

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Zastosowanie chromatografii jonowej i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas do oznaczania wybranych anionów i ftalanów w wodach smakowych

MAGDA PIĄTEK, IZABELA POWAŁEK, JERZY OSZCZUDŁOWSKI
INSTYTUT CHEMII, UNIWERSYTET JANA KOCHANOWSKIEGO W KIELCACH

Słowa kluczowe: chromatografia jonowa, chromatografia gazowa ze spektrometrią mas,
wody smakowe, ftalany, aniony

STRESZCZENIE:

Obecnie powszechne jest spożywanie różnego rodzaju wód smakowych, a informacje o ich składzie chemicznym nie należą do najbardziej szczegółowych. W związku z tym warto przeprowadzić pełną analizę tych wód w celu określenia ich składu. Założeniem badań przedstawionych w niniejszej pracy było oznaczenie istotnych anionów nieorganicznych i niektórych ftalanów w próbkach rzeczywistych wybranych wód smakowych. Zgodnie z tą koncepcją określono skład ilościowy następujących anionów: fluorkowych, chlorkowych, azotanowych (V), siarczanowych (VI) i fosforanowych (V), z zastosowaniem chromatografii jonowej (IC). Przeprowadzono również jakościowe i ilościowe oznaczenie ftalanów, wykorzystując chromatografię gazową ze spektrometrem mas (GC/MS). Stwierdzono stosunkowo wysokie stężenia jonów siarczanowych (VI) i chlorkowych. W wodach smakowych o pH poniżej 3 wykryto śladowe ilości niektórych ftalanów, które mogły migrować z powierzchni plastikowych butelek.

Application of ion chromatography and gas chromatography mass spectrometry for analysis of flavored water

Keywords: ion chromatography, gas chromatography mass spectrometry, flavored waters, phthalates, anions

ABSTRACT:

Much as it is common today to consume different kinds of flavored waters, information about their chemical composition is not the most detailed. Therefore it is worth conducting a full analysis of these waters in order to determine their composition. The assumption of the research presented in this paper was to determine the major inorganic anions and certain phthalates in some real samples of flavored waters. According to this concept, there was estimated the concentration of fluoride, chloride, nitrate (V), sulphate (VI) and phosphate (V) ions, using ion chromatography (IC). The determination of phthalates was conducted by means of gas chromatography mass spectrometry (GC/MS). There were found relatively high concentrations of sulfate (VI) and chloride ions. There were also detected trace amounts of certain phthalates, which may have migrated from the surface of plastic bottles in flavoured waters having a pH value below 3.

1. WSTĘP

Zgodnie z zaleceniami dorosły człowiek powinien dostarczać do organizmu ok. 2 litry wody dziennie, jednak spożycie to zależy zarówno od masy ciała, jak i prowadzonego trybu życia [1]. Obecnie oprócz wód mineralnych powszechnie spożywa się różnego rodzaju wody smakowe. Informacje o składzie chemicznym tych wód podawane na etykietach przez producentów są ograniczone.

W materiałach przeznaczonych do pakowania żywności czy napojów wykorzystuje się ftalany (estry kwasu ftalowego) jako plastyfikatory. Związki te mają niekorzystny wpływ na organizm ludzki, powodując m.in. zaburzenia hormonalne czy bezpłodność [2, 3].

Na podstawie analizy chemicznej wód smakowych można oszacować ich wartości odżywcze, a także zawartość sztucznych substancji, wprowadzanych dodatkowo w celu polepszenia ich smaku, zapachu czy wydłużenia terminu ważności. Najczęściej do tych badań wykorzystuje się metody: wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii gazowej (GC/MS) oraz chromatografii jonowej (IC). Aby zastosować wymienione wyżej techniki, należy wcześniej odpowiednio przygotować próbki do analizy. W tym celu stosuje się ekstrakcję ciecz – ciecz lub ekstrakcję ciecz – ciało stałe, a w tym najczęściej metody ekstrakcji do fazy stałej (SPE) i mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) [4].

Celem badań była analiza dostępnych na polskim rynku wód smakowych pod względem zawartości wybranych anionów, z wykorzystaniem techniki IC. Ponadto oznaczono jakościowo i ilościowo wybrane ftalany za pomocą metody GC/MS po mikroekstrakcji SPME. Obecność anionów nieorganicznych w istotny sposób wpływa na sorpcję analitów związków organicznych z fazy ciekłej do fazy stacjonarnej poprzez wzrost siły jonowej roztworu.

