

Katarzyna JAWOREK, Marianna CZAPLICKA, Marta BĄK *

OZNACZANIE WYBRANYCH ZWIĄZKÓW ARSENOORGANICZNYCH ZA POMOCĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ I CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

W pracy przedstawiono dwie metodyki jednoczesnego oznaczania wybranych związków arsenoorganicznych (AO) z zastosowaniem: (i) wysokosprawnej chromatografii cieczonej (HPLC) z detektorem z matrycą diodową (DAD) oraz (ii) chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS). Opracowane metodyki charakteryzują się dużą czułością i selektywnością. Dla procedury oznaczania kwasu monometyloarsenowego (MMA), kwasu dimetyloarsenowego (DMA), kwasu fenylarsenowego (PAA), kwasu p-azanilowego (p-AsA), roksarsonu (ROX) i nitarsonu (NITR) w próbkach wodnych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczonej połączonej z ekstrakcją do fazy stałej (SPE) otrzymano następujące wartości parametrów metrologicznych: odzyski dla badanych związków mieściły się w zakresie od 96 do 100%, natomiast wartość współczynnika zmienności nie przekroczyła 6,8%, niezależnie od stężenia związków OA, precyzja pośrednia metody analitycznej mieściła się w zakresie 0,5–16,7%. Granice oznaczalności badanych analitów wynosiły od 1,24 µg/l do 0,07 mg/l. Dla procedury oznaczania MMA, DMA, PA, ROX i NITR w próbkach wody techniką chromatografii gazowej powtarzalność metody analitycznej mieściła się w zakresie 4,9–25,8%, a granice oznaczalności od 3,5 µg/l do 18,1 mg/l.

1. WSTĘP

Arsen jest jednym z najbardziej toksycznych pierwiastków występujących w środowisku. Przyczyny jego zwiększonego stężenia mogą być wynikiem czynników pochodzenia naturalnego jak i antropogenicznego, związanego z obecną i realizowaną w przeszłości działalnością gospodarczą i przemysłową człowieka. W skorupie ziemskiej arsen występuje w ilościach śladowych, a problemy z naturalnym zanieczyszczeniem środowiska występują w rejonach z formacjami geologicznymi bogatymi w ten pierwiastek. Ługowanie arsenu z minerałów w wyniku procesów biotycznych i abiotycznych prowadzi do zanieczyszczenia wód gruntowych i podziemnych. Jed-

nakże, zanieczyszczenie środowiska arsenem i jego związkami spowodowane jest przede wszystkim działalnością przemysłową tj.: wydobywaniem kopalin [2], metalurgią metali nieżelaznych [5], stosowaniem nawozów sztucznych [1, 2, 4, 9, 11, 12, 14, 16, 18-22] oraz spalaniem paliw kopalnych. Z powodu szerokiego zastosowania arsenu w przemyśle i rolnictwie związki tego pierwiastka zanieczyszczają gleby [3, 13, 15, 20], osady [18, 19, 21], wody powierzchniowe i podziemne, a w końcowym etapie przedostają się do łańcucha pokarmowego [8, 9, 16, 22]. Różnorodne związki arsenoorganiczne (AO) produkowane w skali przemysłowej, znajdują zastosowanie, jako herbicydy, środki owadobójcze, grzybobójcze i dodatki do pasz [2, 20] - jako przykład można podać fenolowe związki arsenu, takie jak kwas p-arsanilowy i roksarson [2, 19, 21]. Substancje te wykorzystywane są do kontroli biegunki (u świń) oraz wzrostu stopnia względnego przyrostu masy ciała (u świń oraz kurczaków). Karbarson i nitrason działają, jako antyhistaminy w stosunku do kurcząt [18], po spożyciu, bardzo małe ilości tych związków pozostają w mięsie kurcząt - zgodnie z wytycznymi FDA (Food and Drug Administration) jest to 0,5 ppm arsenu [22]. Z uwagi na fakt, iż powyższe substancje w większości nie ulegają metabolizmowi w organizmach żywych, dużym zagrożeniem dla środowiska naturalnego staje się obornik wykorzystywany w procesie uzdatniania pól uprawnych [8, 16]. Ściółka brojlerów karmionych paszą z dodatkiem roksarsonu zawiera od 15 do 30 ppm arsenu, w formie niemetabolizowanego roksarsonu, kwasu 4-hydroksyfenyloarsenowego (4 - HPA), nieorganicznych i metylowych związków tego pierwiastka [11]. Wpływ związków OA na środowisko może być znaczny w szczególności w regionach geograficznych, w których zastosowanie znajduje ściółka zanieczyszczona arsenem. Bardzo wiele związków fenyloarsenowych było wykorzystywanych, jako broń chemiczna. Clark I i Clark II oraz Adamsyt są silnymi substancjami drażniącymi nazywanymi często sternitami - czyli środkami wywołującymi kichanie i kaszel. Pfiffikus działa toksycznie na drogi oddechowe i skórę, natomiast Luizyt ma właściwości silnie parzące. Analiza bojowych środków chemicznych, ich prekursorów oraz produktów rozkładu, jest ważnym elementem kontroli wspierającym Konwencję o Zakazie Broni Chemicznej [17]. Fenyloarsenowe związki, jako bojowe środki chemiczne były produkowane w dużych ilościach w czasie I i II wojny światowej. Po II wojnie światowej zakłady produkcyjne zostały zniszczone, a bojowe środki chemiczne zostały zatopione w Morzu Północnym i Morzu Bałtyckim lub złożone w zakładach produkcyjnych [10]. Jest możliwe, że środki te lub produkty ich rozkładu mogą powodować zanieczyszczenie środowiska i problemy zdrowotne, dlatego też rekultywacja gruntów oraz wód związanych z produkcją bojowych środków chemicznych, wymaga analizy pozostałości tych związków i produktów ich rozkładu w środowisku.

