

PRIMENA NOVIH SORBENASA U D- μ -SPE TEHNICI PRIPREME UZORAKA ZA GC – MS ANALIZU PAU U VODI

*Slobodan A. Ćirić¹, Vesna P. Stankov Jovanović¹, Violeta D. Mitić¹,
Marija D. Ilić¹, Snežana Č. Jovanović¹, Gordana S. Stojanović¹*

Izvod: Cilj istraživanja ovog rada je primena novih sorbenasa u disperzivnoj mikroekstrakciji čvrstom fazom (D- μ -SPE) kao tehnikom pripreme uzoraka vode za analizu 16 prioriternih PAU gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom (GC-MS). D- μ -SPE se pokazala kao efikasna i ekonomična tehnika pripreme uzoraka vode pri čemu se troši mala količina rastvarača za ekstrakciju i koristi jeftin pribor za pripremu uzoraka koja traje 7 minuta (uključujući pripreme standardnih rastvora i odmeravanje sorbenasa). Niske vrednosti granice detekcije i kvantifikacije, prihvatljive vrednosti tačnosti i preciznosti predloženu metodu analize 16 prioriternih PAU kvalifikuje za rutinsku analizu vode.

Cljučne reči: GC-MS, D- μ -SPE, sorbens, PAU

Uvod

Policiklični aromatični ugljovodonici (PAU) predstavljaju veliku grupu organskih jedinjenja sa dva ili više kondenzovanih benzenovih prstenova. Obično sadrže samo atome ugljenika i vodonika, ali atomi ugljenika se mogu lako supstituisati u benzenovim prstenovima atomima azota, sumpora ili kiseonika i formirati heterociklična aromatična jedinjenja (ASTDR, 1995). PAU se mogu podeliti na lake (sadrže do 4 prstena) i teške (sadrže više od 4 prstenova). Zajedničko za sve PAU je toksičnost i dugačak period degradacije u životnoj sredini, te se mogu svrstati u perzistentne organske zagađujuće supstance (WHO, 1998).

Glavni izvor PAU u životnoj sredini je nepotpuno sagorevanje organske materije. Kao posledica urbanizacije i industrijalizacije zastupljenost ovih jedinjenja u svim segmentima životne sredine je u neprekidnom porastu. Imajući u vidu rizik po zdravlje zbog izloženosti PAU, potrebno je pratiti njihove količine u životnoj sredini

Postupci pripreme uzoraka za analizu PAU predstavljaju najvažniji korak u analizi. Pri analizi PAU u vodi, primenjuju se različite ekstrakcione tehnike: ekstrakcija tečno – tečno (LLE), ekstrakcija čvrstom fazom (SPE) i mikroekstrakcione tehnike kao što su disperzivna tečno - tečno mikroekstrakcija (DLLME) i mikroekstrakcija čvrstom fazom (SPME) (Mahgoub, 2016). Nakon pripreme uzoraka, PAU se najčešće kvantifikuju gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom (GC-MS), superkritičnom fluidnom hromatografijom (SFC), tečnom hromatografijom visokih performansi (HPLC) i kapilarnom elektroforezom (CE) (Gowin, 2006)

Cilj istraživanja ovog rada je primena novih sorbenasa u disperzivnoj mikroekstrakciji čvrstom fazom (dispersive micro solid phase extraction, D- μ -SPE). D-

¹Univerzitet u Nišu, Prirodno – matematički fakultet, Višegradska 33, Niš, Srbija.
(slobodanciric@yahoo.com)

