

Występowanie i oznaczanie wybranych grup mikrozanieczyszczeń regulowanych dyrektywą 2000/60/WE w środowisku wodnym

Marek Król^{1,2}, Mariusz Dudziak²

¹ Przedsiębiorstwo Usług Technicznych DEMPOL-ECO, ul. Składowa 9, 45-125 Opole

² Politechnika Śląska w Gliwicach, Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice

* Autor do korespondencji: mariusz.dudziak@polsl.pl

STRESZCZENIE

Przeprowadzono studium literaturowe określające stan wiedzy w zakresie występowania oraz metod oznaczania wybranych grup mikrozanieczyszczeń, znacząco różniących się od siebie regulowanych dyrektywą 2000/60/WE w środowisku wodnym. Do opracowania wybrano: 4-tert-oktylofenol, ftalan bis(2-etyloheksylu), heptachlor, epoksyd heptachloru i antracen. Opisano metody ekstrakcji, rozdzielu chromatograficznego oraz detekcji poszczególnych związków. Procedury oznaczenia porównano pod kątem czułości analitycznej stosując jako parametry charakteryzujące instrumentalną granicę detekcji i oznaczalności. Dla każdego związku wybrano metodę oznaczania o największej czułości. Ponadto zestawiono wartości stężeń omawianych mikrozanieczyszczeń w wodnych próbkach środowiskowych oraz wskazano możliwe źródła ich pochodzenia.

Słowa kluczowe: mikrozanieczyszczenia, metody oznaczania, występowanie w środowisku wodnym, zakresy stężeń

Occurrence and determination of selected micropollutants in water environment regulated by directive 2000/60/WE

ABSTRACT

Residents of even small cities are struggling with air pollution. Municipalities and cities undertake various activities and allocate significant resources to counteract the problem related to air and soil pollution, which is growing continuously. The specialists in the field of ecology have stated that an ideal solution would be to increase the amount of plants in the neighbourhood of residents. Such actions have been undertaken for many years, but clear positive effects have not been observed yet. In these urban areas, the declining conditions of mature plants can be observed, and the longevity of newly planted trees is becoming shorter due to the poor growth conditions. In order to improve the current situation, it has become necessary to develop package/s of solutions allowing for new plantings in cities and rural areas, as well as supporting plants which already exist. The latest scientific trends have showed that one of the most important and promising elements of these solutions could be the use of a structural substrates (a rock and soil mixture prepared according to a special recipe) that can be used as an alternative growth medium for trees instead of the standard up-to-date used soils. In our research, the experimental plot was designed using this type of substrate. The carried out capacity tests showed that the structural substrate has a definite advantage over the substrates presently used in urban areas. The use of structural substrates also enhanced the physiological conditions of the tested trees. Our results allowed us to confirm that structural substrates can be successfully used in the urban and rural areas, which would significantly improve the environmental conditions.

Keywords: micropollutants, determination methods, occurrence in water environment, concentration levels

WSTĘP

Otrzymywanie wody przeznaczonej do picia o odpowiedniej jakości staje się coraz trudniejsze. Współczesne procesy uzdatniania

wody stosowane w celu eliminacji substancji wielkocząsteczkowych takich jak np. kwasy humusowe nie są już wystarczające. Obecnie jakość wody jest odpowiednia dopiero w przypadku pełnej eliminacji lub znacznego obniżenia

stężenia wszystkich szkodliwych związków organicznych, w tym małowcząsteczkowych mikrozanieczyszczeń. Rozwój badań naukowych dotyczących aktywności biologicznej substancji ciągle rozszerza grupę związków charakteryzujących się toksycznością, trwałością oraz zdolnością do bioakumulacji w środowisku [Smuda i Dudziak 2016]. W celu utrzymania odpowiedniej jakości wód powierzchniowych, będących głównym źródłem wody do picia wprowadzono odpowiednie dyrektywy ukierunkowujące politykę gospodarki wodnej na konkretne grupy mikrozanieczyszczeń. Ramowa Dyrektywa Wodna (RDW) [Dyrektywa 2000] jako pierwsza określa na jakie związki należy zwrócić szczególną uwagę w środowisku wodnym. RDW zdefiniowała pierwotnie 33 różne zanieczyszczenia. Wraz z rozszerzeniem listy związków obecnie wymienia się już 45 różnych zanieczyszczeń [Smuda i Dudziak 2016]. Zanieczyszczenia wymienione w załączniku do Dyrektywy można podzielić na różne grupy ze względu na ich pochodzenie, strukturę oraz właściwości fizykochemiczne i wykorzystanie przez człowieka. Wśród tych grup zanieczyszczeń znalazły się m.in.: plastyfikatory, pestycydy i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA).

Celem pracy jest analiza obecnego stanu wiedzy na temat występowania oraz metod oznaczania wybranych grup mikrozanieczyszczeń regulowanych Ramową Dyrektywą Wodną.

WYSTĘPOWANIE MIKROZANIECZYSZCZEŃ W ŚRODOWISKU WODNYM

Do analizy literaturowej wybrano następujące mikrozanieczyszczenia: 4-tert-oktylofenol (4-OP) substrat syntezy związków organicznych), ftalan bis(2-etyloheksylu) (plastyfikator), heptachlor i epoksyd heptachloru (pestycydy) oraz antracen (WWA). Omawiane w pracy związki charakteryzują się dużą różnorodnością stężeń w środowisku wodnym. W tabeli 1 przedstawiono najważniejsze wyniki badań analiz stężeń mikrozanieczyszczeń w ściekach oczyszczonych, wodach powierzchniowych i morskich oraz wodach przeznaczonych do spożycia.

