

Magdalena Palacz

**Właściwości i zastosowanie modyfikowanej  
krzemionki osadzonej na włóknie kwarcowym  
w technice SPME**

---

Properties and application of modified silica  
embedded on quartz fiber in SPME technique

Praca przedstawiona  
Radzie Wydziału Chemii  
Uniwersytetu im.  
Adama Mickiewicza  
Celem uzyskania stopnia  
Doktora nauk chemicznych

Promotor:  
Prof. UAM dr hab. Wiesław Wasiak

POZNAŃ 2012

I.	WSTĘP .....	5
II.	CZĘŚĆ LITERATUROWA .....	6
II.1.	METODY PRZYGOTOWANIA PRÓBEK .....	6
II.1.1.	<i>Etapy procesu analitycznego</i> .....	6
II.1.2.	<i>Pobieranie próbek</i> .....	6
II.1.3.	<i>Transport i przechowywanie próbek</i> .....	7
II.1.4.	<i>Przygotowanie próbek</i> .....	8
II.1.5.	<i>Pomiar</i> .....	8
II.1.6.	<i>Opracowanie wyników</i> .....	8
II.1.7.	<i>Wnioski</i> .....	9
II.2.	PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ .....	9
II.2.1.	<i>Przygotowanie próbek gazowych</i> .....	11
II.2.1.1.	Pobieranie próbek bez zateżenia.....	11
II.2.1.2.	Absorpcja analitów w cieczy.....	11
II.2.1.3.	Adsorpcja analitów na sorbencie.....	11
II.2.2.	<i>Przygotowanie próbek ciekłych</i> .....	12
II.2.2.1.	Ekstrakcja ciecz-ciecz .....	12
II.2.2.2.	Ekstrakcja ciecz – gaz .....	12
II.2.2.3.	Ekstrakcja ciecz - ciało stałe.....	13
II.2.2.4.	Ekstrakcja kroplą rozpuszczalnika .....	14
II.2.2.5.	Ekstrakcja ruchomym elementem sorpcyjnym (ang. Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE).....	14
II.2.3.	<i>Przygotowanie próbek stałych</i> .....	15
II.2.3.1.	Ekstrakcja w aparacie Soxhleta .....	15
II.2.3.1.1	Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (ang. Microwave Assisted Extraction, MAE) .....	15
II.2.3.2.	Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami – sonifikacja .....	16
II.2.3.3.	Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym (ang. Supercritical Fluid Extraction, SFE).....	16
II.2.3.4.	Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (ang. Accelerated Solvent Extraction, ASE) .....	17
II.2.3.5.	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem (ang. Matrix Solid-Phase Dispersion, MSPD) .....	18
II.3.	BEZROZPUSZCZALNIKOWE METODY IZOLACJI I WZBOGACANIA ANALITÓW .....	18
II.3.1.	<i>Mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. Solid Phase Microextraction, SPME)</i> .....	18
II.3.1.1.	Zalety techniki SPME .....	19
II.3.1.2.	Wady techniki SPME .....	19
II.3.1.3.	Typy ekstrakcji techniką SPME .....	20
II.3.1.4.	Budowa aparatu do mikroekstrakcji.....	21
II.3.2.	<i>Optymalizacja procesu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej</i> .....	22
II.3.2.1.	Pokrycie włókna.....	22
II.3.2.2.	Grubość filmu fazy stacjonarnej.....	23
II.3.2.3.	Typ prowadzenia ekstrakcji.....	23