2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

2.1 Analizowane próbki

Analizie poddano 12 wód cytrynowych pochodzących od różnych producentów oraz 8 wód o różnych smakach, wyprodukowanych przez jednego z producentów, w plastikowych pojemnikach. Wykonano analizę jakościową i ilościową anionów z wykorzystaniem chromatografu jonowego, a także jakościową i ilościową ftalanów z wykorzystaniem chromatografu gazowego ze sprzężonym spektrometrem mas.

2.2 Przygotowanie roztworów wzorcowych do analizy ilościowej ftalanów

Zastosowano wzorzec firmy Supelco (numer katalogowy 48805-U), zawierający sześć ftalanów w 1 ml metanolu: ftalan dimetylu (DMP), ftalan dietylu (DEP), ftalan dibutyli (DBP), ftalan benzylbutyli

(BBP), ftalan di-2-etoksyheksylu (DEHP), ftalan di-n-oktylu (DOP). Stężenie początkowe każdego z ftalanów wynosiło 2000 mg/l. Roztwór roboczy o stężeniu każdego ftalanu równym 8 mg/l otrzymano poprzez rozcieńczenie w metanolu czystym do GC. Roztwory wzorcowe w zakresie stężeń ftalanów od 0,01 do 1,00 mg/l przygotowano poprzez rozcieńczenie w wodzie.

2.3 Przygotowanie próbek

Ekstrakty próbek rzeczywistych do analizy IC uzyskano poprzez rozcieńczenie poszczególnych wód smakowych. Rozcieńczenie nie było jednakowe dla wszystkich wód. Dobrano je doświadczalnie w taki sposób, aby analizowane próbki mieściły się w zakresie liniowości. Następnie przesączono je przez bibułkę o średnicy porów 0,45 μm pod zmniejszonym ciśnieniem.

Ekstrakty próbek rzeczywistych do analizy GC/MS uzyskano na drodze mikroekstrakcji z fazy ciekłej do fazy stacjonarnej (DI-SPME), wykorzystując mikrostrzykawkę firmy Supelco wyposażoną we włókno bipolarne pokryte polidimetylosiloksanem i diwinylobenzenem (PDMS/DVB). Stosowane włókno przed każdą kolejną ekstrakcją płukano wodą destylowaną i oczyszczano metodą desorpcji termicznej. W związku z tym, pomimo obecności w analizowanych próbkach cukrów i barwników, nie zaobserwowano zjawiska karmelizacji, a tym samym włókno nie straciło swojej żywotności. Mikroekstrakcję DI-SPME prowadzono przez pół godziny w temperaturze 50°C na mieszadle magnetycznym (350 obrotów/minutę). Podczas ekstrakcji i analizy chromatograficznej wykorzystano membrany wolne od plastyfikatorów.

2.4 Aparatura do analizy chromatograficznej IC

Analizę jakościową i ilościową poszczególnych anionów wykonano przy użyciu chromatografu jonowego firmy Shimadzu serii Prominence, który był wyposażony w kolumnę IC-SI-52-4E firmy Shodex o wymiarach 4,0 mm ID x 250 mmL oraz przedkolumnę SI-90G. Fazę stacjonarną stanowił alkohol poliwinylowy. Eluentem wykorzystywanym w procesie rozdzielania analitów był 3,6 mM Na_2CO_3 . Natężenie przepływu fazy ruchomej wynosiło 0,8 ml/min. Analizę chromatograficzną prowadzono w stałej temperaturze 45°C oraz pod stałym ciśnieniem 9,8 MPa, z wykorzystaniem supresora i detektora konduktometrycznego.

