

Oznaczania polibromowanych eterów difenylowych (PBDE) w żywności (cz. II)

Chromatografia gazowa PBDE

Leszek Ruchomski*

Metody dozowania do kolumny chromatograficznej

Temperatura dozownika zazwyczaj zawiera się w granicach 250°C do 300°C, jednakże temperatura ta może być wyższa i wynosić 340°C [29]. Dozowanie próbki odbywa się bez podziału (ang. *splitless*). Korzystne są małe objętości dozowanych próbek najczęściej 1 µl, ale większe objętości pozwalają obniżyć granicę wykrywalności. Zastosowanie autodozownika (autosamplera) jest niezbędne do uzyskania akceptowalnej powtarzalności. Duża zawartość związków z grupy nona-BDE oraz okta-BDE, ewentualnie niżej bromowanych kongenerów względem BDE-209 może wskazywać na degradację tego kongeneru podczas przygotowania próbki do analizy [3].

Wprowadzanie próbki bezpośrednio do kolumny chromatograficznej (ang. *on-column*) jest najprostszym sposobem dozowania w chromatografii. W metodzie tej, analit jest praktycznie całkowicie przeniesiony do kolumny i nie następuje wstępna degradacja wyżej bromowanych kongenerów. Ekstrakt wprowadzany wprost do kolumny musi być dostatecznie oczyszczony, ponieważ niedokładne oczysz-

czenie może powodować sorpcję tłuszczów i innych związków, co za tym idzie pogorszenie zdolności rozdzielczych oraz skrócenie żywotności kolumny [30].

Dozownik z programowaną temperaturą (PTV) umożliwia kontrolowanie temperatury podczas dozowania próbki do kolumny chromatografu. Roztwór wprowadzany jest

w temperaturze zbliżonej do temperatury wrzenia rozpuszczalnika ($\pm 20^\circ\text{C}$). W ten sposób rozpuszczalnik odparowuje z próbki, a związki analizowane pozostają we wkładce. Szybki wzrost temperatury skutkuje przeniesieniem analitów do kolumny [31]. Firma Thermo Scientific podaje następujący program temperatury dozownika PTV podczas

oznaczania PBDE: temperatura początkowa 80°C przez 0,1 minuty, przyrost temperatury 1°C/s do 300°C, w tej temperaturze 10 minut [32].

Stosowane kolumny chromatograficzne

Fazy stacjonarne kolumn chromatograficznych stosowanych w chromatografii gazowej mają charakter niepolarny lub

Tabela 1. Zestawienie czasów retencji poszczególnych kongenerów PBDE [29]

Lp.	Związek	t _R [min]	Stężenie [ng/ml]	Lp.	Związek	t _R [min]	Stężenie [ng/ml]
1	BDE-1	4,63	200	24	BDE-153	11,37	400
2	BDE-2	4,70	200	25	BDE-139	11,57	400
3	BDE-3	4,78	200	26	BDE-140	11,72	400
4	BDE-10	5,67	200	27	BDE-138	12,08	400
5	BDE-7	5,94	200	28	BDE-156	12,35	400
6	BDE-15	6,24	200	29	BDE-169	12,35	400
7	BDE-30	6,74	200	30	BDE-184	12,68	800
8	BDE-17	7,15	200	31	BDE-183	12,96	800
9	BDE-28	7,29	200	32	BDE-191	13,38	800
10	PBEB	7,50	200	33	BTBPE	13,46	400
11	HBB	8,11	200	34	BDE-180	13,61	800
12	BDE-49	8,23	400	35	BDE-171	13,95	800
13	BDE-71	8,28	400	36	BDE-201	14,68	800
14	BDE-47	8,44	400	37	BDE-204	14,81	800
15	BDE-66	8,62	400	38	BDE-197	14,85	800
16	BDE-77	8,92	400	39	BDE-203	15,09	800
17	BDE-100	9,50	400	40	BDE-196	15,22	800
18	BDE-119	9,62	400	41	BDE-205	15,54	800
19	BDE-99	9,84	400	42	BDE-208	16,79	2000
20	BDE-85	10,47	400	43	BDE-207	16,95	2000
21	BDE-126	10,58	400	44	BDE-206	17,31	2000
22	BB-153	10,82	400	45	BDE-209	19,03	2000
23	BDE-154	10,85	400	46	DBDPE	20,32	4000
PBEB – pentabromoetylobenzen HBB – heksabromobenzen				BTBP – 1,2-bis(2,4,6-tribromofenoksy)etan DBDPE – dekabromodifeniloetan			



semipolarnym. Najczęściej są to fazy:

- (100%)–dimetylopolisiloksan, np. DB–1 [27],
- (5%)–difenilo–(95%)–dime-tylopolisiloksan, np. DB–5, DB–5ms, CP–Sil 8 CB, Rtx–1614 [12,27,29,33],
- (7%)–cyjanopropilo–(7%)–fenylo–(86%)–dimetylopolisiloksan, np. CP–Sil 19 CB, HP–1701, DB–1701 [19,27,34].

Stosowane kolumny do rozdzielania PBDE mają długość od 25 do 60 metrów. Do rozdzielania BDE–209 zalecane jest zastosowanie krótszej kolumny długości 10–15 me-

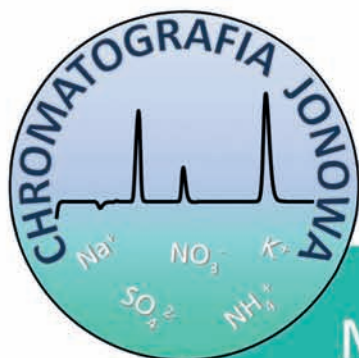
trów [9] oraz grubości fazy stacjonarnej w zakresie 0,1 μm –0,2 μm . Podyktowane jest to wrażliwością tego kongeneru na wysoką temperaturę i możliwością degradacji. Allchin i in. [34] podają, że BDE–209 może być rozdzielany w mieszaninie z innymi kongenerami, ponieważ niżej bromowane kongenery wcześniej opuszczają kolumnę i nie współeluują z kongenerem BDE–209. Björklund i in. [35] najlepsze wyniki oznaczenia BDE–209 otrzymali przy zastosowaniu kolumny DB–1, a najgorsze dla kolumny HP–1.

Kongenery BDE–49 oraz BDE–71 są uważane za krytyczne, ze względu na trudności w ich rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej [29,36]. Wg Metody 1614 z sierpnia 2007 roku opracowanej przez Agencję Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (EPA) te dwa kongenery uważa się za rozdzielone, jeśli stosunek wysokości doliny między dwoma pikami do wysokości niższego piką wynosi 40% [36].

Wielu badaczy [37,38,39] sugeruje szybki postęp technik łączonych służących oznaczeniu BFR w próbkach środowi-

skowych z uwagi na wszechobecne ich stosowanie oraz przedostawanie się do środowiska. Zaproponowano technikę dwuwymiarowej chromatografii gzowej GC \times GC–ECD oraz GC \times GC–ToF–MS, podobnie jak w przypadku analizy dioksyn, furanów i PCB.

Stosowane detektory
Zalecanymi detektorami w oznaczeniach związków pochodzących ze złożonych matryc są spektrometry mas (MS). Wykorzystują one dwie techniki jonizacji: strumieniem elektronów (EI) oraz chemiczną jonizacją z wychwytem



Międzynarodowa Konferencja

Chromatografia Jonowa 2016

Zabrze, Polska
20-21.04.2016

www.ipis.zabrze.pl

Tabela 2. Czasy retencji poszczególnych kongenerów PBDE, wg Metody EPA 1614 [36]