II.3.2.4.	Mieszanie .....	24
II.3.2.5.	Objętość próbki .....	24
II.3.2.6.	Długość włókna.....	24
II.3.2.7.	Wartość pH.....	24
II.3.2.8.	Wysalanie.....	25
II.3.2.9.	Temperatura ekstrakcji .....	25
II.3.2.10.	Czas ekstrakcji.....	25
II.3.2.11.	Parametry desorpcji.....	25
II.3.2.12.	Dobór parametrów pracy chromatografu gazowego.....	26
II.3.3.	Zastosowanie techniki SPME.....	26
III.	ZAKRES I CEL ROZPRAWY DOKTORSKIEJ .....	28
IV.	CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	29
IV.1.	ODCZYNNIKI I APARATURA .....	29
IV.1.1.	Odczynniki.....	29
IV.1.2.	Aparatura.....	30
IV.2.	PREPARATYKA WŁÓKIEN SPME POKRYTYCH KRZEMIONKĄ MODYFIKOWANĄ GRUPAMI KETOIMINOWYMI .....	30
IV.2.1.	Charakterystyka włókna szklanego wykorzystanego do przygotowania włókna SPME.....	30
IV.2.2.	Oczyszczanie włókna i aktywacja jego powierzchni.....	31
IV.2.3.	Procedura przygotowania i modyfikacji powierzchni krzemionki.....	34
IV.2.4.	Charakterystyka krzemionki.....	35
IV.2.5.	Procedura przygotowania fazy stacjonarnej.....	39
IV.2.5.1.	Przygotowanie fazy metylowodoropolisiloksanowej.....	39
IV.2.5.2.	Przygotowanie roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej w acetonie.....	40
IV.2.5.3.	Przygotowanie roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej w dichlorometanie .....	41
IV.2.5.4.	Wykorzystanie dwóch rozpuszczalników organicznych.....	41
IV.2.5.5.	Przygotowanie roztworu fazy polidimetylosiloksanowej (OV1) .....	42
IV.2.6.	Procedura immobilizacji sorbentu na powierzchni włókna kwarcowego .....	43
IV.2.6.1.	Procedura nanoszenia sorbentu z wykorzystaniem fazy metylowodoropolisiloksanowej .....	43
IV.2.6.2.	Procedura nanoszenia sorbentu z wykorzystaniem fazy polidimetylosiloksanowej (OV1) .....	44
IV.2.6.3.	Montaż i kondycjonowanie włókna SPME.....	46
IV.3.	IDENTYFIKACJA ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH WCHODZĄCYCH W SKŁAD LOTNEJ FRAKCJI TUSZU ŚWIATŁOUTWARDZALNEGO, Z KTÓREGO WYKONANO KOLOROWY NADRUK PŁYTY DVD .....	48
IV.3.1.	Metodyka procesu zatężania związków organicznych z fazy gazowej do fazy stałej.....	48
IV.3.2.	Analiza zaadsorbowanych związków organicznych za pomocą chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo jonizacyjnym .....	49
IV.3.2.1.	Analiza z zastosowaniem włókna SPME z krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi .. .....	49
IV.3.2.2.	Analiza z zastosowaniem komercyjnego włókna PDMS.....	50
IV.3.3.	Analiza składników tuszu światło utwardzalnego z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detektorem masowym.....	52

IV.3.4. Porównanie parametrów retencyjnych wzorców z parametrami wstępnie zidentyfikowanych związków organicznych.....	61
IV.3.4.1. Sporządzenie wzorców .....	61
IV.3.4.2. Analiza wzorców .....	62
IV.3.4.2.1 ε-kaprolakton .....	62
IV.3.4.2.2 Monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ).....	63
IV.3.4.2.3 2-fenoksyetanol.....	65
IV.3.4.2.4 2,4,6-trimetylobenzaldehyd.....	67
IV.3.4.2.5 Akrylan fenylowy glikolu etylowego.....	69
IV.3.4.2.6 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenol (BHT).....	71
IV.3.4.2.7 Benzofenon .....	73
IV.4. CHARAKTERYSTYKA I TOKSYCZNOŚĆ ZIDENTYFIKOWANYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH ....	75
IV.4.1. Toksyczność ε-kaprolaktonu.....	75
IV.4.1.1. Toksyczność monoeteru metylowego hydrochinonu (MEHQ).....	76
IV.4.1.2. Toksyczność 2-fenoksyetanolu .....	76
IV.4.1.3. Toksyczność 2,4,6 – trimetylobenzaldehydu .....	77
IV.4.1.4. Toksyczność akrylanu fenylowego glikolu etylowego .....	77
IV.4.1.5. Toksyczność 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu (BHT).....	78
IV.4.1.6. Toksyczność benzofenonu .....	78
IV.4.1.7. Optymalizacja warunków procesu analizy związków organicznych wchodzących w skład tuszu światłoutwardzalnego .....	79
IV.4.1.8. Parametry pracy chromatografu gazowego.....	80
IV.4.2. Przygotowanie roztworu wzorcowego.....	80
IV.4.3. Proces optymalizacji czasu ekspozycji włókna.....	80
IV.4.4. Proces optymalizacji temperatury adsorpcji.....	81
IV.4.5. Proces optymalizacji czasu desorpcji.....	82
IV.4.6. Wytrzymałość włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi .....	83
IV.5. OZNACZANIE ILOŚCIOWE ZAWARTOŚCI MEHQ W PRÓBCE KOLOROWEGO NADDRUKU NA PŁYTCIE DVD.....	83
V. DYSKUSJA WYNIKÓW .....	85
VI. PODSUMOWANIE .....	89
VII. SUMMARY .....	91
VIII. LITERATURA.....	92
IX. SPIS TABEL .....	96
X. SPIS RYSUNKÓW .....	97
XI. DOROBEK NAUKOWY.....	99
XII. SPIS AKRONIMÓW .....	101