μ -SPE je tehnika slična disperzivnoj ekstrakciji čvrstom fazom (dSPE). Kod dSPE se analiti najpre ekstrahuju pogodnim rastvaračem nekom od konvencionalnih tehnika ekstrakcije pa se zatim ekstrakti podvrgavaju procesu prečišćavanja dSPE tehnikom koja se bazira na upotrebi sorbenasa koji ciljano reaguju sa interferencama dok analit ostaje u rastvoru. Metodologija D- μ -SPE bazira se na upotrebi odgovarajućih sorbenasa koji ciljano vezuju analite, koji se kasnije desorbuju sa sorbensa odgovarajućim rastvaračem, ili smešom rastvarača (Gálan – Cano i sar., 2011). Disperzija sorbensa dovodi do povećanja aktivne površine sorbensa njegovim dispergovanjem u zapremini analiziranog uzorka. Analiti koji su se vezali za sorbens se mogu analizirati direktno sa površine nekom spektroskopskom tehnikom (Acludia – Leoni sar., 2009), ili se mogu desorbovati sa sorbensa odgovarajućim rastvaračem i kasnije analizirati odgovarajućom analitičkom metodom (Tsai i sar., 2009).

Kod D- μ -SPE najčešće upotrebljavani sorbensi su tzv. mikro i nano sorbensi dok su u upotrebi polimeri na bazi silika - gela i organskih polimera. Ovaj rad je prvi u kome se primenjuje hemijski - termički modifikovan klinoptilolit kao sorbens u D- μ -SPE tehnici pripreme uzoraka vode za analizu PAU gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom.

Materijal i metode rada

U ovom radu korišćeni su heksan i acetonitril (HPLC čistoće), Sigma Aldrich, PAU miksa u acetonitrilu ukupne koncentracije $16 \mu\text{g ml}^{-1}$, unutrašnji standardi (perilen d_{12} , fenantren d_{10} i acenaften d_{10}), i surogat standardi (2-hlorfenol-3,4,5,6-d₄, 2,4,6-tribromofenol, 2-fluorobifenol), Supelco, Bellefonte, Pennsylvania.

Svi standardni i radni rastvori čuvaju se na $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ u bočicama od tamnog stakla sa teflonskim zatvaračima. Rastvor miksa unutrašnjih standarda pripremljen je u dihlormetanu u koncentraciji $30 \mu\text{g ml}^{-1}$. Rastvor surogat standarda pripremljen je u acetonitrilu u koncentraciji $30 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Serijski standardni rastvori pripremljeni su razblaživanjem od 0 – 200 (0, 1,875, 3,75, 18,75, 37,5, 75, 112,5, 150 i 187,5 μl) PAU miksa koncentracije $16 \mu\text{g ml}^{-1}$ i razblaživanje do 200 μl heksanom. Svaki standardni rastvor sadrži i po 100 μl unutrašnjeg i 100 μl surogat standarda. Svi eksperimenti su urađeni u tri ponavljanja.

Model uzorci vode spajkovani su u tri koncentracije, gde je ukupna koncentracija PAU bila 0,5, 1,5 i $3 \mu\text{g L}^{-1}$. Slepe probe pripremljene su na isti način ali bez dodavanja PAU miksa.

Sorbens je pripremljen tako što se zeolitni materijal (veliĉine ĉestica 0.063–0.1 mm) koji sadrži preko 90 % klinoptilolita, najpre ispere dejonizovanom vodom da bi se uklonile neĉistoće koje se rastvaraju u vodi, zatim se suši na temperaturi od $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$, potom se 5 g klinoptilolita tretira sa 500 mL $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ hlorovodoniĉnom kiselinom u vremenu od 30 minuta uz konstantno mešanje na sobnoj temperaturi. Nakon ĉega se sorbens cedi i ispira do negativne reakcije na hloride. Nakon ispiranja, sorbens se termiĉki tretira 3 h na temperaturama 120 (M1), 300 (M2), 400 (M3), 500 (M4), 600 (M5), i $700 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (M6).