2.5 Aparatura do analizy chromatograficznej GC/MS

Analizę jakościową i ilościową ftalanów przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas Clarus 600T firmy PerkinElmer. Czas rejestracji chromatogramu dla każdej próbki wynosił około 30 minut. Anality rozdzielano w kolumnie HP-5MS o wymiarach 30 m x 0,25 mm, o grubości filmu 0,25 μm . Fazę stacjonarną stanowił metylofenylosiloksan. Jako gazu nośnego użyto helu o czystości 6,0 i stałym przepływie 1 ml/min. W procesie chromatografowania wykorzystano możliwość programowania zmian temperatury w kolumnie. Początkowa temperatura termostatu wynosiła 60°C i była utrzymywana przez 1 minutę. Po upływie tego czasu następował wzrost temperatury o 15°C/min, aż do uzyskania temperatury 250°C. Temperaturę końcową utrzymywano przez 16 minut. Temperatura końcowa kolumny chromatograficznej jest wystarczająca do całkowitej elucji analizowanych ftalanów. Nie stwierdzono zjawiska *carry over* podczas analizy chromatograficznej.

Jako detektor zastosowano spektrometr mas z kwadropolowym analizatorem jonów, który pracował w trybie jonizacji elektronowej, przy potencjale 70 eV. Do detekcji wykorzystano tryb pracy *scan*.

Temperatura dozownika wynosiła 250°C. Temperatura linii przesyłowej i źródła MS wynosiła również 250°C.

Sterowanie aparaturą oraz obróbkę danych umożliwiło połączenie chromatografu z komputerem posiadającym oprogramowanie TurboMass. Dodatkowo identyfikację poszczególnych ftalanów umożliwiła baza widm NIST 0,5 (US National Institute of Standards and Technology).

2.6 Wybór najlepszych warunków mikroekstrakcji

Zadowalające odzyski ftalanów w procesie mikroekstrakcji uzyskano dla włókna polidimetylosiloksan/diwinylobenzen (PDMS/DVB 65 μm) przy czasie sorpcji 30 minut i czasie desorpcji 2 minuty. Takie warunki ekstrakcji zastosowano do analizy próbek rzeczywistych.

3. WYNIKI I ICH DYSKUSJA

3.1 Analiza jakościowa i ilościowa poszczególnych anionów

Analizę jakościową i ilościową poszczególnych anionów wykonano przy użyciu chromatografu jonowego. Wykorzystano w tym celu metodę wzorca zewnętrznego. Przy pomocy funkcji kalibracyjnej wyznaczono zakresy liniowości dla analizowanych jonów oraz ich granice wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ), co przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1 Wartości odczytane z funkcji kalibracyjnych dla poszczególnych anionów

Anion	Zakres liniowości [mg/l]	Granica wykrywalności (LOD) [mg/l]	Granica oznaczalności (LOQ) [mg/l]
F ⁻	0,1 – 1,0	0,033	0,1
Cl ⁻	1,0 – 10,0	0,670	2,0
NO ₃ ⁻	1,0 – 10,0	0,330	1,0
SO ₄ ²⁻	1,0 – 10,0	0,067	0,2
PO ₄ ³⁻	0,1 – 1,0	0,670	2,0

Na podstawie wykresu 1, obrazującego wody cytrynowe różnych producentów, można zauważyć, że największą zawartością tych jonów cechują się wody nr 9, 10 i 11, natomiast najmniejszą zawartością odznacza się woda nr 7. Badania chromatograficzne wykazały również obecność dużej zawartości (aż 9,11 mg/l) jonów fosforanowych (V) tylko w wodzie nr 12.

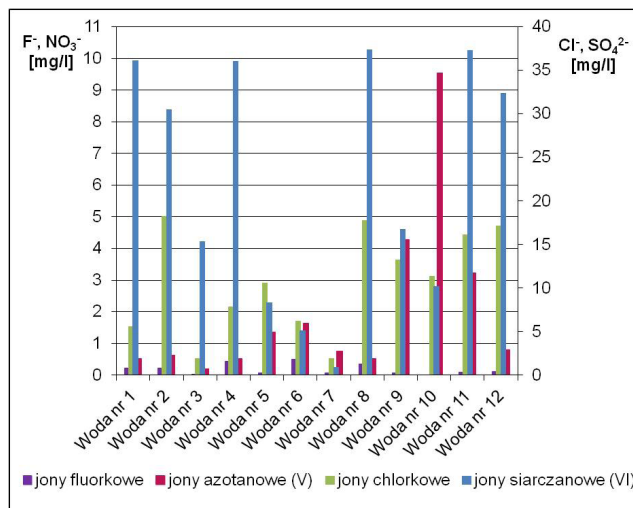
Na podstawie wykresu 2, obrazującego wody o różnych smakach pochodzące od tego samego producenta, można stwierdzić, że zawartość poszczególnych anionów w każdej wodzie smakowej jest porównywalna.