## I. WSTĘP

Rozwój współczesnej analityki chemicznej zmierza w kierunku oznaczania coraz to niższych zawartości substancji analizowanych w coraz to mniejszej objętości próbki. W analizie mikrośladowych ilości analizowanych związków istotny jest pierwszy etap procesu analitycznego czyli etap prawidłowego przygotowania próbki do analizy. Wiąże się to z wyodrębnieniem analitów z matrycy i ich zateżeniem do poziomu umożliwiającego ich oznaczenie.

Wśród szeregu metod przygotowania próbek do analizy chromatograficznej, szczególną uwagę zwraca mikroekstrakcja do fazy stałej (*ang. Solid Phase Microextraction, SPME*), która jest coraz powszechniej stosowana w codziennej praktyce laboratoryjnej ze względu na szybkość, dokładność, odtwarzalność, a przy doborze odpowiedniego włókna, także - selektywność. SPME to relatywnie nowa technika izolacji związków z matrycy stałej, ciekłej lub gazowej. Opracowana przez Pawliszyna u progu lat dziewięćdziesiątych jest obecnie błyskawicznie rozwijającą się techniką.

Krzemionka, jako podstawowy materiał stosowany w chromatografii, ekstrakcji, filtracji, dzięki obecności w swojej strukturze grup hydroksylowych, pozwala na różnorodne modyfikacje swojej powierzchni. W przypadku SPME czułość stosowanej metody zależy od rodzaju włókna, a także jego objętości (grubości). Na rynku dostępnych jest szereg włókien, z których najczęściej stosowane to: polidimetylosiloksan (PDMS), poliakrylan (PA), polidimetylosiloksan/diwinylbenzen (PDMS/DVB), polidimetylosiloksan/carboxen (PDMS/Carboxen). Włókna SPME znalazły szerokie zastosowanie w analityce chemicznej do wyodrębniania i wzbogacania analitów z próbek żywności, zanieczyszczeń występujących w środowisku czy farmaceutykach. Analitycy zwracają jednak uwagę na słabe strony tych włókien, a zwłaszcza: niską stabilność termiczną, krótki czas życia oraz małą selektywność, która jest zależna od grubości i rodzaju pokrycia włókna. W związku z tym, trwają ciągłe badania w poszukiwaniu coraz to lepszych, bardziej selektywnych i trwałych termicznie włókien SPME. W ostatnich latach w literaturze naukowej pojawiło się wiele propozycji rozwiązania tych problemów poprzez przygotowanie nowych włókien, zawierających na powierzchni między innymi modyfikowane chemicznie związane fazy stacjonarne oparte na technice sol-żel, charakteryzujące się odpowiednimi właściwościami adsorpcyjnymi. Charakteryzują się one wysoką stabilnością termiczną, długim czasem życia, selektywnością i wysokim odzyskiem badanych związków.

Prezentowana praca doktorska poświęcona jest preparatyce włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi, opracowaniu techniki nanoszenia sorbentu na uprzednio oczyszczone włókno szklane oraz optymalizacji warunków analizy jakościowej i ilościowej związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji pochodzącej z kolorowych nadruków na płytach DVD.