Obecnie niewiele wiadomo o przemianach związków arsenoorganicznych oraz produktach ich transformacji w środowisku. Istnieje potrzeba poszerzenia wiedzy na temat mechanizmów rozkładu związków AO oraz konieczność opracowania metod analitycznych umożliwiających monitorowanie zanieczyszczeń oraz dalszych prze-

mian tych substancji. Analiza danych literaturowych z zakresu metod oznaczania związków arsenoorganicznych prowadzi do wniosku, że dostępne procedury analityczne charakteryzują się ograniczoną ilością oznaczanych organicznych związków arsenu i sprowadzają się głównie do oznaczania kwasów monometyloarsenowego i dimetyloarsenowego. Dlatego też, aby wykonać analizę specyficzną organicznych związków arsenu konieczne jest opracowanie nowych i optymalizacja istniejących metod analitycznych.

2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

2.1. ODCZYNNIKI I WZORCE

Do badań wykorzystano następujące odczynniki chemiczne (POCH S. A., Gliwice, Polska): octan sodu cz.d.a., kwas mrówkowy 85% cz.d.a., diwodorofosforan potasu cz.d.a, kwas azotowy (V), 65% cz.d.a, metanol do HPLC oraz substancje wzorcowe (Sigma- Aldrich, Niemcy): disodumetyloarsenian 97,5%, kwas dimetyloarsenowy 98,9%, kwas fenylarsenowy 97%, kwas arsanilowy 97%, roksarson, 99,9%, oraz nitarson 99,6%.

Roztwór podstawowy wybranych związków z grupy AO został przygotowany przez odważenie danych substancji, do kolbki o pojemności 25 ml. Stężenie każdego ze związków w roztworze podstawowym wynosiło 0,8 mg/ml. Roztwór sporządzono w wodzie destylowanej. Wodne roztwory wzorcowe stosowano do przeprowadzenia optymalizacji poszczególnych parametrów procedur analitycznych i ich walidacji (wykreślanie krzywych kalibracyjnych, wyznaczenie granic wykrywalności i oznaczalności oraz zakresów stosowalności metod analitycznych, itp.). W celu wyznaczenia granic wykrywalności i oznaczalności sporządzono próbki wzorcowe o stężeniach w zakresie od 1,28 µg/ml do 0,37 mg/ml dedykowanym dla techniki HPLC, oraz w zakresie od 0,019 µg/ml do 60,8 µg/ml dla techniki SPME–GC–MS.

2.2. APARATURA I MATERIAŁY

- wysokosprawny chromatograf ciekowy model 200 firmy PerkinElmer, składający się z autosamplera model 200, pompy gradientowej, degazera model 200, detektora spektrofotometrycznego z matrycą diodową (DAD), programu do naboru i obróbki danych TotalChrom Workstation wersja 6.3.1., zainstalowanego na komputerze współpracującym z wysokosprawnym chromatografem ciekowym.
- chromatograf gazowy Clarus 500 MS (Perkin Elmer, USA) połączony z kwadrupolowym spektrometrem mas firmy Perkin Elmer.

- zestaw do ekstrakcji do fazy stałej, BEAKER,
- kolumnienki ekstrakcyjne: Strata-AL-AW 100 μm Weak anion 60mg/3cm³ (Phenomenax, U.S.A), Strata-AL-A 100 μm Strong anion 60mg/3cm³ (Phenomenax, U.S.A), Discovery DSC-SCX 500 mg, 3 ml (Sigma- Aldrich (Niemcy)), Discovery DSC-SAX 500 mg, 3 ml (Sigma- Aldrich (Niemcy))
 - zestaw do mikroekstrakcji do fazy stałej (Supleco, Bellefonte, PA)
 - włókna ekstrakcyjne: polidimetylosiloksan modyfikowany diwinylobenzenem o grubości 65 μm (długości 1cm) (PDMS/DVB, Supleco, Bellefonte), poliakrylan (PA, Supleco, Bellefonte), carboxen diwinylobenzen (CAR/PDMS, Supleco, Bellefonte), diwinylobenzen carboxen polidimetylosiloksan (DVB/CAR/PDMS, Supleco, Bellefonte).
- kolumna Aquapore OD-300 (7 μm , 250 x 4.6 mm)
- kolumna kapilarna DB-5MS (30m x 0,25mm), o grubości filmu 0,25 μm