W środowisku wodnym 4-tert-oktylofenol występuje najczęściej w ściekach oczyszczonych, a tym samym trafia do wód powierzchniowych [Kuch i Ballschmiter 2001; Salgueiro-González i in. 2015; Bina i in. 2017]. Najmniejsze stężenia

4-OP obserwuje się w wodach powierzchniowych i do picia [Kuch i Ballschmiter 2001], a największe w surowych ściekach bytowych [Bina i in. 2017].

Ftalan bis(2-etyloheksylu) (DEHP) jest jednym z głównych i najważniejszych plastyfikatorów wykorzystywanych przy produkcji tworzyw sztucznych [Cháfer-Pericás i in. 2008]. W środowisku wodnym ftalan ten występuje w bardzo szerokim zakresie stężeń od $0,04 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Leivadara i in. 2008] do nawet $1268 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Deng i in. 2005]. Ze względu na pochodzenie, w środowisku jest wszechobecny i występuje w różnych strumieniach wodnych. Największe stężenia występują w miejscach o dużej kumulacji tworzyw sztucznych takich jak składowiska odpadów, gdzie może przenikać do wód naturalnych osiągając poziom $1268 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Deng i in. 2005].

Heptachlor i epoksyd heptachloru zaliczają się do grupy trwałych zanieczyszczeń organicznych. Od lat 50-tych heptachlor był stosowany jako insektycyd do zwalczania termitów oraz innych insektów gruntowych [McManus i in. 2013]. Obecnie w wyniku przyjęcia Konwencji Sztokholmskiej zaprzestano jego produkcji oraz wprowadzono zakaz jego stosowania [Cortada i in. 2009b]. Stosowany przez lata pestycyd pozostaje jednak w środowisku w postaci heptachloru oraz epoksydu heptachloru, który jest głównym produktem jego degradacji. Chloroorganiczne pestycydy występują w środowisku stosunkowo rzadko. Przeprowadzone badania zawartości heptachloru i epoksydu heptachloru najczęściej wskazywały na wartość ich stężeń poniżej granicy detekcji metody [Zhang i Lee 2012; Yazdanfar i in. 2014; Cortada i in. 2009b].

Źródła WWA mogą być zarówno naturalne jak i pochodzenia antropogenicznego. W środowisku WWA są wszechobecne ze względu na sposób powstawania, a ich największa emisja towarzyszy pożarom lasów i erupcji wulkanów. Do środowiska wodnego WWA trafiają w wyniku depozycji suchej lub mokrej skąd dalej mogą przedostawać się do pożywienia lub wody do picia [Dat i Chang 2017]. Antracen w ściekach oczyszczonych i wodach powierzchniowych występował w zakresie stężeń od $0,01 \text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Li i in. 2012] do $115 \text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Rianawati i Balasubramanian 2009]. Najwyższym stężeniem antracenu charakteryzowały się próbki wody deszczowej i wody burzowej pobranej z wysoko zurbanizowanej strefy Singapuru w okolicy autostrady oraz zakładów petrochemicznych, gdzie zakresy

Tabela 1. Stężenia mikrozanieczyszczeń (w $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$) w różnych środowiskowych próbkach wodnych
Table 1. Concentrations of micropollutants (in $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$) in different water environmental samples

Związek	Ścieki oczyszczone	Woda powierzchniowa	Woda morską	Woda do picia	Źródło literaturowe
4-tert-oktylofenol	0,022	0,0073	-	0,002	[Kuch i Ballschmiter 2001]
	0,23	0,26	-	-	[Lien i in. 2009]
	<0,024	<0,024	<0,024	<0,024	[Cai i in. 2003]
	-	0,052; <0,008 ¹⁾	-	-	[Salgueiro-González i in. 2015]
	0,006-0,055	<0,0085	-	-	[Liu i in. 2004]
	0,00535-0,054	-	-	-	[Bina i in. 2017]
Ftalan bis(2-etyloheksylu)	<0,3	<0,3	1	1	[Baram i in. 2000]
	-	-	14-28	-	[Cháfer-Pericás i in. 2008]
	-	-	-	9; 22 ²⁾	[Kayali i in. 2006]
	-	>3 ³⁾	-	-	[Jara i in. 2000]
	<3,8	-	-	-	[Wang i in. 2007]
	0,859-6,17 ⁵⁾	<0,103	-	<0,103	[Polo i in. 2005]
	-	-	-	0,052-0,338	[Cao 2008]
	-	-	-	5,8	[Meng i in. 2011]
	-	-	-	280-500	[Prapatpong i Kanchanamayoon 2010]
	-	-	-	0,04-6,8	[Leivadara i in. 2008]
570-1268 ⁴⁾	-	-	338-447	[Deng i in. 2005]	
Heptachlor	-	<0,01	-	<0,01	[Cortada i in. 2009a]
	-	-	-	<0,008	[Yazdanfar i in. 2014]
	<0,049	-	-	-	[Cortada i in. 2009b]
	-	-	0,205-0,394	-	[McManus i in. 2013]
Epoksyd heptachloru	-	-	-	<0,005	[Yazdanfar i in. 2014]
	<0,054	-	-	-	[Cortada i in. 2009b]
	-	0,033-0,046	-	-	[McManus i in. 2013]
Antracen	-	-	0,0001	-	[Li i in. 2012]
	<0,029	<0,029	<0,029	-	[Ramirez i in. 2014]
	-	<0,02-0,085 ⁶⁾	-	-	[King i in. 2004]
	-	0,004-0,115 ⁷⁾	-	-	[Rianawati i Balasubramanian 2009]
	-	0,003-0,095 ⁸⁾	-	-	

¹⁾ 0,052 było oznaczane w maju, natomiast <0,008 w listopadzie. ²⁾ 9 - woda trzymana w worku z tworzywa sztucznego; 22 - woda ze stacji do demineralizacji wody Milli-Q. ³⁾ Autorzy podają >80 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w wodzie z jeziora zanieczyszczonego wyciekami DEHP, jednakże wynika wykracza poza zakres metody 0,1-3,0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. ⁴⁾ Odcieki ze składowiska odpadów. ⁵⁾ Ścieki komunalne. ⁶⁾ Woda porowa osadu z ujścia rzeki Mersey. ⁷⁾ Woda deszczowa. ⁸⁾ Woda burzowa.

stężeń tego związku wynosiły odpowiednio od 4 do 115 $\text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$ oraz od 3 do 95 $\text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$ [Rianawati i Balasubramanian 2009]. Najmniejszym stężeniem antracenu charakteryzowała się woda morską tj. 0,1 $\text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$.