Kao tehnika pripreme uzoraka u ovom radu primenjena je D- μ -SPE gde se kao ekstraktant koristio heksan a kao disperzer acetonitril / voda (1:4 v/v). Postupak se

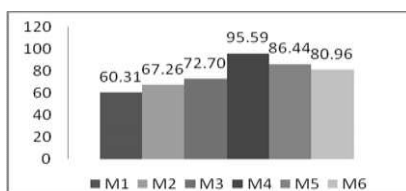
sastojao u odmeravanju 400 µl spajkovane vode (koja sadrži PAU u 3 koncentracije 0,5, 1,5 i 3 µg l⁻¹, i surogat standardni miks u koncentraciji od 0,75 µg l⁻¹) i prebacuje u mikroeprovete koje sadrže testirane sorbense (460 mg). Nakon mućkanja (1 min) i centrifugiranja na centrifugi sa 6000 RPM (5 min), uklanja se voda i dodaje se 500 µl ekstraktanta i 100 µl disperzera. Nakon mućkanja (5 min) i centrifugiranja na 6000 RPM (15 min) ekstrakti (400 µL) se prebacuju u GC vijale, dodaje se 200 µl unutrašnjeg standardnog miksa za kvantifikaciju. Ekstrakti pripremljeni na ovakav način analiziraju se gasnohromatografskom metodom sa masenom spektrometrijom na aparatu Triple Quadrupole GC/MS system – Agilent 7000 Series

Rezultati istraživanja i diskusija

Postupak pripreme uzoraka predstavlja najteži, ujedno i najbitniji postupak pri analizi. Od efikasnosti načina pripreme uzoraka zavise dobijeni rezultati. U cilju validacije novog pristupa za analizu PAU u vodi, testirane su hemijsko-termičke modifikacije klinoptilolita D-µ-SPE tehnikom praćene GC - MS analizom, pri čemu su utvrđeni tačnost, preciznost, granica detekcije i granica kvantifikacije metode.

Na osnovu jednačine prave, izračunate su koncentracije svakog PAU u model uzorcima vode, a na osnovu izračunatih koncentracija i vrednosti eksperimentalnih koncentracija određena je tačnost metode izražena kao efikasnost u procentima (grafik 1 i grafik 2).

Grafički prikazana srednja vrednost efikasnosti (ekstrakcioni prinos ili “recovery” vrednost) za testirane sorbense, pokazuje da se sa povećavanjem temperature žarenja povećava vrednost efikasnosti, i za hemijski modifikovan klinoptilolit koji je žaren na 500 °C vrednost efikasnosti je nabolja, nakon čega se sa daljim povećavanjem temperature vrednost efikasnosti smanjuje.

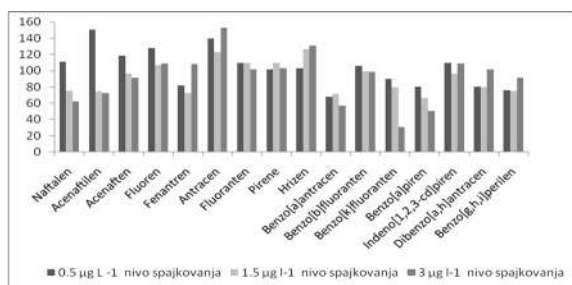


Grafik 1. Srednja vrednost tačnosti metode (efikasnost u %) primenom testiranih sorbenasa (M1-M6)

Graphic 1. Mean value of accuracy of the method (recovery %) for tested sorbents (M1-M6)

Na grafiku 2 je prikazana efikasnost određivanja svakog od 16 prioriternih PAU primenom hemijski (0.01 mol l⁻¹ hlorovodoničnom kiselinom) i termički (na temperaturi od 500 °C) tretiranog klinoptilolita koji je korišćen u D-µ-SPE tehnici pripreme uzoraka vode za GC - MS analizu. Prihvatljive vrednosti efikasnosti su od 50 – 120 %. Svih 16 prioriternih PAU za sva tri nivoa spajkovanja nalaze se u opsegu prihvatljivih vrednosti,

osim acenaftilena koji za nivo spajkovanja od $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ima vrednost efikasnosti 158,70 % i fluorena koji za nivo spajkovanja od $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ima vrednost efikasnosti 128,17 %.