2.3. ANALIZA CHROMATOGRAFICZNA

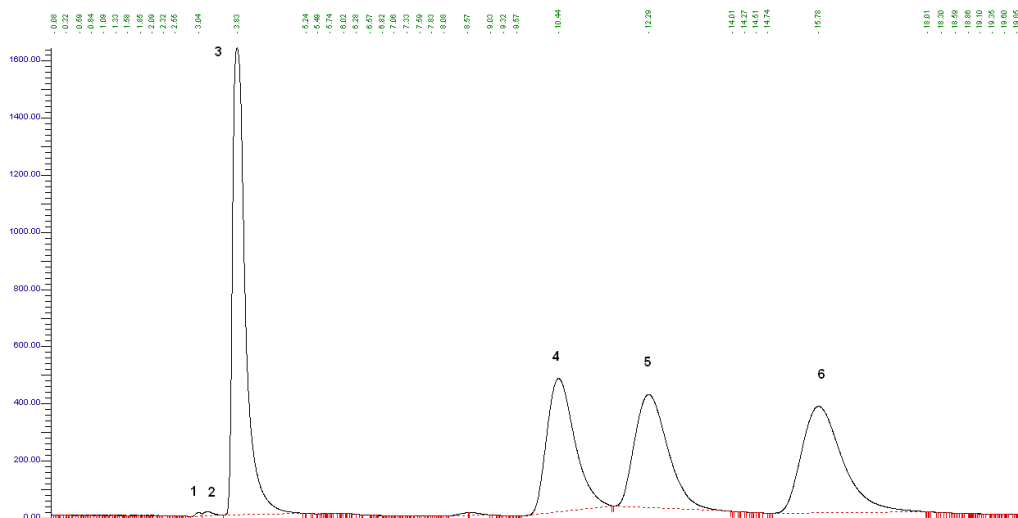
2.3.1. WYSOKOSPRAWNACHROMATOGRAFIA CIECZOWA Z DETEKTOREM Z MATRYCĄ DIODOWĄ (HPLC - DAD)

Analizę chromatograficzną roztworów wzorcowych mieszaniny kwasów MMA, DMA, PAA, p-AsA, ROX i NITR, wykonano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii ciekowej, stosując do rozdzielania analizowanych związków kolumnę Aquapore OD-300 (7 μm , 250 x 4,6 mm) oraz 50 mM bufor fosforanowy (pH 2,6), jako fazę ruchomą, przy długości fal detekcji, λ 200 i 260 nm. Zastosowanie opracowanej metody do oznaczania wyżej wymienionych związków w próbkach środowiskowych wymaga wprowadzenia dodatkowego etapu w procedurze analitycznej, tj. zatężania analitów. Chromatogram mieszaniny wzorcowej przedstawiono na rysunku 1.

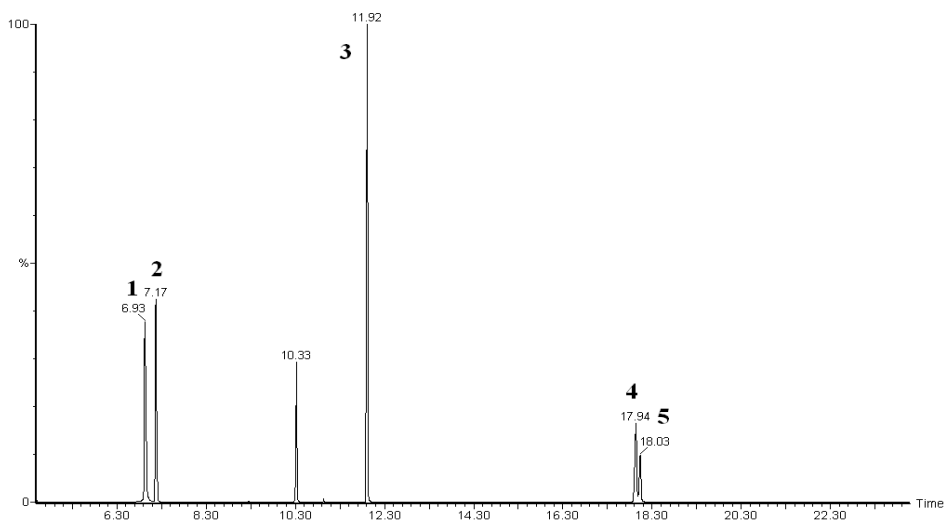
2.3.2 CHROMATOGRAFIA GAZOWA SPRZĘŻONA Z DETEKTOREM MAS (GC - MS)

Techniką chromatografii gazowej oznaczano równocześnie pięć związków arsenoorganicznych (MMA, DMA, PAA, ROX, NITR) (Rys. 2). Rozdzielenie analizowanych związków wykonano za pomocą kolumny DB - 5 (30m x 0,25 mm; 0,25 μm). Parametry pracy chromatografu gazowego, sprzężonego ze spektrometrem mas, były następujące: temperatura dozownika – 250 °C; temperatura linii transferowej – 280 °C; temperatura źródła jonów – 150 °C; prąd jonizacji – 34,6 mA; gazem nośnym był hel z przepływem 1 ml/min. Do analizy wybranych związków arsenoorganicznych kolumnę utrzymywano przez 1 min. w temperaturze 70 °C, ogrzewano ją z szybkością

15 °C/min do 230 °C, a następnie ogrzewano z szybkością 2,5 °C/min. do 280 °C. Widma mas rejestrowano w zakresie wartości liczbowej parametru m/z od 50 do 500.



