chlorfenolů, až po chlorované naftoly.

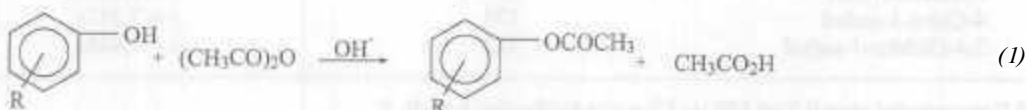
Experimentální část

Použité přístroje

Pro SPME byla použita vlákna, na nichž byl jako sorpční polymer nanesen film polydimethylsiloxanu (PDMS) o tloušťce $100\ \mu\text{m}$ (Supelco, katalogové číslo 5-7300). V některých experimentech bylo používáno i vlákno smočené $75\ \mu\text{m}$ PDMS obsahující Carboxen (grafitizovaný uhlík; Supelco, katalogové číslo 5-7318).

Pro finální GC-MS analýzu byl použit přístrojový tandem firmy Fisons GC 8000/MD 800. Plynově chromatografická separace acetylchlorfenolů byla provedena na kapilární koloně z křemenného skla o délce 30 m, vnitřním průměru $0,32\ \text{mm}$ a tloušťce filmu stacionární fáze $1\ \mu\text{m}$ (SPB-1, Supelco). Teplotní program v termostatu chromatografu byl tento: $35\ ^\circ\text{C}$ po dobu 3 min, pak $10\ ^\circ\text{C}/\text{min}$ do $260\ ^\circ\text{C}$. Nástříkový prostor plynového chromatografu byl vyhřát na teplotu $250\ ^\circ\text{C}$ (odpovídá teplotě desorpce z SPME vlákn). Desorpce z SPME vlákna v nástříkovém prostoru plynového chromatografu byla prováděna po dobu 3 min a po tuto dobu byl také uzavřen vstupní dělič kolony.

Hmotnostní spektrometr pracoval za těchto podmínek: ionizace nárazem elektronů o energii $70\ \text{eV}$, teplota iontového zdroje a interface $250\ ^\circ\text{C}$. V případě, že hmotnostní spektrometr pracoval ve full scan modu, byly sledovány hmotnosti iontů $m/z = 50\text{--}350$ daltonů s frekvencí snímání hmotnostních spekter $2\ \text{scan}\cdot\text{s}^{-1}$. Pracoval-li hmotnostní spektrometr v režimu sledování vybraných iontů (SIM), byly sledovány v pří-



slušných retenčních oknech chromatogramu tři ionty charakteristické pro daný chlorfenolacetát. Hmotnostní spektra chlorfenolacetátů byla publikována¹¹ a většina jich je obsažena i ve standardních knihovnách (např. NIST nebo Wiley). Jsou charakteristická tím, že dominantní pík ve spektru poskytuje vždy ion, jehož m/z odpovídá molární hmotnosti příslušného volného fenolu. Tento ion a ionty odpovídající příspěvku izotopu ³⁷Cl je výhodné použít pro SIM. Nejsou-li přítomny interferující látky, musí být zachován poměr intenzit iontů a ploch píků na chromatogramech těchto iontů podle stupně chlorace daného analytu. Molekulární ion chlorfenolacetátů nepřesahuje 5-10 % intenzity píku nejintenzivnějšího iontu.

Acetylace

Acetylace chlorfenolů ve vodě podle rovnice (1) byla prováděna prověřeným postupem⁶: ke 100 ml vzorku vody (pražská vodovodní voda kontaminovaná definovanou koncentrací chlorfenolů) obsahující vnitřní standard *p*-bromfenol (koncentrace 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) bylo přidáno 5 g NaHCO_3 a po jeho rozpuštění 0,5 ml acetanhydridu. Směs byla protřepávána v dělicí nálevce tak dlouho, dokud unikal oxid uhličitý (max. 5 min).

SPME

Ze 100 ml acetylovaného vzorku byl odpipetován do vzorkovnice s míchadélkem o objemu 5 ml alikvotní podíl 2 ml. Do roztoku bylo zavedeno PDMS SPME vlákno a za intenzivního míchání na magnetické míchačce byla provedena sorpce po dobu 15 min. Během sorpční periody bylo SPME vlákno několikrát zataženo a vytaženo z ochranné jehly, aby se z jeho povrchu odstranily bublinky plynů uvolněné z vody. Tyto bublinky by mohly zabraňovat přístupu vody k povrchu sorbentu a snižovat výtěžek. Možná nepřesnost kvantitativní analýzy způsobená tímto jevem by měla být korigována přidávkou vnitřního standardu, který prochází celým analytickým postupem včetně acetylace.