Grafik 2. Tačnost metode (efikasnost, %) za modifikaciju M4

Graphic 2. Accuracy of the method expressed as a recovery (%) for M4 sorbent modification

Preciznost metode određena je analizom jednog uzorka istog dana jednim instrumentom pod istim uslovima (Stankov - Jovanovic i sar., 2017) i izražena je kao relativna standardna devijacija (%). Relativna standardna devijacija je u opsegu od 0,901 % za naftalen do 6,209 % za acenaftilen što predloženu metodu odlikuje dobrom preciznošću. Najniža koncentracija analita koja se može detektovati u uzorku, ali ne i kvantitativno odrediti, naziva se granicom detekcije (LOD). Vrednosti granice detekcije predložene metode analize je u opsegu od $0,019 \mu\text{g l}^{-1}$ za naftalen do $0,769 \mu\text{g l}^{-1}$ za krizen. Granica kvantifikacije se naziva i limitom kvantifikacije (LOQ) i definiše se kao najmanja količina analita u uzorku koja se može kvantitativno odrediti sa prihvatljivom preciznošću i tačnošću. Vrednosti granice kvantifikacije variraju od $0,058 \mu\text{g l}^{-1}$ za naftalen do $3,822 \mu\text{g l}^{-1}$ za benzo[k]fluoranten.

Tabela 2. Analitički parametri predložene metode: retenciono vreme, t; masa praćenog jona, linearnost (jednačina prave), granica detekcije (LOD), granica kvantifikacije (LOQ), preciznost (RSD)

Table 2. Analytical parameters of the proposed method: retention time, t, mass of the monitored ion, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision (RSD)

	t (min)	m/z	Jednačina prave	Korelacioni koeficijent	LOD $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD (%)
Naftalen	11.23	128	$y=12.28*x$	0,982	0.019	0.058	0.901
Acenaftilen	16.99	152	$y=7.21*x$	0,980	0.291	0.883	6.209
Acenaftien	17.7	152	$y=8.88*x$	0,989	0.105	0.319	3.449
Fluoren	19.63	165	$y=7.32*x$	0,984	0.191	0.580	4.821
Fenantren	23.21	178	$y=4.49*x$	0,999	0.208	0.629	4.714
Antracen	23.23	178	$y=2.55*x$	0,980	0.548	1.661	4.933

Fluoranten	27.77	202	$y=1.19*x$	0,993	0.782	2.371	3.722
Piren	28.57	202	$y=2.06*x$	0,993	0.227	0.688	1.992
Krizen	33.24	228	$y=0.91*x$	0,998	0.769	2.331	2.967
Benzo[a]antracen	33.38	228	$y=2.13*x$	0,987	0.328	0.995	4.285
Benzo[b]fluoranten	37.14	252	$y=1.43*x$	0,984	0.164	0.496	0.949
Benzo[k]fluoranten	37.22	252	$y=0.74*x$	0,981	1.261	3.822	4.562
Benzo[a]piren	38.16	252	$y=5.95*x$	0,986	0.157	0.475	4.794
Indeno[1,2,3-cd]piren	41.65	276	$y=1.04*x$	0,999	0.672	2.036	2.773
Dibenzo[a,h]antracen	41.77	278	$y=1.28*x$	0,990	0.727	2.203	4.794
Benzo[g,h,i]perilen	42.46	276	$y=1.83*x$	0,999	0.383	1.160	3.822