Rys. 1. Chromatogram mieszaniny wybranych związków arsenoorganicznych: 1 – MMA, 2 – DMA, 3 – p-AsA, 4 – PAA, 5 – ROX, 6 – NITR (roztwór wzorcowy o stężeniu 0,9 mg/ml)

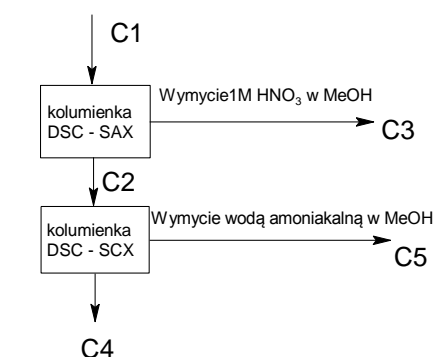


Rys. 2. . Chromatogram mieszaniny wybranych związków arsenoorganicznych: 1 – MMA, 2 – DMA, 3 – PA, 4 – ROX, 5 – NITR (roztwór wzorcowy o stężeniu 0,2 mg/ml)

2.4. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ – PROCEDURY EKSTRAKCJI

Poziom występowania AO w próbkach środowiskowych wymaga wprowadzenia etapu zateżenia analitów. W trakcie przygotowanie próbek zbadano przydatność ekstrakcji w układzie ciecz – ciało stałe. Do tego typu ekstrakcji zastosowano zależnie od dedykowanej metody instrumentalnej, kolumnienki ekstrakcyjne z różnym wypełnieniem i różne eluenty, jak i włókna ekstrakcyjne.

2.4.1 EKSTRAKCJA DO FAZY STAŁEJ (SPE)



$$C1 = C_{MMA} + C_{DMA} + C_{p-AsA} + C_{PAA} + C_{ROX} + C_{NITR}$$

$$C2 = C_{MMA} + C_{p-AsA}$$

$$C3 = C_{DMA} + C_{PAA} + C_{ROX} + C_{NITR}$$

$$C4 = \text{matryca (woda)}$$

$$C5 = C_{MMA} + C_{p-AsA}$$

Rys. 3. Schemat opracowanej procedury specjacji wybranych związków arsenoorganicznych

Ekstrakcję kwasów arsenoorganicznych z wody przeprowadzono z wykorzystaniem techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Do ekstrakcji zastosowano dwa rodzaje kolumnienek ekstrakcyjnych z wypełnieniami mocno anionitowym (Discovery DSC – SAX 500 mg) i mocno kationitowym (Discovery DSC – SCX SPE). Kolumnienki anionowe kondycjonowano 2 ml metanolu i 3 ml octanu sodu (pH 7). Ekstrahowano próbki wód o objętości 1000 ml. Po etapie ekstrakcji kolumnienki suszono pod próżnią. Kwasy MMA, PAA, NITR i ROX wymywano 5 ml mieszaniny metanolu i 1 M kwasu azotowego (V) (2:1). Odzysk dla danej metody ekstrakcji wynosił odpowiednio 91% dla MMA (V), 98% dla PAA, 99 % dla ROX i 99% w przypadku NITR. Próbkę wody po ekstrakcji na kolumnienkach anionitowych, wprowadzono na kolumnienkę kationitową w celu wyekstrahowania DMA i p-AsA. Kolumnienkę kationitową wstępnie kon-

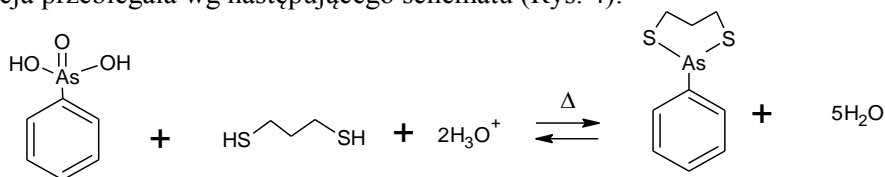
dycjonowano 2 ml metanolu oraz mieszaniną metanolu i fosforanu potasu (pH 3), a anality wymywano 3 ml mieszaniny metanolu i wody amoniakalnej (Rys. 3). Odzyski wynosiły 97% dla DMA i 100% w przypadku p-AsA. Każdorazowo procedurze ekstrakcji poddawano trzy próbki referencyjne oraz trzy próbki ślepe. Po przeprowadzonym procesie wydzielania, zredukowano objętość rozpuszczalnika oraz analizowano w układzie HPLC - DAD.

2.4.2 MIKROEKSTRAKCYJA DO FAZY STAŁEJ - SPME

W badaniach zastosowano włókno pokryte mieszaną fazą polidimetylosiloksan/diwinylobenzen (PDMS/DVB, Supelco Bellafonte, USA) o grubości fazy stacjonarnej 65 μm i długości 1cm. Przed pierwszym użyciem włókno było kondycjonowane zgodnie z zaleceniem producenta przez 30 minut w dozowniku chromatografu gazowego w temp. 250°C. Wszystkie analizy roztworów wykonano w fiolkach o objętości 8 cm^3 , szczelnie zamykanych plastikową nakrętką z silikonową membraną. Objętość próbek wynosiła 5 ml. Czas ekstrakcji wynosił 30 minut, natomiast temperatura ekstrakcji 60°C. Włókno z zaadsorbowanymi analitami natychmiast umieszczano w dozowniku chromatografu. Po trzech minutach desorpcji włókno było wyciągane z dozownika i używane do następnej mikroekstrakcji.

2.4.3 PROCEDURA DERYWATYZACJI ZWIĄZKÓW ARSENOORGANICZNYCH

Bezpośrednia analiza związków arsenoorganicznych, za pomocą chromatografii gazowej, nie jest możliwa, dlatego prowadzi się ich derywatyzację [7]. Do derywatywacji MMA, DMA, PAA, ROX i NITR zastosowano 1,3 – propanoditiol (PDT). Derywatywacja przebiegała wg następującego schematu (Rys. 4):



Rys. 4. Schemat przebiegu reakcji derywatywacji dla kwasu fenylarsenowego.