## II. CZĘŚĆ LITERATUROWA

### *II.1. Metody przygotowania próbek*

#### *II.1.1. Etapy procesu analitycznego*

Proces analityczny składa się z kilku etapów, których poprawny przebieg ma duży wpływ na wynik analizy. Etapy procesu analitycznego to kolejno: pobieranie próbek, transport i przechowywanie próbek, przygotowanie próbek do analizy, wykonanie pomiaru, zgromadzenie, opracowanie i interpretacja wyników oraz wysnucie odpowiednich wniosków. Na każdym z tych etapów może zostać popełniony błąd, który zaważy na wyniku końcowym analizy. Najtrudniejszym etapem procedury analitycznej jest przygotowanie próbki do analizy. Postępowanie analityka w tym wypadku zależy od rodzaju analizowanych substancji i rodzaju matrycy [1].

#### *II.1.2. Pobieranie próbek*

Pobieranie reprezentatywnej próbki to jedno z ważniejszych zadań analityka. Błędy popełnione na tym etapie procedury analitycznej będą niemożliwe do skorygowania w dalszym etapie analizy. Próbka reprezentatywna dla danego obiektu to „porcja materiału pobrana z badanego obiektu i wyselekcjonowana w taki sposób, że wykazuje istotne właściwości charakterystyczne dla całego układu”. Proces pobierania, zabezpieczania, transportu i przechowywania próbki powinien być przeprowadzony z dużą starannością, aby zapobiec ewentualnemu zanieczyszczeniu materiału, utracie lotnych składników próbki czy też niepożądanym reakcjom ze składnikami powietrza. Narażenie próbki na działanie promieniowania nadfioletowego i wysokich temperatur może doprowadzić do jej rozkładu i degradacji [1].

Do pobierania próbek gazów używa się worków teflonowych lub pipet gazowych, których napełnianie odbywa się poprzez wyparcie cieczy gazem. Innym sposobem pobierania próbek zanieczyszczeń powietrza, jest wykorzystanie zestawu aspiracyjnego, wyposażonego w odpowiedni kolektor, który działa na zasadzie:

- kondensacji zanieczyszczeń w pułapkach wymrażających;
- adsorpcji zanieczyszczeń na powierzchni adsorbentów stałych tj. węgla aktywnym lub polimerze porowatym;
- absorpcji zanieczyszczeń w roztworach pochłaniających.

Próbki cieczy pobierane są w ściśle określony sposób, regulowany odpowiednimi normami, w zależności od rodzaju badanego obiektu. Przechowywane są w specjalnych opakowaniach, w warunkach obniżonej temperatury oraz z dodatkiem substancji zapobiegających reakcjom biochemicznym.

W przypadku ciał stałych, które zaliczają się do materiałów niehomogenicznych pojawiają się pewne trudności w poborze próbki reprezentatywnej. Należy poddać je homogenizacji poprzez rozdrobnienie mechaniczne w młynku lub moździerzu. W związku z tym, iż należy zebrać sproszkowane próbki ciała stałego są

łatwiejsze do porcjowania oraz lepiej rozpuszczalne - większe rozdrobnienie będzie za sobą niesło pomniejszenie błędu pomiarowego [1, 2].

Opracowanie dokładniejszych metod pobierania próbek pozwoliłoby w znacznym stopniu na wyeliminowanie błędu pomiarowego, wynikający z niewłaściwego przebiegu tego etapu analizy.

### ***II.1.3. Transport i przechowywanie próbek***

Od momentu pobrania do wykonania pomiaru, właściwości próbek mogą ulec zmianie na skutek zachodzących w nich procesów chemicznych, fizycznych czy też biologicznych. Próbka staje się niereprezentatywna, a oznaczane parametry mogą różnić się od rzeczywistych.

Do najczęstszych reakcji chemicznych jakim mogą ulegać substancje znajdujące się w próbce można zaliczyć:

- reakcje utleniania, którym ulegać mogą jony metali na niższym stopniu utlenienia (np. jony żelaza), związki nieorganiczne (np. cyjanki, jodki) oraz związki organiczne pod wpływem tlenu rozpuszczonego w próbce bądź dostarczanego z powietrza;
- reakcje redukcji, na które podatne są jony chromu(VI), w obecności niektórych związków organicznych;
- reakcji chlorowania ulegają związki organiczne obecne w próbce tworząc związki chlorowcopochodne;
- zmiana pH oraz twardości próbek wody spowodowana absorpcją CO<sub>2</sub> z powietrza i wytrącaniem się węglanu wapnia;
- strącanie i współstrącanie, w wyniku którego niektóre składniki próbki mogą tworzyć związki nierozpuszczalne we wodzie [1, 2].