Zaključak

Povećavanje zagađivanja životne sredine policikličnim aromatičnim ugljovodonicima, njihovo zadržavanje i transformacija u životnoj sredini kao potencijalni rizik po zdravlje živih bića dovodi do traganja za novim načinima analize policikličnih aromatičnih ugljovodonika. Novi pristupi analize trebalo bi da prevazilaze nedostatke koje imaju konvencionalni pristupi, a koji se tiču ekonomičnosti i vremena trajanja analize. Ovaj rad predstavlja inovativnu primenu hemijsko-termički modifikovanog klinoptilolita u disperzivnoj mikroekstrakciji čvrstom fazom pri analizi 16 prioriternih policikličnih aromatičnih ugljovodonika gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom. Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom pokazala se kao efikasna tehnika pripreme uzoraka vode pri čemu se troši mala količina smeše rastvarača za ekstrakciju. Ovu tehniku pripreme uzoraka karakteriše ekonomičnost i u smislu upotrebe jeftinog pribora za proces pripreme uzoraka koja traje 7 minuta. Predložena analitička metoda se zbog svojih analitičkih karakteristika (niske vrednosti granice detekcije i granice kvantifikacije, prihvatljivih vrednosti tačnosti i preciznosti) kao i zbog smanjenih troškova i vremena analize može primenjivati u rutinskoj analizi vode.

Napomena

Ovo istraživanje sprovedeno je u okviru projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (evidencioni brojevi projekata: 172047, 172051).

Literatura

- Audrey E. McGowin. (2006). Chromatographic Analysis of the Environment, ed. Leo Nollet. (3rd edn) 555-616. FL. CRC Press, Boca Raton.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1995). Polycyclic aromatic hydrocarbons. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA. <http://www.atdsr.cdc.gov/toxpro.les/phs69>

- Hiba Abdalla Mahgoub. (2016). Extraction Techniques for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. Volumen (1): 268-272. doi:10.21275/v5i1.nov152648
- Galán-Cano, Francisco, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas, and Miguel Valcárcel. (2011). Direct coupling of dispersive micro-solid phase extraction and thermal desorption for sensitive gas chromatographic analysis. *Analytical Methods*. Volumen (4) 991-995. doi:10.1039/c1ay05033h
- WHO / IPCS (World Health Organization - International Programme on Chemical Safety). *Environmental Health Criteria 202*, 1998. Selected non – heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbon. Geneva. www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm
- M. C. Alcudia-Leon., R. Lucena., S. Cardenas and M. Valc arcel. (2009). *Analytical Chemistry*. Volumen (81): 1184–1190.
- W. H. Tsai., T. C. Huang., J. J. Huang., Y. H. Hsue and H. Y. Chuang.(2009) *Journal of Chromatography*. Volumen (1216): 2263–2269.
- V. Stankov Jovanović., V. Mitić., S. Ćirić., M. Ilić., J. Nikolic., M. Dimitrijević i G. Stojanović. (2017). Optimized Ultrasonic Extraction for the Determination of Polyaromatic Hydrocarbons by Gas Chromatography - Mass Spectrometry, *Analytical Letters*. Volumen (50:15): 2491-2504. DOI: 10.1080/00032719.2017.1293677

APPLICATION OF NOVEL SORBENTS IN D- μ -SPE SAMPLE PREPARATION FOR GC-MS ANALYSIS OF PAHS IN WATER

Slobodan A. Ćirić¹, Vesna P. Stankov Jovanović¹, Violeta D. Mitić¹, Marija D. Ilić¹, Snežana Č. Jovanović¹, Gordana S. Stojanov

Abstract: The aim of this paper is application of novel sorbents in dispersive micro solid phase extraction (D- μ -SPE) as a technique for sample preparation of water, for the analysis of 16 PAHs by gass chromatography - mass spectrometry (GC-MS). D- μ -SPE proved to be an effective technique consuming a small amount of the solvent for the analysis. D- μ -SPE is characterized by its rapidity (7 minutes per sample including all preparation of standard solutions and measuring of sorbents) and cheapness as well. Low values of the detection limit and limit of quantification, acceptable accuracy and precision values propose this method for routine water analysis for the determination of PAHs.

Keywords: GC-MS, D- μ -SPE, sorbents, PAHs

¹University of Nis, Faculty of Science and mathematics, Visegradska 33, Nis, Serbia (slobodanciric@yahoo.com)