Próbkę wstępnie zakwaszono 1M kwasem solnym do pH ok. 2 i następnie do 5 ml próbki dodawano 1 μl odczynnika derywatyżującego. Reakcja upochadniania anality zachodziła przez 15 min w temperaturze 60 °C. Tak przygotowaną mieszaninę ekstrahowano na włóknie PDMS/DVB w temperaturze 60 °C.

3. WYNIKI

3.1. PODSTAWOWE PARAMETRY WALIDACYJNE OPRACOWANYCH PROCEDÓR ANALITYCZNYCH

W procesie walidacji stosowano próbki ślepe, próbki wzorcowe i próbki rzeczywiste. Pomiarów wykonywano wielokrotnie i określano poszczególne parametry z wykorzystaniem ogólnie przyjętych zasad obróbki statystycznej wyników. Zakresy pomiarowe, liniowość oraz powtarzalność poszczególnych procedur oznaczano na podstawie analizy próbek wzorcowych poddawanych całkowitemu procesowi analitycznemu. Zakresy stężeń uwzględnione w procesie kalibracji, były dobierane w zależności od wartości stężeń, na jakich poszczególne związki AO najczęściej występowały w próbkach rzeczywistych. Funkcje kalibracyjne dla wszystkich oznaczanych związków z grupy AO wyznaczono w oparciu o przygotowane próbki wzorcowe. Dla każdego badanego stężenia mieszaniny wzorcowej przeprowadzono cztery powtórzenia. W przypadku obu opracowanych metodyk, wartość współczynnika oscylowała w pobliżu wartości 0,9990, co oznacza liniową zależność sygnału od stężenia, w przyjętych zakresach stężeń. W tabeli 1 zestawiono wartości liczbowe współczynników regresji krzywych kalibracyjnych oraz współczynników zmienności, charakteryzujące poszczególne zakresy stężeń analitów z grupy AO w przypadku stosowania opracowanych metodyk (SPME - GC-MS, SPE – HPLC – DAD).

Tabela 1. Charakterystyka metrologiczna opracowanych procedur oznaczania związków z grupy OA w próbkach wzorcowych

Analit	HPLC - DAD			SPME- GC- MS		
	Zakres [mg/mL]	R ²	CV [%]	Zakres [mg/mL]	R ²	CV [%]
MMA	0,93–0,07	0,994	16,64	$49,2 \cdot 10^{-3}$ – $0,016 \cdot 10^{-3}$	0,999	4,92
DMA	0,83–0,06	0,996	2,36	$60,8 \cdot 10^{-3}$ – $0,019 \cdot 10^{-3}$	0,994	4,41
PAA	$0,82$ – $1,3 \cdot 10^{-3}$	0,998	0,75	$42,4 \cdot 10^{-3}$ – $0,013 \cdot 10^{-3}$	0,994	10,70
p – AsA	$0,81$ – $1,26 \cdot 10^{-3}$	0,996	0,96	-	-	-
ROX	$0,82$ – $1,32 \cdot 10^{-3}$	0,994	1,11	$42,8 \cdot 10^{-3}$ – $1,712 \cdot 10^{-3}$	0,999	24,26
NITR	$0,80$ – $1,28 \cdot 10^{-3}$	0,999	0,48	$48 \cdot 10^{-3}$ – $1,92 \cdot 10^{-3}$	0,999	25,84

W celu wyznaczenia granicy wykrywalności i oznaczalności sporządzono wzorcowe próbki wodne badanych związków w zakresie stężeń (0,06 mg/ml do 1,3 µg/ml) i (60 µg/ml do 0,01 µg/ml) w zależności od metody oznaczania i poddano je analizie. Wyznaczone wartości liczbowe granicy wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ) opracowanych procedur oznaczania poszczególnych związków arsenoorganicznych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Wyznaczone wartości liczbowe granicy wykrywalności i oznaczalności poszczególnych związków arsenoorganicznych, charakteryzujące opracowane metodyki analityczne

Analit	SPE- HPLC - DAD		SPME- GC- MS	
	LOD [mg/L]	LOQ [mg/ L]	LOD [mg/L]	LOQ [mg/ L]
MMA	0,025	0,074	$1,16 \cdot 10^{-3}$	$3,48 \cdot 10^{-3}$
DMA	0,022	0,066	$3,38 \cdot 10^{-3}$	$10,14 \cdot 10^{-3}$
PAA	$0,43 \cdot 10^{-3}$	$1,28 \cdot 10^{-3}$	$2,52 \cdot 10^{-3}$	$7,56 \cdot 10^{-3}$
P – AsA	$0,42 \cdot 10^{-3}$	$1,24 \cdot 10^{-3}$	-	-
ROX	$0,43 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	4,03	12,09
NITR	$0,43 \cdot 10^{-3}$	$1,28 \cdot 10^{-3}$	6,01	18,03

3.2. OPTIMALIZACJA PROCESU EKSTRAKCJI

3.2.1. EKSTRAKCJA DO FAZY STAŁEJ

Ze względu na specyfikę oznaczeń za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej wybrano metodę ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Ekstrakcje prowadzono na modelowych wodnych roztworach wzorcowych o objętości 1000 ml z dodatkiem badanych związków w ilości od 1 mg/l do 0,03 mg/l w zależności od pojemności sorpcyjnej kolumnienki ekstrakcyjnej. W badaniach tych zastosowano kolumnienki słabo i mocno anionowe oraz słabo i mocno kationowe. Rodzaje badanych faz stacjonarnych, roztworów elucyjnych i otrzymanych odzysków przedstawiono w tabeli 3.