3.2 Analiza chromatograficzna GC/MS

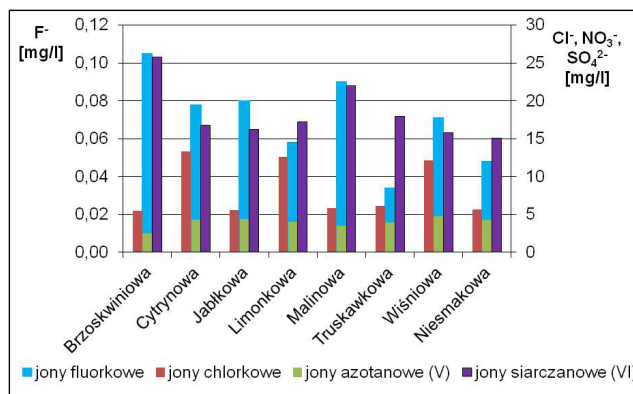
Analizę jakościową i ilościową poszczególnych ftalanów wykonano przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas. Wykorzystano w tym celu metodę wzorca zewnętrznego.

W Tabeli 2 przedstawiono obliczone stężenia ftalanów wykrytych w wodach cytrynowych.

Na podstawie zawartości ftalanów w analizowanych wodach cytrynowych można stwierdzić, że



Rysunek 1 Zawartość wybranych anionów w badanych wodach cytrynowych dostępnych na polskim rynku



Rysunek 2 Zawartość wybranych anionów w badanych wodach smakowych pochodzących od jednego producenta

spadek pH poniżej 3 jednostek powoduje wzrost stężenia niektórych ftalanów (np. próbki nr 2, 7, 9). W Tabeli 3 przedstawiono obliczone stężenia ftalanów wykrytych w wodach smakowych pochodzących od jednego producenta.

Na podstawie wyników podanych w Tabelach 2 i 3 stwierdzono charakterystyczny wzrost zawartości ftalanu di-n-oktylu w wielu próbkach wód smakowych. Zawartość DOP przekracza jego rozpuszczalność w wodzie (Tab. 4), co może być spowodowane zwiększoną rozpuszczalnością tego ftalanu w środowisku kwaśnym w obecności anionów nieorganicznych. W Tabeli 3 pokazano wzrost stężenia ftalanów w wodzie cytrynowej o pH 2,6 i ich brak w wodzie niesmakowej o pH 7,1.

Ponadto w większości z badanych wód (z wyjątkiem cytrynowej wody nr 4 oraz wody o smaku jabłkowym i wiśniowym) wykryto obecność D-limonenu odpowiedzialnego za aromat cytrynowy [6].

Tabela 2 Zawartość wybranych ftalanów w wodach cytrynowych dostępnych na polskim rynku
<LOD – poniżej granicy wykrywalności; <LOQ – poniżej granicy oznaczania ilościowego

Numer wody	pH	Stężenia ftalanów [mg/l]					
		DMP	DEP	DBP	BBP	DEHP	DOP
1	2,93	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,168
2	2,76	<LOD	<LOD	0,025	0,065	<LOD	0,152
3	2,81	<LOD	<LOD	<LOD	0,034	<LOD	<LOD
4	3,15	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
5	2,55	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,139
6	3,06	<LOD	<LOD	<LOQ	0,010	<LOD	0,124
7	2,43	<LOD	<LOD	0,048	0,092	<LOD	0,360
8	3,15	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	0,078
9	2,60	<LOD	<LOD	0,024	0,053	<LOD	0,280
10	3,14	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,059
11	3,25	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	0,175
12	3,17	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Tabela 3 Zawartość wybranych ftalanów w wodach smakowych tego samego producenta
<LOD – poniżej granicy wykrywalności; <LOQ – poniżej granicy oznaczania ilościowego