Podczas transportu i magazynowania próbki może nastąpić zmiana jej składu, spowodowana zachodzącymi procesami fizykochemicznymi:

- dostęp powietrza atmosferycznego do próbki, w skład której wchodzi lotne związki organiczne, może doprowadzić do ulotnienia się substancji i zmiany stężenia analitu;
- jony metali, metale w postaci koloidalnej lub niektóre związki organiczne mogą ulegać adsorpcji na ściankach naczynia lub cząstkach zawiesiny wchodzącej w skład próbki.

Składniki próbki mogą także ulegać reakcjom biodegradacji. Rozkład substancji następuje z udziałem bakterii lub enzymów zarówno w warunkach beztlenowych jak i w obecności tlenu. Aktywność metaboliczna mikroorganizmów może wpływać na stopień utlenienia substancji obecnych w próbce [1, 2].

Wobec powyższych, bardzo istotnym elementem toku analitycznego jest dobranie optymalnej metody konserwacji, transportu i magazynowania, która umożliwi zmniejszenie ryzyka wystąpienia niekorzystnych procesów i zjawisk zachodzących w obrębie składników próbki [1, 2].

#### ***II.1.4. Przygotowanie próbek***

Przygotowanie próbek do analizy to bardzo czasochłonny i wymagający dużego nakładu pracy etap procesu analitycznego. Tylko nieliczne próbki mogą zostać poddane analizie bez wstępnej obróbki. Znakomita większość z nich wymaga przeprowadzenia kilku operacji, zanim poddane zostaną analizie wybraną techniką pomiarową. Niskie stężenie analitu, bardzo złożony skład próbki oraz bogata matryca wymagają poczynienia pewnych kroków w procesie przygotowania próbki do analizy:

- wydzielanie, rozdzielanie i zatężanie analitu – w analizie próbek naturalnych, których rozbudowana matryca może utrudniać prawidłowe wykonanie pomiaru, konieczne jest oddzielenie analitu od substancji towarzyszących. Proces rozdzielania stosuje się w celu otrzymania składników próbki w czystej postaci, zatężanie natomiast to przeniesienie analitu z fazy o dużej objętości do roztworu o małej objętości [1];
- przeprowadzenie próbek do roztworu – dokonuje się tego przy pomocy rozpuszczania lub roztwarzania próbki [2];
- usuwanie lub maskowanie substancji interferujących – substancje przeszkadzające, wchodzące w skład próbki mogą zakłócać przebieg analizy. W celu wyeliminowania oddziaływań interferencyjnych należy oddzielić substancję przeszkadzającą od analitu lub ją zamaskować wprowadzając do próbki substancję dodatkową znoszącą wpływ [2];
- derywatyzacja – anality wchodzące w skład próbek środowiskowych często występują na poziomie śladowym. Bogata matryca próbki, o poziomie równym lub wyższym od poziomu analitu, może utrudnić bądź uniemożliwić wykonanie oznaczenia. W celu zwiększenia czułości oznaczeń, analit przekształca się w pochodną, nadając mu tym samym korzystniejsze właściwości fizyczne i chemiczne [2].

#### ***II.1.5. Pomiar***

Metody analityczne umożliwiają uzyskanie informacji na temat składu ilościowego i jakościowego badanej próbki. Rejestrowany w trakcie pomiaru sygnał analityczny jest odpowiedzią na zachodzące w próbce procesy i reakcje chemiczne. Przy wyborze odpowiedniej techniki pomiarowej analityk powinien kierować się właściwościami badanej próbki, rodzajem matrycy próbki, precyzją, dokładnością, selektywnością oznaczeń, czułością i zakresem liniowości metody, a także możliwością rozkładu próbki oraz kosztem i czasem trwania analizy [1, 2].

#### ***II.1.6. Opracowanie wyników***

Wyniki uzyskane z pomiarów należy poddać obróbce. Mierzone wielkości obarczone są błędami przypadkowymi, systematycznymi i grubymi. Rozkład błędów przypadkowych określa prawdopodobieństwo wystąpienia wyników zbliżonych do wartości rzeczywistej. Odchylenie standardowe jest miarą precyzyjności i odtwarzalności uzyskanych wyników pomiarowych [1].