Lp.	Kongener	t _R [minuta: sekunda]	Lp.	Kongener	t _R [minuta: sekunda]
1	BDE-1	11:26	24	BDE-77	28:34
2	BDE-2	11:45	25	BDE-100	30:10
3	BDE-3	12:04	26	BDE-119/ BDE-120	30:28
4	BDE-10	15:48	27	BDE-99	31:04
5	BDE-7	16:59	28	BDE-116	31:19
6	BDE-8/ BDE-11	17:32	29	BDE-85	32:34
7	BDE-12	17:50	30	BDE-126	32:51
8	BDE-13	17:54	31	BDE-105	33:08*
9	BDE-15	18:18	32	BDE-155	32:50
10	BDE-30	20:26	33	BDE-154	33:28
11	BDE-32	21:45	34	BDE-153	34:38
12	BDE-17	22:11	35	BDE-140	35:20*
13	BDE-25	22:17	36	BDE-138/ BDE-166	36:09
14	BDE-28/ BDE-33	22:49	37	BDE-128	37:43
15	BDE-35	23:14	38	BDE-183	37:58
16	BDE-37	23:41	39	BDE-181	39:40
17	BDE-75	26:04	40	BDE-190	39:54
18	BDE-51	26:12	41	BDE-203	42:40*
19	BDE-49	26:25	42	BDE-208	45:33
20	BDE-71	26:33	43	BDE-207	45:52
21	BDE-47	27:05	44	BDE-206	46:31
22	BDE-79	27:26	45	BDE-209	50:20
23	BDE-66	27:40	* szacowany czas		

elektronów (ECNI). ECNI należy do tzw. technik "miękkiej jonizacji", stosujących ciepłych (termicznych) elektrony.

W trybie EI-LRMS granica wykrywalności w zakresie wybranych jonów (SIM) zależy od stopnia bromowania, dla kongenerów od tri-BDE do hepta-BDE wynosi od 0,05 do

0,30 ng/g tłuszczu [25]. EI-MS pozwala na użycie wewnętrznych wzorców znaczących izotopem węgla ¹³C-PBDE, co wiąże się z dokładniejszym oznaczeniem odzysku całej metodyki. Zastosowanie tego rodzaju wzorców nie jest możliwe w technice jonizacji ECNI, ponieważ na ogół monitoro-

wane są jony Br⁻ (m/z = 79 lub m/z = 81) [3]. Zaletami techniki EI-HRMS są: większa czułość względem EI-LRMS oraz selektywność względem ECNI-LRMS [3].

Zastosowanie detektora ECD pozwala na otrzymanie rzeczywistych wyników tylko w próbkach o wyższej zawartości PBDE [34]. Detektor daje liniowe odpowiedzi tylko w ograniczonym zakresie, a jego odpowiedzi zależą od rodzaju poszczególnych kongenerów [40]. ECD nie jest selektywny względem innych związków halogenoorganicznych, które mogą znajdować się w próbce (współekstrakcja, współelucja). ECD może posłużyć do badań przesiewowych [20].

Kolejność elucji

Ustalenie czasów retencji podczas oznaczania dużej liczby związków jest kluczowym elementem tworzenia metody analitycznej. Misselwit i in. [29] przeprowadzili analizę wzorców naturalnych PBDE/BFRmix z Wellington Laboratories (BFR PAR) techniką łączoną GC-EI-MS. Zastosowano kolumnę Rtx-1614 o wymiarach: 14,4 m (kolumna po przycięciu z długości 15 m) × 0,25 mm × 0,10 μm, wkładkę *Sky cyclo double taper inlet liner* i program temperaturowy: 75°C przez 0,9 minuty, przyrost 21°C/min do temperatury 210°C, następ-

ny przyrost 9°C/min do temperatury 310°C i w tej temperaturze przez 3,6 minuty. Warunki te, pozwoliły na otrzymanie rozdzielania krytycznych kongenerów BDE-49 i BDE-71. Czasy retencji poszczególnych kongenerów przedstawiono w tabeli 1.

Metoda 1614 Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych [36] podaje następujące wytyczne oznaczania PBDE:

- kolumna o wymiarach: 30 ± 5 m × 0,25 ± 0,02 mm × 0,1 μm;
 - faza stacjonarna: (1%)-winylo-(4%)-fenylo-(95%)-metylopolisiloksan do stosowania w wysokich temperaturach (np DB-5HT lub kolumny równoważne);
 - dozowanie bez podziału (*splitless*);
 - temperatury:
 - temperatura dozownika: 300°C;
 - temperatura interfejsu: 320°C;
 - program temperaturowy: 100°C przez 3 minuty, przyrost 5°C/min do temperatury 320°C, w tej temperaturze przez 5 minut.
- Spełnienie powyższych wymagań pozwala na otrzymanie czasów retencji PBDE zestawionych w tabeli 2.

* mgr inż. Leszek Ruchomski
leszekeruchomski@gmail.com

Dotłącz do nas na facebooku



LABportal.pl