Po ukončení sorpce bylo SPME vlákno zataženo do ochranné jehly, přemístěno do nástřikového prostoru plynového chromatografu a po tepelné desorpci byla provedena chromatografická analýza chlorfenolacetátů.

Tabulka I

Ionty použité pro SIM, rovnice kalibračních přímk a koeficienty determinace pro testované fenoly

Látka	Ion pro SIM [m/z]	Rovnice kalibrační přímk ^a	r^2
2-Chlorfenol	128	$y = 1,266x$	0,98
4-Chlorfenol	128	$y = 1,360x$	0,99
2,4-Dichlorfenol	162	$y = 2,796x$	0,99
2,6-Dichlorfenol	162	$y = 4,535x$	0,99
2,4,5-Trichlorfenol	196	$y = 1,179x$	0,99
2,4,6-Trichlorfenol	196	$y = 4,778x$	0,99
Pentachlorfenol	264	$y = 0,694x$	0,99
4-Chlor-1-naftol	178	$y = 7,247x$	0,98
2,4-Dichlor-1-naftol	212	$y = 7,446x$	0,96

^a Koncentrační obor 0,5 až 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; počet kalibračních bodů 7

Výsledky a diskuse

K tomu, aby metoda poskytovala použitelné výsledky, je nutné, aby při tepelné desorpci docházelo k úplnému uvolnění analyzovaných látek z SPME vlákna do proudu nosného plynu a dále do chromatografické kolony. Nedokonalá tepelná desorpce by měla za následek „kontaminaci“ následné analýzy nedesorbovaným reziduem z analýzy předchozí. Bylo zjištěno, že PDMS vlákno tímto nedostatkem netrpí a že při opakované desorpci vlákna je chromatografický záznam na úrovni slepého stanovení. Daleko horší výsledky poskytlo vlákno obsahující Carboxen. Při druhé desorpci byly na chromatografickém záznamu opět nalezeny analyzované látky. Průměrně představovaly plochy píků z této druhé desorpce 12 % plochy píků z desorpce první. Carboxenové vlákno je tedy pro analýzu chlorovaných fenolů nepoužitelné a jeho využití lze spatřovat především v oblasti analýzy těkavých nepolárních látek⁹. Z literárních poznatků⁷ vyplývá, že pro sorpci volných chlorovaných fenolů z vody je možné použít polární polyakrylátové vlákno. Podle našeho názoru je však vhodnějším postupem derivatizace → sorpce méně polární látky → GC analýza, než postup sorpce polární látky → GC analýza. Důvody jsou přinejmenším dva: 1) sorpce méně polární látky na nepolární sorbent z tak polárního rozpouštědla jako je voda bude vždy účinnější než sorpce látky polárnější, i když je použit polární sorbent⁷ a 2) fenolacetáty mají příznivější chromatografické vlastnosti než volné chlorfenoly. Navíc je derivatizační postup v tomto případě experimentálně nenáročný a dostatečně rychlý.

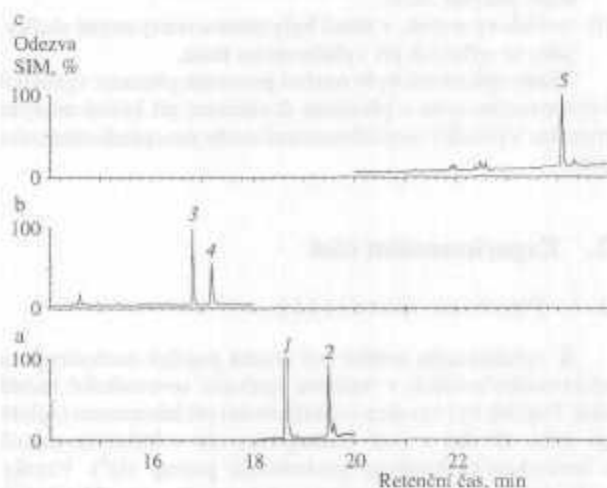
Kalibrační grafy pro koncentraci jednotlivých chlorfenolů ve vodě jsou lineární v celém koncentračním rozsahu, který byl testován, tedy od 0,5 do 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Vyšší koncentrace chlorfenolů ve vodě již nelze běžně očekávat. V tabulce I jsou uvedeny rovnice kalibračních přímk pro testované chlorfenoly, z nichž je patrné, že procházejí počátkem. Korelace dat je provedena v souřadnicích $x = c_1/c_{1S}$, kde c_1 je koncentrace analytu a c_{1S} koncentrace vnitřního standardu (zde konstantně $c_{1S} = 50 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) a $y = A_1/A_{1S}$, kde A_1 a A_{1S} jsou odpovídající plochy píků. Relativní směrodatné odchylky ploch píků jednotlivých chlorfenolů vztažených na plochu píku bromfenolu se na koncentrační úrovni 10 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ pohybovaly zpravidla okolo 10 % (vyhodnocení provedeno z 11 měření).