Smak wody	pH	Stężenia ftalanów [mg/l]					
		DMP	DEP	DBP	BBP	DEHP	DOP
Brzoskwiniowa	2,83	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	0,232
Cytrynowa	2,60	<LOD	<LOD	0,024	0,053	<LOD	0,280
Jabłkowa	2,96	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,059
Limonkowa	2,66	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,089
Malinowa	2,92	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,097
Truskawkowa	2,70	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,035
Wiśniowa	2,80	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Niesmakowa	7,10	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Wykorzystując metodę funkcji kalibracyjnej wyznaczono zakresy liniowości dla analizowanych ftalanów oraz ich granice wykrywalności i oznaczalności (Tab. 4). Umieszczono w niej również wartości rozpuszczalności w wodzie w temperaturze pokojowej dla każdego ftalanu. Granicę

wykrywalności (LOD) obliczono na podstawie stosunku sygnału do szumu 3:1. Natomiast granicę oznaczalności (LOQ) obliczono zgodnie ze wzorem:

$$LOQ = 3 \cdot LOD \quad (1)$$

Tabela 4 Wartości odczytane z funkcji kalibracyjnych dla poszczególnych ftalanów z uwzględnieniem ich rozpuszczalności w wodzie

Ftalan	Rozpuszczalność w wodzie w 25°C [mg/l] [5]	Zakres liniowości [mg/l]	Granica wykrywalności (LOD) [mg/l]	Granica oznaczalności (LOQ) [mg/l]
DMP	4,00	0,01 – 1,00	0,0033	0,01
DEP	1,08	0,01 – 1,00	0,0033	0,01
DBP	13,00	0,01 – 1,00	0,0033	0,01
BBP	2,69	0,01 – 1,00	0,0033	0,01
DEHP	0,27	0,01 – 0,20	0,0033	0,01
DOP	0,022	0,01 – 0,02	0,0033	0,01

Każdą analizę chromatograficzną wykonano 3 razy. Dla każdego ftalanu obliczono względne odchylenie standardowe wyniku (RSD). RSD powierzchni piku dla 6 analizowanych ftalanów mieściło się w zakresie 1 – 7%.

Błąd pomiaru został oznaczony na podstawie względnego odchylenia standardowego z 5 powtórzeń wykonanych dla roztworów roboczych. Względne odchylenie standardowe dla badanych estrów kwasu ftalowego wynosiło dla: DMP 4%, DEP 2%, DBP 1%, BBP 4%, DEHP 4%, DOP 7%.

4. PODSUMOWANIE

Metodą chromatografii jonowej oznaczono zawartości 5 anionów nieorganicznych w wodach

smakowych dostępnych na polskim rynku, zaś za pomocą metody DI-SPME-GC-MS przeprowadzono analizę jakościową i ilościową 6 ftalanów. Wykryte związki znacznie wpływają na jakość tych wód. Obecność ftalanów w badanych wodach jest niepożądana ze względu na wywoływanie niekorzystnych skutków na płodność, a także negatywny wpływ na układ endokryny, powodując zaburzenia hormonalne [7, 8].

Obecność wybranych ftalanów w składzie wód smakowych wynika z ich niskiego pH – w granicach: 2,3 – 3,3. W takich warunkach migracja ftalanów (zastosowanych jako plastyfikatory) z powierzchni plastikowej butelki jest znacznie ułatwiona.

LITERATURA

- [1] Petraccia L., et al., Water, mineral waters and health, Clin. Nutr., 25.3, (2006), 377-385.
- [2] Cory-Slechta D., Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Task Ahead, NAP, (2008), 106-140.
- [3] Mankidy R., Wiseman S., Ma H., Giesy J. P., Biological impact of phthalates, Toxicol. Lett., 217(1), (2013), 50-58.
- [4] Andujar-Ortiz I., Moreno-Arribas M. V., Martín-Álvarez P. J., Pozo-Bayón M. A., Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of wine volatile compounds, J. Chromatogr. A, 1216, (2009), 7351-7357.
- [5] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [6] Wideł D., Oszczudłowski J., Witkiewicz Z., Zastosowanie chromatografii gazowej i elektroforezy kapilarnej do analizy napojów orzeźwiających, ABiD, 17, (2012), 79-84.
- [7] Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J., Phthalates: toxicology and exposure, Int. J. Hyg. Envir. Heal., 210.5, (2007), 623-634.
- [8] Schettler T., Human exposure to phthalates via consumer products, Int. J. Androl., 29(1), (2006), 134-139.