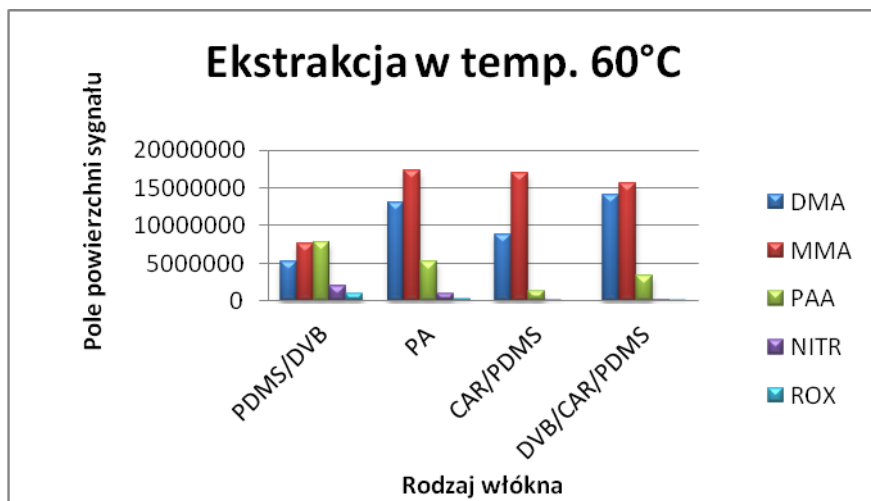
Na podstawie otrzymanych wyników do dalszych prac wybrano kolumnienki mocno anionowe i mocno kationowe (Discovery DSC - SAX i Discovery DSC – SCX). Ze względu na różne właściwości fizyko – chemiczne badanych związków zastosowano ekstrakcje dwu etapową.

Tabela 3. Wartości odzysków badanych analitów

Kolumnienki	Starata-XL-AW Weak Anion	Starta-XL Strong Anion	DSC-WCX	DSC-SAX	DSC-SCX	DSC-SCX	DSC-NH ₂	DSC-NH ₂
pH próbki	8- 9	8 -9	2 - 3	7 - 8	7 - 8	2 - 3	8 - 9	2 - 3
Roztwór elucyjny	MeOH/ CH ₃ COOH (2:1) pH 2	MeOH/ CH ₃ COOH (2:1) pH 2	MeOH/NH ₄ (2:1) pH 9	MeOH/1M HNO ₃ (2:1) pH 2	MeOH/1M HNO ₃ (2:1) pH 2	MeOH/NH ₄ (2:1) pH 9	MeOH/CH ₃ COOH (2:1) pH 2	1 M HCl
ODZYSKI (SD) [%]								
MMA	-	-	-	3(6,8)	58(3,0)	100(1,9)	-	-
DMA	-	19(3,2)	12(5,7)	98(3,2)	-	-	-	-
p- AsA	32(5,2)	17(4,3)	4(6,3)	35(4,5)	44(2,3)	99(2,1)	-	-
PAA	-	48(3,8)	42(4,8)	96(2,5)	-	-	-	-
ROX	-	58(2,4)	13(3,2)	102(1,1)	-	-	-	74(8,1)
NITR	-	60(2,1)	-	100(1,9)	-	-	2(8,7)	16(5,8)

3.2.2. MIKROEKSTRAKCJA DO FAZY STAŁEJ

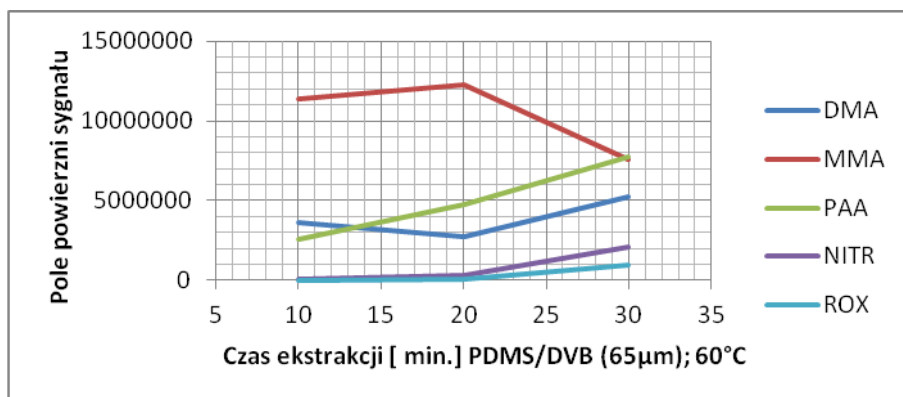
W celu osiągnięcia dobrej selektywności i wydajności ekstrakcji analitów włókno powinno charakteryzować się odpowiednimi właściwościami chemicznymi i fizycznymi [6]. Zderywatyzowane związki arsenoorganiczne, są związkami o silnych właściwościach hydrofilowych. W badaniach uwzględniono takie rodzaje włókien ekstrakcyjnych jak: poliakrylan (PA), polidimetylosiloksan modyfikowany diwinylobenzenem (PDMA/DVB), carboxen diwinylobenzen (CAR/PDMS), diwinylobenzen carboxen polidimetylosiloksan (DVB/CAR/PDMS). Badano ekstrakcje analitów z grupy OA dla dwóch punktów temperaturowych 25 i 60 °C, z uwagi na ewentualną nadmierną permeację analitów przez membranę przy wyższych temperaturach, gdyż temperatura ekstrakcji w sposób istotny wpływa na proces. Zmiana temperatury powoduje zmianę współczynnika podziału oznaczanych analitów pomiędzy poszczególne fazy. Wyniki wskazały, że wzrost temperatury w powyższym zakresie, powoduje zwiększenie wydajności ekstrakcji prawie dla wszystkich badanych związków AO (Rysunek 5). Jedynie dla fazy stacjonarnej PDMS/DVB i przy temperaturze ekstrakcji 60 °C otrzymano najbardziej stabilne i najwyższe sygnały dla ROX i NITR.