PROCEDURY OZNACZANIA MIKROZANIECZYSZCZEŃ

W tabeli 2 przedstawiono najważniejsze metody oznaczania analizowanych w ra-

mach pracy mikrozanieczyszczeń. Wyodrębnienie i oznaczenie poszukiwanego związku wymaga podjęcia trzech głównych kroków. Pierwszym krokiem jest ekstrakcja i zatężenie analitu. Często po tym etapie stosuje się jeszcze derywatyzację związku, aby umożliwić jego lepszy rozdział i detekcję chromatograficzną. Drugim krokiem jest dobór metody rozdziału próbki, najczęściej oparty na rozdziale chromatograficznym. Ostatnim krokiem jest dobór metody detekcji oznaczanego mikrozanieczyszczenia.

Oznaczenie 4-tert-oktylofenolu

Jedną z najczęściej używanych i powszechnych technik ekstrakcji 4-tert-oktylofenolu jest ekstrakcja do fazy stałej (SPE) realizowana z wykorzystaniem jednorazowych kolumniek. Autorzy pracy [Kuch i Ballschmiter 2001] w kolumnkach SPE zastosowali kopolimerową fazę stałą przystosowaną do adsorpcji związków polarnych w celu oznaczenia związku na poziomie pikogramowym. Z kolei derywatywacja 4-OP za pomocą chlorku pentafluorobenzoilu (PFBCl) pozwoliła na wprowadzenie do cząsteczki dużej ilości elektroujemnych atomów fluoru i po rozdzielaniu na chromatografii gazowej (GC) umożliwiła wykorzystanie do detekcji analitu spektrometru masowego (MS) pracującego w trybie monitorowania wybranych jonów (SIM) z ujemną chemiczną jonizacją (NCI). Wprowadzenie tych atomów pozwoliło także na zastosowanie detekcji na detektorze wychwytu elektronów (ECD). Jednakże detektor ECD nie jest selektywny tak więc inne związki współwystępujące w próbce środowiskowej powodują nakładanie się sygnałów szumu z sygnałami pochodzącymi od analitu. W pracy [Lien i in. 2009] do ekstrakcji SPE 4-OP z powodzeniem wykorzystano dyski z wypełnieniem C_{18} . Derywatywację analitu przeprowadzono za pomocą chlorku dansylu oraz zastosowano rozdział na ultrasprawnym chromatografii cieczowym (UPLC) sprzężonym z tandemowym detektorem MS^2 pracującym w trybie monitorowania wybranych reakcji (SRM) z jonizacją elektrorozpylania (ESI). Ekstrakcja SPE polarnych związków na złożu z C_{18} może nie zapewnić zadowalającego odzysku, co można poprawić stosując jako wypełnienie kolumniek wielościennie nanorurki węglowe (MWNT) [Cai i in. 2003]. W pracy [Salgueiro-González i in. 2015] do oznaczenia 4-OP zastosowano mało znaną metodę dyspersyjnej mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz (DLLME) polegającą na wytrząsaniu niewielkiej objętości próbki środowiskowej ze 100 μ l oktanolu. Po odwirowaniu próbki, faza organiczna była poddawana dalszej analizie w układzie HPLC-MS/MS z jonizacją APCI w trybie monitorowania wielu reakcji (MRM).

Autorzy prac [Liu i in. 2004; Bina i in. 2017] pomimo stosowania różnych metod ekstrakcji tj. odpowiednio SPE i DLLME zalecają derywatywację 4-OP za pomocą N,O-bis(trimetylosililo)-trifluoroacetamidu (BSTFA) jako etap niezbęd-

ny do poprawy lotności i stabilności termicznej analitu oraz zwiększenia czułości metody przy stosowaniu układu GC-MS.

Oznaczenie ftalanu bis(2-etyloheksylu)