Detekční limit analýzy pro jednotlivé chlorfenoly, odhad-

Tabulka II
 Detekční limit pro chlorfenoly ve vodě

Látka	Detekční limit [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] ^a
2-Chlorfenol	pod 0,1
4-Chlorfenol	0,1
2,4-Dichlorfenol	0,1
2,6-Dichlorfenol	pod 0,1
2,4,5-Trichlorfenol	0,1
2,4,6-Trichlorfenol	pod 0,1
Pentachlorfenol	0,2
4-Chlor-1-naftol	pod 0,1
2,4-Dichlor-1-naftol	pod 0,1

^a V tabulce jsou uvedeny hodnoty pro MS pracující v SIM modu. Zhruba do koncentrací fenolů $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ lze pracovat ve full-scan modu s možností získání hmotnostních spekter analytů



Obr. 1. Analýza některých chlorovaných fenolů ve vodě. koncentrace jednotlivých fenolů ve vodě $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, GC-MS analýza provedena v režimu SIM, a: SIM $m/z = 196$, pík 1 = 2,4,6-trichlorfenol, 2 = 2,4,5-trichlorfenol, b: SIM $m/z = 162$, pík 3 = 2,6-dichlorfenol, 4 = 2,4-dichlorfenol, c: SIM $m/z = 212$, pík 5 = 2,4-dichlor-1-naftol. Všechny chlorfenoly jako acetáty

nutý na základě desetinásobného poměru signálu a šumu je uveden v tabulce II. Pro dokreslení je na obr. 1 ukázána GC-MS analýza některých chlorfenolů (resp. jejich acetátů) o koncentraci $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Z tabulky II a obr. 1 je patrné, že metoda bohatě splňuje požadavky na hodnotu detekčního limitu, např. budeme-li požadovat, aby detekční limit analýzy byl maximálně 10 % hodnoty uvedené v normě, standardu nebo směrnici.

Závěr

Metoda pro analýzu chlorfenolů ve vodách založená na postupu přímá acetylace chlorfenolů ve vodě → SPME chlor-

fenolacetátů z vody → finální analýza GC-MS je jednoduchá, rychlá a nenáročná. Pro analýzu je zapotřebí malé množství vzorku vody (pro samotnou SPME jen několik ml). Nejsou zapotřebí žádná organická rozpouštědla. Detekční limity na úrovni $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vyhovují požadavkům na citlivost metod používaných pro analýzu nízkých koncentrací těchto organických látek ve vodách. Kalibrační grafy jsou lineární v širokém koncentračním rozsahu 0,5 až $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Jedno PDMS vlákno lze použít bez problémů minimálně pro 100 analýz. Při ceně vlákna 3000 Kč je pak jedna analýza zatížena položkou pouze 30 Kč. Pokud bychom však chtěli udělat preciznější ekonomický rozbor, pak bychom do bilance museli na druhou stranu započítat i náklady na „klasickou“ analýzu, tedy např. cenu organických rozpouštědel, náklady spojené se zahuštěním extraktu, delší pracovní čas připadající na jeden vzorek atd. SPME je tedy konkurenceschopná i z ekonomického hlediska.

LITERATURA

- WHO: *Guidelines for Drinking Water Quality*, 2. vyd., sv. 1. WHO, Ženeva 1993.
- ČSN 757111 Pitná voda.
- Pokorný B.: *Sborník 5. celostátní konference o analýze vod*. Univerzita Pardubice, Pardubice 1998.
- APHA, AWWA, WEF: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19. vyd. APHA, Baltimore 1995.
- Coutts R. T., Hargesheimer E. E., Pasutto F. M.: *J. Chromatogr.* 179, 291 (1979).
- Janda V., van Langenhove H.: *J. Chromatogr.* 472, 327 (1989).
- 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., Pawluszyn J.: *Anal. Chem.* 66, 160 (1994).
- Janda V., Viden I.: *Chem. Listy* 92, 751 (1998).
- Pawluszyn J.: *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. Wiley - VCH, New York 1997.
- Korhonen I. O. O., Knuutinen J.: *J. Chromatogr.* 256, 135 (1983).

K. Jursíková and V. Janda (*Department of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Analysis of Chlorophenols in Water by Solid-Phase Microextraction and GC-MS**

A rapid analytical method for the determination of chlorophenols in water was developed. The method is based on direct acetylation of chlorophenols, solid-phase microextraction of chlorophenyl acetates using poly(dimethylsiloxane)-coated fiber and final analysis of the acetates by GC-MS, 4-bromophenol being used as an internal standard. Calibration curves are linear in the range from 0.5 to $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. The detection limit is about $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ for most of the chlorophenols tested. The method does not require the use of organic sol-