Rys. 5. Zależność pola powierzchni sygnału od rodzaju włókna ekstrakcyjnego

Na całkowity czas analizy istotny wpływ ma czas ekstrakcji. Aby wybrać możliwie najkorzystniejsze rozwiązanie wyznaczono profile ekstrakcji w zakresie od 10 do 30 min (Rysunek 6). Temperatura ekstrakcji wynosiła 60°C. Zaobserwowano, że najdłuższy czas ekstrakcji (30 min) zapewnia osiągnięcie stanu równowagi dla badanych związków. Wydłużenie czasu ekstrakcji powyżej 30 min, w przypadku badanych związków AO, nie wpływa już w sposób statystycznie istotny na powierzchnie ich

pików. Biorąc pod uwagę wydajność i całkowity czas analizy, najkorzystniejszym wydaje się czas ekstrakcji rzędu 30 min.



Rys. 6. Wpływ czasu na wydajność ekstrakcji poszczególnych analitów z grupy AO przy użyciu włókna PDMS/DVB (SPME – GC – MS) (5 ml próbki, temperatura ekstrakcji 60 °C)

4. WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają sformułować następujące wnioski:

- Opracowane metodyki charakteryzują się dużą czułością i selektywnością.
- Dla procedury oznaczania MMA, DMA, PAA, p-AsA, ROX i NITR w próbkach wodnych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej otrzymano następujące wartości parametrów metrologicznych: odzyski dla badanych związków mieściły się w zakresie od 96 do 102%, natomiast wartość współczynnika zmienności nie przekroczyła 6,8% niezależnie stężenia związków AO, precyzja pośrednia metody analitycznej mieściła się w zakresach 0,48–16,69%. Granice oznaczalności badanych analitów wynosiły od 1,24 µg/l do 0,07 mg/l. Wysokie wartości granic wykrywalności i oznaczalności w przypadku MMA i DMA, spowodowane są właściwościami fizyko–chemicznymi tych analitów. Ze względu na ich wyższe wartości $pK_a \approx 4-6$ w roztworach wodnych o $pH \approx 7$ i małą masę (w porównaniu z resztą badanych analitów), otrzymano sygnały o mniejszych polach powierzchni.
- Dla procedury oznaczania MMA, DMA, PAA, ROX i NITR w próbkach wody techniką chromatografii gazowej powtarzalność metody analitycznej mieściła się w zakresie 4,9–25,84%, a granice oznaczalności od 3,48 µg/l do 18,03 mg/l.

- Reakcja derywatywacji MMA, PAA, ROX, NITR z propanoditiolem dała spodziewaną cykliczną arsenotiolową pochodną. W reakcji tej arsen z (V) stopnia utlenienia ulega redukcji do (III) stopnia utlenienia.
- Reakcji derywatywacji nie uległ kwas p-AsA, ponieważ przyłączona do pierścienia grupa aminowa nosi dodatni ładunek przy pH 2, który uniemożliwia przebieg reakcji cyklizacji z odczynnikiem derywatyżującym.

Wysoka wartość CV [%] w przypadku DMA i PAA dla metody SPME-GC-MS może wynikać z faktu tworzenia się podczas reakcji derywatywacji nierozpuszczalnego białego osadu, który również został zaobserwowany przez B. Szosteka i J.H. Aldstadt'a w ich badaniach [17].

Opracowane metodyki charakteryzują się odpowiednimi parametrami metrologicznymi, a przede wszystkim niskimi wartościami granicy oznaczalności (ze względu na niskie poziomy stężenie analitów w próbkach), precyzją oraz powtarzalnością. Opracowana metodyka oznaczania związków AO w próbkach wodnych, może w przyszłości stać się użytecznym narzędziem analitycznym pozwalającym na analizę specyficzną związków arsenu, a także na ocenę ich zawartości w środowisku wodnym.