Do oznaczania ftalanu bis(2-etyloheksylu) stosuje się wiele metod ekstrakcji oraz detekcji. Wśród metod ekstrakcji dominuje mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME). W dużej mierze wynika to z faktu, że ftalany są związkami powszechnie obecnymi w środowisku [Baram i in. 2000]. Wykorzystanie SPME pozwala na eliminację lub obniżenie zjawiska oddziaływania tła wynikającego z migracji DEHP z materiałów używanych przy przygotowaniu próbki [Cháfer-Pericás i in. 2008] takich jak standardowe kolumniki do SPE. Ekstrakcję SPME standardowo prowadzi się wprowadzając włókno pokryte materiałem sorpcyjnym do analizowanej próbki, a następnie po zaadsorbowaniu analitu desorbuje się go termicznie lub odpowiednim eluentem. Proces ekstrakcji można zautomatyzować, zastępując włókna do SPME kolumną kapilarną zainstalowaną bezpośrednio w aparacie do HPLC [Cháfer-Pericás i in. 2008]. Zastosowanie SPME i HPLC może być lepszym wyborem, niż SPME i GC ze względu na możliwość desorpcji termicznej DEHP z elementów urządzenia do SPME w przypadku GC [Kayali i in. 2006]. Klasyczna ekstrakcja SPE przy doborze odpowiedniej fazy stałej jest także możliwa do zastosowania w tym obszarze, ale jak to wykazano w pracy [Jara i in. 2000] zadowalające wartości odzysku można uzyskać tylko przy bardzo ograniczonym zakresie stężeń. Wraz z HPLC może być także stosowana ekstrakcja micelarna (CPE) prowadzona z wykorzystaniem niejonowego surfaktantu, gdzie dodatek jego niewielkiej ilości do próbki powoduje zamknięcie cząsteczek analitu w fazie micelarnej, którą po odwirowaniu nastrzykują się bezpośrednio na kolumnę [Wang i in. 2007]. W przypadku, gdy nie można dodać do próbki surfaktantu, jednym z rozwiązań może być przeprowadzenie zatężania DEHP bezpośrednio na kolumnie chromatograficznej [Baram i in. 2000]. Do oznaczania DEHP z rozdziałem na GC można zastosować różne warianty SPME. Wielokryterialna optymalizacja warunków prowadzenia mikroekstrakcji ftalanów, uwzględniająca dobór rodzaju włókna, temperatury, czasu oraz typu mikroekstrakcji wskazuje, że najbardziej optymalnymi warunkami jest mikroekstrakcja z fazy nadpowierzchniowej

Tabela 2. Metody oznaczania wybranych mikrozanieczyszczeń**Table 2.** Methods of analysis of selected micropollutants

Związek	Metoda oznaczania	LOD [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]	LOQ [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]	Średnia roczna [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$]	Źródło literaturowe
4-tert-oktylofenol	SPE-GC-($\text{CH}_4\text{-NCl}$)-MS(SIM)	0,00005	-	0,1	[Kuch i Ballschmiter 2001]
	SPE-UPLC-(ESI)-MS ² (SRM)	- ¹⁾	- ¹⁾		[Lien i in. 2009]
	SPE(MNWT)-HPLC-FLD	0,024	-		[Cai i in. 2003]
	DLLME-HPLC-(APCI)-MS ² (MRM)	-	0,008 ²⁾		[Salgueiro-González i in. 2015]
	SPE-GC-(EI)-MS(SIM)	0,0026	0,0085		[Liu i in. 2004]
	DLLME-GC-MS(SIM)	0,000282	0,000974		[Bina i in. 2017]
Ftalan bis(2-etyloheksylu)	HPLC-UV	0,1	0,3	1,3	[Baram i in. 2000]
	SPME-HPLC-DAD	2,5	7,5		[Cháfer-Pericás i in. 2008]
	SPME-HPLC-UV	0,6	-		[Kayali i in. 2006]
	SPE(PSDVB)-HPLC-UV	0,1	-		[Jara i in. 2000]
	CPE-HPLC-UV	3,8	-		[Wang i in. 2007]
	SPME-GC-(EI)-MS(Scan)	0,103			[Polo i in. 2005]
	(HS)SPME-GC-(EI)-MS(SIM)	0,049 ³⁾			[Cao 2008]
	MSSPME(PPy- Fe_3O_4)-GC-MS(SIM)	0,014	0,047		[Meng i in. 2011]
	SPE-GC-FID	25	80		[Prapatpong i Kanchanamayoon 2010]
	LLE-GC-MS (SIM)	0,02	-		[Leivadara i in. 2008]
SPME-HPLC-UV	60	-	[Deng i in. 2005]		
Heptachlor	DLLME-GC-MS(SIM)	0,007	-	$2\cdot 10^{-7}$	[Cortada i in. 2009a]
	USAEME-GC-MS(SIM)	0,01	-		[Zhang i Lee 2012]
	HLLME-GC-ECD	0,008	-		[Yazdanfar i in. 2014]
	SDME-GC-MS(SIM)	0,049	-		[Cortada i in. 2009]
	HF-LPME-GC-MS(Scan)	0,03	-		[Basheer i in. 2002]
SPME-GC(EI)-MS(SIS)	-	0,015 ⁴⁾	[McManus i in. 2013]		
Epoksyd heptachloru	SPE-GC-(EI)-MS(SIM)	0,031	-	$2\cdot 10^{-7}$	[Okumura i in. 1997]
	DLLME-GC-MS(SIM)	0,002			[Cortada i in. 2009a]
	HLLME-GC-ECD	0,005			[Yazdanfar i in. 2014]
	SDME-GC-MS(SIM)	0,054			[Cortada i in. 2009b]
	SPME-GC(EI)-MS(SIS)	-			[McManus i in. 2013]
Antracen	SPE-HPLC-UV(DAD)	0,0008	0,0026	0,1	[Titato i Lanças 2006]
	LLE-HPLC-UV(DAD)	0,0008	0,0026		
	SPE-HPLC-(APCI)-MS(SIM)	0,05	0,165		
	LLE-HPLC-(APCI)-MS(SIM)	0,05	0,165		[Li i in. 2012]
	SPE-HPLC-FLD	$2\cdot 10^{-6}$	$7\cdot 10^{-6}$		[Ramirez i in. 2014]
	SPE-HPLC-(APPI)-MS ² (SRM)	0,029 ³⁾	-		
	LLE-GC-(EI)-MS ⁶⁾	0,0017 ³⁾	-		
	LLE-GC-(EI)-MS ⁷⁾	0,170 ³⁾	-		
	SPME-GC-(EI)-MS(SIM)	0,02	-		
SPME-GC-(EI)-MS(SIM)	0,001 ⁵⁾	0,002 ⁵⁾	[Rianawati i Balasubramanian 2009]		

¹⁾ Nie oznaczono ze względu na wysokie tło. ²⁾ Wartość podano jako MQL (granica oznaczalności metody). ³⁾ Wartość podano jako MDL (granica detekcji metody). ⁴⁾ Wartość LOQ została podana jako najniższy punkt krzywej kalibracyjnej. ⁵⁾ Wartość LOD oraz LOQ podana jako: $\text{LOD} = \text{blank} + 3\sigma_{\text{blank}}$, $\text{LOQ} = \text{blank} + 6\sigma_{\text{blank}}$. ⁶⁾ Objętość próbki poddanej ekstrakcji 1000 cm³. ⁷⁾ Objętość próbki poddanej ekstrakcji 10 cm³.

(HS-SPME) prowadzona w temperaturze 100°C z wykorzystaniem włókna z poliakrylanu (PA) lub układu polidimetylosiloksan/diwinilobenzen (PDMS-DVB) i desorpcją termiczną w temperaturze 270°C dla PDMS-DVB i 290°C dla PA [Polo i in. 2005]. Nowe, innowacyjne kierunki prowadzenia mikroekstrakcji przedstawiono w pracy [Meng i in. 2011] w której ten proces prowadzono na magnetycznych mikrosferach z Fe_3O_4 pokrytych warstwą polipirołu. Mikrosfery były dodawane bezpośrednio do próbki, którą wytrząsano przez 15 minut. Po etapie ekstrakcji były one rozdzielane od próbki za pomocą magnesu. Następnie anality były wymywane z mikrosfer za pomocą octanu etylu z użyciem łaźni ultradźwiękowej, a eluat nastrzykiwano bezpośrednio do chromatografu. Chociaż najpopularniejsze podejście do ekstrakcji DEHP obejmuje mikroekstrakcję z niewielką ilością próbki to możliwe jest także wykorzystanie klasycznych metod ekstrakcji takich jak SPE [Prapatpong i Kanchanamayoon 2010] oraz ciecz-ciecz (LLE) [Leivadara i in. 2008].

Oznaczanie heptachloru i jego epoksydu

Heptachlor oraz epoksyd heptachloru to pestycydy chloroorganiczne, które charakteryzuje wysoka trwałość oraz mała biodegradowalność. Do ich oznaczenia stosuje się niemal wyłącznie technikę GC-MS lub GC-ECD. Początkowo do ich ekstrakcji stosowano SPE [Okumura i in. 1997]. Jednak występujące problemy związane np. z osuszaniem polarnych rozpuszczalników sprawiły, że obecnie wśród metod ekstrakcji dominują różne warianty mikroekstrakcji do fazy ciekłej. Podobnie jak w przypadku 4-tert-oktylofenolu do ekstrakcji heptachloru i jego epoksydu można zastosować DLLME. Wielokryterialna optymalizacja warunków prowadzenia ekstrakcji tych związków wskazuje, że najlepszy odzysk uzyskuje się stosując [Cortada i in. 2009a]: 10 μ l tetrachloroetyleny jako rozpuszczalnik do ekstrakcji, 1 cm^3 acetonu jako rozpuszczalnik dyspergujący, 10 cm^3 próbki i temperaturę 20°C. Innym wariantem DLLME jest mikroekstrakcja poprzez emulgację wspomaganą ultradźwiękami (USAEME) w której rozpuszczalnik dyspergujący zastąpiono ultradźwiękami. W tej technice, w odróżnieniu od DLLME rozpuszczalnik do ekstrakcji powinien charakteryzować się niską gęstością. Badania ekstrakcji heptachloru wskazują, że najlepszym rozpuszczalnikiem jest izo-oktan stosowany w objętości 40–50 μ l na 6 cm^3

próbki i temperatura 25°C [Zhang i Lee 2012]. Mikroekstrakcję chlorowanych pestycydów można także przeprowadzić w układzie homogenicznym z zastosowaniem techniki mikroekstrakcji ciecz-ciecz (HLLME). Różni się ona od DLLME tym, że ekstrakcja zachodzi w całkowicie homogenicznej fazie trójskładnikowej woda/metanol/chloroform, gdzie metanol jest rozpuszczalnikiem dyspergującym, a chloroform rozpuszczalnikiem do ekstrakcji. Fazy rozdziela się, po dodaniu chlorku sodu poprzez odwirowanie. W pracy [Yazdanfar i in. 2014] optymalnymi warunkami HLLME okazało się zastosowanie 1 cm^3 metanolu i 55 μ l chloroformu na 5 cm^3 próbki oraz chlorku sodu w stężeniu 5%. Zastosowana metoda HLLME-GC-ECD charakteryzuje się wartościami odzysku bliskimi 100%. Ekstrakcje realizowane przy pomocy zdyspergowanych rozpuszczalników są oszczędne czasowo, lecz kosztowne, ponieważ wymagają zastosowania wirówki lub łaźni ultradźwiękowej. Tanim rozwiązaniem może okazać się mikroekstrakcja do kropli (SDME), gdzie proces wydzielania analitu następuje w kropli cieczy zawieszonyj na końcu igły strzykawkowej zanurzonej w próbce. Po ekstrakcji kroplę wciąga się z powrotem do strzykawkowej i analizuje bezpośrednio na GC. Jest ona jednak czasochłonna i wrażliwa na wpływ warunków zewnętrznych takich jak szybkość mieszania lub czas ekstrakcji. Metodę tą zastosowano do ekstrakcji heptachloru i epoksydu heptachloru stosując kroplę 2 μ l toluenu, lecz wartości odzysku, w kolejnych powtórzeniach znacząco różniły się i wynosiły od 55 do 91% [Cortada i in. 2009b]. Modyfikacją tej techniki jest mikroekstrakcja przez membranę do fazy ciekłej (HF-LPME) w której proces wydzielania analitu zachodzi na cieczy ekstrakcyjnej osadzonej na porowatym włóknie z polipropylenu zamontowanym na końcu igły mikrostrzykawkowej zanurzonej w próbce. Po zakończonej ekstrakcji ciecz ekstrakcyjna zasysana jest z włókna do strzykawkowej i analizowana. Analiza GC-MS próbek wody prowadzona pod kątem oznaczeń heptachloru z wykorzystaniem tej metody ekstrakcji i 5 μ l toluenu jako fazy osadzonej na włóknie charakteryzowała się wartościami odzysku od 95 do 97% [Basheer i in. 2002]. Oprócz mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz można po dobraniu odpowiednich warunków zastosować z powodzeniem mikroekstrakcję SPME. Autorzy pracy [McManus i in. 2013] stosując SPME z włókniem z PA w temperaturze 50°C przez 45 min