LITERATURA

- [1] BEDNAR A. J., GARBARINO J. R., FERRER I., RETHERFORD D. W., WERSHAW R. L., RANVILLE J. F., WILDENMAN T. R., *Photodegradation of roxarsone in poultry litter leachates*, The Science of the Total Environ., 2003, Vol. 302, 237-245.
- [2] CASIOT C., MORIN G., JUILLOT F., BRUNEEL O., PERSENNE J., *Bacterial immobilization and oxidation of arsenic in acid mine drainage (Carnoulès creek, France)*, Water Research, 2003, Vol. 37, 2929–2936.
- [3] CHAPPEL J., CHISWELL B., OLSZOWY H., *Speciation of arsenic in a contaminated soil by solvent extraction*, Talanta, 1995, Vol. 43, No. 3, 323-329.
- [4] CHATTERJEE A., *Behaviour of anionic arsenic compounds in microwave system with nitric acid and hydrogen peroxide — preliminary laboratory study*, The Science of the Total Environ., 1999, Vol. 228, 25-34.
- [5] CZAPLICKA M., KUROWSKI R., JAWOREK K., BRATEK Ł., *Application of advanced oxidation process for clearing of industrial water generated in wet dedusting of shaft furnace gases*, Environ. Technol., Vol. 34 (9-12), 2013, 1455-1462.
- [6] CZAPLICKA M., MAŃKO T., WYPYCH J., *Determination of chlorophenols and their photodegradation products in aqueous solution using liquid-liquid extraction and solid phase microextraction: a comparison*, Chemia Analityczna, 2005, Vol. 50, No. 5, 887-896.
- [7] CZAPLICKA M., *Determination of phenols and chlorophenols in bottom sediments*, Chromatographia, 2001, Vol. 53, S-470-S-473.
- [8] GONG Z., LU X., MA M., WATT C., LE X. C., *Arsenic speciation analysis*, Talanta, 2002, Vol. 58, 77-96.
- [9] HABUDA – STANIC M., KULES M., KALAJDZIC B., ROMIC Z., *Quality of groundwater in eastern Croatia. The problem of arsenic pollution*, Desalination, 2007, Vol. 210, 157-162.
- [10] HASS R., SCHMIDT T. C., STEINBACH K., von LOW E., *Chromatographic determination of phenylarsenic compounds*, Fresenius J. Anal. Chem., 1998, Vol. 361, 313-318.

- [11] HERING J. G., *Risk Assessment for Arsenic in Drinking Water: Limits to Achievable Risk Levels*, J. of Hazard. Mat., 1996, Vol. 45, 175-184.
- [12] HYMER C. B., CARUSO J. A., *Arsenic and its speciation analysis using high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry*, J. Chrom. A, 2004, Vol. 1045, 1-13.
- [13] JURLING H., STEINHANSES J., *Derivatization of 10-chloro-5,10-dihydrophenarsazine (Adamsite) for gas chromatographic analysis*, J. Chromatogr. A, 1996, Vol. 719, 401 – 409.
- [14] KENYON E. M., HUGHES M. F., *A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid*, Toxicology, 2001, Vol. 160, 227-236.
- [15] KOHLER M., HOFMANN K., VOLSGEN F., THUROW K., KOCH A., *Bacterial release of arsenic ions and organoarsenic compounds from soil contaminated by chemical warfare agents*, Chemosphere, 2001, Vol. 42, 425-429.
- [16] LEERMAKERS M., MORABITO R., QUEVAUVILLER PH., *Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation*, Trends in Anal. Chem., 2006, Vol. 25, 1-10.
- [17] MESILAAKSO M., RAUTIO M., IN: R.A. MEYERs, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Wiley, Chichester, 200, p. 899
- [18] RINGMANN S., BOCH K., MARQUARDT W., SCHUSTER M., SCHLEMMER G., KAINRATH P., *Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry*, Anal. Chim. Acta, 2002, Vol. 452, 207-215.
- [19] SCHAEFFER R., *Arsenic speciation in freshwater organisms from the river Danube in Hungary*, Talanta, 2006, Vol. 69, No. 4, 856-865.
- [20] SZOSTEK B., ALDSTADT J.H., *Determination of organoarsenicals in the environment by solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry*, J. Chromatogr. A, 1998, Vol. 807, 253-263.
- [21] TORNES J.A., OPSTAD A.M., JOHSEN B.A., *Determination of organoarsenic warfare agents in sediment samples from Skagerrak by gas chromatography-mass spectrometry*, Science of the total Environ., 2006, Vol. 356, 235-246.
- [22] ZHANG Q., MINAMI H., INOUE S., ATSUYA I., *Differential determination of trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in seawater by solid sampling atomic absorption spectrometry after preconcentration by coprecipitation with a nickel-pyrrolidine dithiocarbamate complex*, Anal. Chim. Acta, 2004, Vol. 508, 99-105.

DETERMINATION OF SELECTED ORGANOARSENIC COMPOUNDS BY USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND GAS CHROMATOGRAPHY

A gas chromatography (GC) with mass spectrometry and a high – performance liquid chromatography (HPLC) with DAD detection methods were developed for the determination of selected organoarsenic compounds in aquatic environment. Two methods for extraction of monomethylarsonic acid, dimethylarsonic acid, phenylarsonic acid, p- arsanilic acid, roxarsone i nitarson were also developed. Water samples were extracted by solid phase extraction (SPE) on Anion and Cation exchange cartridges. For the analysis by gas chromatography, analyte was derivatized with 1,3 – propanedithiol (PDT). The cyclic dithiaarsenoline formed was extracted from the sample matrix in the liquid phase by solid – phase microextraction (SPME). The optimized SPME conditions employed a 65µm polydimethylsiloxane divinylbenzene (PDMS – DVB) fiber, derivatization reaction temperature of 60 °C and fiber equilibration time 30 min.