(objętość próbki 5 cm³ z dodatkiem 50% NaCl) oraz analizę GC-MS udokumentowali przydatność tej procedury osiągając wartości odzysku analitu bliskie 100%.

Oznaczanie antracenu

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne składają się z wielokrotnych pierścieni aromatycznych połączonych ze sobą ścianami. Liczba pierścieni może się różnić, począwszy od 2 pierścieni benzenowych tworzących naftalen, aż po struktury składające się z wielu pierścieni aromatycznych w różnych ułożeniach. Antracen, jeden z WWA zbudowany jest z 3 pierścieni benzenowych. Struktura i charakter chemiczny antracenu pozwala na jego oznaczenie zarówno technikami HPLC jak i GC. HPLC jest często stosowaną metodą rozdzielania antracenu, ze względu na możliwość detekcji analitu w UV. Obecność wielokrotnych wiązań podwójnych w tym związku zapewnia silną absorpcję promieniowania z zakresu UV umożliwiając skuteczną analizę. Do oznaczania WWA techniką HPLC stosuje się głównie ekstrakcje SPE oraz LLE. Rozdział prowadzony jest zazwyczaj na kolumnach C₁₈ [Titato i Lanças 2006; Li i in. 2012] chociaż mogą to być także kolumny dedykowane do oznaczania tylko WWA [Remirez i in. 2014]. Metoda SPE wykorzystuje znacznie mniejsze objętości rozpuszczalników organicznych, niż LLE jednakże w przypadku antracenu może charakteryzować się znacząco mniejszą wartością odzysku analitu. W pracy [Remirez i in. 2014] ekstrakcja LLE charakteryzowała się odzyskiem związku na poziomie 91%, a ekstrakcja SPE tylko 66%. W przypadku całkowitej automatyzacji SPE oraz modyfikacji zakończeń wypełnienia C₁₈ polarnymi grupami skuteczność procesu wzrasta i odzyski są na poziomie bliskim 100% [Remirez i in. 2014]. Podobny efekt uzyskano stosując do ekstrakcji kolumnę z wypełnieniem z poli(alkoholu winylowego) modyfikowanego grupami oktadecylowymi [Li i in. 2012]. Antracen jest cząsteczką sztywną i wykazuje fluorescencję. Do jego oznaczenia można stosować detektor fluorescencyjny (FLD). Autorzy pracy [Li in. 2012] z powodzeniem zastosowali metodę SPE-HPLC z detekcją fluorescencji do oznaczenia WWA w próbkach wody. Wraz z HPLC można także zastosować detektor MS działający w trybie jonizacji APCI lub w trybie fotojonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym (APPI). Podczas pracy w

trybie APPI według badań [Remirez i in. 2014] zaleca się stosowanie domieszki chlorobenzenu jako katalizatora fotojonizacji. Główną zaletą detekcji MS jest możliwość uzyskania informacji strukturalnej o analizowanym związku, co w przypadku WWA jest bardzo użyteczne, bo zapobiega błędnej identyfikacji sygnału [Remirez i in. 2014]. Rozdział WWA techniką GC prowadzony jest na kolumnach typu 5% difenyl-95% dimetylopolisiloksan z wykorzystaniem detekcji MS z jonizacją EI [Remirez i in. 2014; King i in. 2004; Rianawati i Balasubramanian 2009]. Struktura WWA sprawia, że podczas jonizacji EI powstają trwałe jony molekularne dające wyraźne sygnały. Wraz z techniką GC-MS stosuje się standardowe metody ekstrakcji SPE oraz LLE, a także można wykorzystać mikroekstrakcję SPME. W mikroekstrakcji WWA najczęściej stosowane są włókna z polidimetylosiloksanu (PDMS). Stosując SPME kluczowa jest optymalizacja warunków prowadzenia mikroekstrakcji. Najbardziej optymalne warunki ekstrakcji antracenu to pH ok. 6 [Rianawati i Balasubramanian 2009], czas ekstrakcji 45 min [King i in. 2004; Rianawati i Balasubramanian 2009], temperatura 60°C [Rianawati i Balasubramanian 2009] i szybkość mieszania próbki 600 rpm [Rianawati i Balasubramanian 2009]. Wysoka zawartość kwasów humusowych (mierzonych zazwyczaj poprzez RWO) w badanej próbce może drastycznie zmniejszyć efektywność mikroekstrakcji, gdyż WWA wykazują tendencję do adsorpcji na cząstkach koloidów zmniejszając ich dostępność dla włókna [King i in. 2004]. Powyżej wartości RWO 10 mg·dm⁻³ intensywność sygnału może zmniejszyć się o kilka rzędów jednostki. SPME z odpowiednio dobranymi parametrami procesu charakteryzuje się wysokimi wartościami odzysku na poziomie 85-107% [Rianawati i Balasubramanian 2009].

Czułość metod analitycznych

Wielkość sygnału dla danego związku, czyli obserwowany pik chromatograficzny zależy od czułości metody analitycznej. Czułość metody najczęściej wyraża się w postaci instrumentalnej granicy detekcji (LOD) i granicy oznaczalności (LOQ). Parametry te określa się zakładając odpowiednio 3 i 10 wielokrotności odchylenia standardowego sygnału dla próby ślepej. Czasami w celu powiązania granicy detekcji z procedurą przygotowania próbki i parametrami statystycznymi stosuje się granicę detekcji metody (MDL)

określającą najniższe wykryte stężenie z przedziałem ufności 99% oraz granicę oznaczalności metody (MQL) zwykle podawaną jako 3-5 wielokrotności wartości MDL. W praktyce dąży się do tego aby uzyskane wartości tych parametrów były jak najniższe. W zależności od zastosowanej metody oznaczenia, dla danego związku wartość LOD i LOQ będzie różna.

Dla 4-tert-oktylofenolu wartości LOD zawierały się w granicach od 0,05 do 24 ng·dm⁻³, a najniższą wartością tego parametru charakteryzowała się metoda SPE-GC-(CH₄-NCI)-MS (SIM) [Kuch i Ballschmiter 2001]. W metodach o najniższych wartościach LOD i LOQ 4-tert-oktylofenol był poddawany derywatywacji [Kuch i Ballschmiter 2001; Bina i in. 2017]. W przypadku DEHP, metody oznaczenia charakteryzowały się wartościami LOD w bardzo szerokich granicach od 14 do 60000 ng·dm⁻³. Najmniejsza wartość LOD uzyskana była w innowacyjnej metodzie MSSPME(PPy-Fe₃O₄)-GC-MS (SIM) [Meng i in. 2011]. Dla heptachloru i epoksydu heptachloru wartości LOD zawierały się w granicach od 2 do 54 ng·dm⁻³. Najczulszą metodą analizy okazała się metoda DLLME-GC-MS (SIM), charakteryzująca się wartościami LOD wynoszącymi 2 ng·dm⁻³ dla epoksydu heptachloru i 7 ng·dm⁻³ dla heptachloru [Cortada i in. 2009a]. Metoda ta jednak różni się znacząco od pozostałych wykorzystujących detekcję MS w których wartości LOD były o rząd lub dwa rzędy wielkości większe. Nieznacznie większymi wartościami LOD charakteryzowała się metoda HLLME-GC-ECD tj. 5 ng·dm⁻³ dla epoksydu heptachloru i 8 ng·dm⁻³ dla heptachloru [Zhang i Lee 2012]. Metody oznaczania antracenu charakteryzowały się wartościami LOD w zakresie od 0,002 do 170 ng·dm⁻³. Zdecydowanie najlepszą czułością charakteryzowała się metoda z detektorem fluorescencji SPE-HPLC-FLD, gdzie wartość LOD wynosiła 0,002 ng·dm⁻³ [Li i in. 2012]. Mniej czuła okazała się metodyka z detektorem UV dla której wartość LOD wynosiła 0,8 ng·dm⁻³ [Titato i Lanças 2006]. Porównanie granic detekcji procedur z wykorzystaniem detekcji UV oraz MS z metodą jonizacji APCI, dla tej samej metody rozdziału potwierdza przypuszczenia o protonacji WWA. Tak więc metoda jonizacji jest zdecydowanie mniej efektywna, niż absorpcja promieniowania z zakresu UV. Pozostałe metodyki oznaczania antracenu charakteryzowały się wartościami LOD o dwie lub trzy rzędy jednostki większymi.

WNIOSKI

Przeprowadzone studium literaturowe dotycząca występowania oraz metod oznaczeń wybranych grup mikrozanieczyszczeń regulowanych dyrektywą 2000/60/WE pozwoliło na wyciągnięcie następujących ogólnych wniosków:

1. Badania obecności mikrozanieczyszczeń w środowisku wodnym wskazują na dużą zmienność ich stężeń w zależności od rodzaju związku i próbki.
2. Najważniejszym etapem procedury oznaczania związków jest etap ekstrakcji.
3. Najbardziej uniwersalną i najczęściej stosowaną metodą detekcji związków w chromatografii gazowej jest MS, chociaż w przypadku np. pestycydów można stosować specyficzny detektor ECD. W chromatografii cieczowej najczęściej stosowanym detektorem jest UV oraz MS.
4. Największą czułością charakteryzują się procedury analityczne, w których anality upochadniano jak i zastosowano specyficzny detektor.
5. Jedna procedura analityczna nie jest w stanie oznaczyć wszystkich omawianych mikrozanieczyszczeń pomimo, że do wszystkich związków można zastosować GC-MS. Odmienne właściwości fizykochemiczne mikrozanieczyszczeń powodują, że procedury analityczne wymagają zastosowania różnych metod przygotowania próbek.

Podziękowania

Praca została sfinansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego przeznaczonej na realizację projektu „Doktorat wdrożeniowy”.

LITERATURA

1. Baram G.I., Azarova I.N., Gorshkov A.G., Vereshchagin A.L., Lang B., Kiryukhina E.D. 2000. Determination of bis (2-ethylhexyl) phthalate in water by high-performance liquid chromatography with direct on-column preconcentration. *Journal of Analytical Chemistry*, 55, 750-754.
2. Basheer C., Lee H.K., Obbard J.P. 2002. Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography-mass

- spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 968, 191-199.
3. Bina B., Mohammadi F., Amin M.M., Pourzamani H.R., Yavari Z. 2017. Determination of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol compounds in various types of wastewater and their removal rates in different treatment processes in nine wastewater treatment plants of Iran. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, in press.
 4. Cai Y., Jiang G., Liu J., Zhou Q. 2003. Multiwalled carbon nanotubes as a solid-phase extraction adsorbent for the determination of bisphenol A, 4-nonylphenol, and 4-tert-octylphenol. *Analytical Chemistry*, 75 2517-2521.
 5. Cao X.-L. 2008. Determination of phthalates and adipate in bottled water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1178, 231-238.
 6. Cháfer-Pericás C., Campíns-Falcó P., Prieto-Blanco M.C. 2008. Automatic in-tube SPME and fast liquid chromatography: A cost-effective method for the estimation of dibutyl and di-2-ethylhexyl phthalates in environmental water samples. *Analytica Chimica Acta*, 610, 268-273.
 7. Cortada C., Vidal L., Pastor R., Santiago N., Canals A. 2009a. Determination of organochlorine pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 649, 218-221.
 8. Cortada C., Vidal L., Tejada S., Romo A., Canals A. 2009b. Determination of organochlorine pesticides in complex matrices by single-drop microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 638, 29-35.
 9. Dat N.-D., Chang M.B. 2017. Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies. *Science of the Total Environment*, 609, 682-693.
 10. Deng L., Wu F., Deng N., Yang Y. 2005. Determination of trace DEHP in aqueous solution by solid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14, 494-497.
 11. Dyrektywa, 2000. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 r., nr 2000/60/WE.
 12. Jara S., Lysebo C., Greibrokk T., Lundanes E. 2000. Determination of phthalates in water samples using polystyrene solid-phase extraction and liquid chromatography quantification. *Analytica Chimica Acta*, 407, 165-171.
 13. Kayali N., Tamayo F.G., Polo-Díez L.M. 2006. Determination of diethylhexyl phthalate in water by solid phase microextraction coupled to high performance liquid chromatography. *Talanta*, 69, 1095-1099.
 14. King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. 2004. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 523, 259-267.
 15. Kuch H.M., Ballschmiter K. 2001. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range. *Environmental Science and Technology*, 35, 3201-3206.
 16. Leivadara S.V., Nikolaou A.D., Lekkas T.D. 2008. Determination of organic compounds in bottled waters. *Food Chemistry*, 108, 277-286.
 17. Li Y., Yoshida S., Chondo Y., Nassar H., Tang N., Araki Y., Toriba A., Kameda T., Hayakawa K. 2012. On-line concentration and fluorescence determination HPLC for polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater samples and its application to Japan Sea. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60, 531-535.
 18. Lien G.-W., Chen C.-Y., Wang G.-S. 2009. Comparison of electrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization for determining estrogenic chemicals in water by liquid chromatography tandem mass spectrometry with chemical derivatizations. *Journal of Chromatography A*, 1216, 956-966.
 19. Liu R., Zhou J.L., Wilding A. 2004. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1022, 179-189.
 20. McManus S.-L., Coxon C.E., Richards K.G., Danaher M. 2013. Quantitative solid phase microextraction - gas chromatography mass spectrometry analysis of the pesticides lindane, heptachlor and two heptachlor transformation products in groundwater. *Journal of Chromatography A*, 1284, 1-7.
 21. Meng J., Bu J., Deng C., Zhang X. 2011. Preparation of polypyrrole-coated magnetic particles for micro solid-phase extraction of phthalates in water by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, 1218, 1585-1591.
 22. Okumura T., Nishikawa Y., Yamamoto H., Konishi H. 1997. Gas chromatography-mass spectrometric determination of fthalide and heptachlor epoxide in environmental samples. *Talanta*, 44, 649-656.
 23. Polo M., Llompарт M., Garcia-Jares C., Cela R. 2005. Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, 1072, 63-72.

24. Prapatpong P., Kanchanamayoon W. 2010. Determination of phthalate esters in drinking water using solid-phase extraction and gas chromatography. *Journal of Applied Sciences*, 10, 1987-1990.
25. Ramirez C.E., Wang C., Gardinali P.R. 2014. Fully automated trace level determination of parent and alkylated PAHs in environmental waters by online SPE-LC-APPI-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 329-344.
26. Rianawati E., Balasubramanian R. 2009. Optimization and validation of solid phase micro-extraction (SPME) method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and stormwater. *Physics and Chemistry of the Earth*, 34, 857-865.
27. Salgueiro-González N., Turnes-Carou I., Besada V., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D. 2015. Occurrence, distribution and bioaccumulation of endocrine disrupting compounds in water, sediment and biota samples from a European river basin. *Science of the Total Environment*, 529, 121-130.
28. Smuda K., Dudziak, M. 2016. Changes of the EU and Polish legislation concerning pollution of the aquatic environment in 2010-2016. *Architecture Civil Engineering Environment*, 9, 141-146.
29. Titato G.M., Lanças F.M. 2006. Optimization and validation of HPLC-UV-DAD and HPLC-APCI-MS methodologies for the determination of selected PAHs in water samples. *Journal of Chromatographic Science*, 44, 35-40.
30. Wang L., Jiang G.-B., Cai Y.-Q., He B., Wang Y.-W., Shen D.-Z. 2007. Cloud point extraction coupled with HPLC-UV for the determination of phthalate esters in environmental water samples. *Journal of Environmental Sciences*, 19, 874-878.
31. Yazdanfar N., Yamini Y., Ghambarian M. 2014. Homogeneous liquid-liquid microextraction for determination of organochlorine pesticides in water and fruit samples. *Chromatographia*, 77, 329-336.
32. Zhang Y., Lee H.K. 2012. Application of ultrasound-assisted emulsification microextraction based on applying low-density organic solvent for the determination of organochlorine pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A*, 1252, 67-73.