### II.1.7. Wnioski

Wysnuć odpowiednich wniosków na podstawie uzyskanych wyników pomiarowych jest ostatnim etapem procedury analitycznej.

## II.2. Przygotowanie próbek do analizy chromatograficznej

Szeroko stosowane techniki chromatograficzne pozwalają na oznaczanie i rozdzielanie związków organicznych w próbkach o złożonych matrycach. Mikroskładniki próbki podczas oznaczania ilościowego i jakościowego mogą:

- wykazywać silne oddziaływania z badanym związkiem;
- doprowadzić do mechanicznego uszkodzenia kolumny chromatograficznej;
- zawierać wodę, której obecność wpływa na wartości retencyjne kolumny i pracę detektora [3].

Do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych stosuje się kolumny wysokosprawne o małej średnicy. Wiąże się to z koniecznością dozowania próbek o małej objętości, rzędu kilku mikrolitrów. Optymalizacja procesu separacji wymaga by próbkę wyprowadzać na kolumnę w postaci wąskiego pasma chromatograficznego. Ponadto stężenie analitów w objętości badanej próbki powinno być wyższe od poziomu wykrywalności detektora. Bogata i rozbudowana matryca próbek środowiskowych uniemożliwia bezpośrednią analizę w ich naturalnym stanie skupienia. W większości powszechnie stosowanych metodach analitycznych wykorzystuje się próbki ciekłe i gazowe, z czym wiąże się całkowite bądź częściowe oddzielenie analitu od matrycy. Związki charakteryzujące się odpowiednią prężnością par izolowane są do fazy gazowej w sposób statyczny (*ang. HeadSpace, HS*) lub dynamiczny (*ang. Purge, P*). Analiza fazy nadpowierzchniowej w układzie statycznym odbywa się poprzez umieszczenie próbki w termostатовanym, szczelnie zamkniętym naczyniu zawierającym określoną objętość powietrza lub gazu. Pomiedzy próbką a nieruchomą fazą gazową ustala się stan równowagi termodynamicznej [1-3].

Poniższe równanie opisuje stan równowagi termodynamicznej dla badanego analitu:

$$C_L^0 V_L = C_G V_G + C_L V_L$$

Gdzie:

$C_L^0$  - początkowe stężenie analitu w próbce

$V_L$  - objętość próbki

$C_G$  – stężenie analitu w fazie gazowej

$V_G$  - objętość fazy gazowej

$C_L$  - stężenie analitu w fazie ciekłej po ustaleniu stanu równowagi termodynamicznej

Próbki charakteryzujące się złożonym składem matrycy, niehomogeniczne, zawierające duże cząsteczki polimerów analizowane są w układzie dynamicznym. Analiza fazy nadpowierzchniowej w układzie nierównowagowym polega na doprowadzeniu do powierzchni próbki nowej porcji fazy gazowej. Proces odbywa się z wykorzystaniem odpowiednich naczyń umożliwiających maksymalne rozwinięcie kontaktu faz i ułatwiających wymianę masy [3].

Analiza fazy nadpowierzchniowej nad cienkim filmem cieczy (*ang. Thin Layer HeadSpace, TLHS*) charakteryzuje się poprawą warunków transportu oznaczanych związków do fazy gazowej, obniżeniem granicy oznaczalności analitów poprzez wykorzystanie cienkiego filmu próbki w bezpośrednim kontakcie z płynącym gazem [3].

Technika wymywania za pomocą strumienia gazu, umożliwia izolację analitów z całej objętości próbki, a rozwinięcie powierzchni na granicy faz oraz ciągłe usuwanie analitów znad próbki czyni proces efektywniejszym. Zjawisko przenikania analitów przez polimerowe membrany wykorzystuje się przy analizie próbek ciekłych i gazowych. Polega ono na przemieszczaniu się analitów zgodnie z gradientem stężeń, na skutek procesu rozpuszczania lub dyfuzji. Próbka oraz faza gazowa rozdzielone są membraną polimerową przepuszczalną tylko dla analitu, co pozwala wyizolować związki z bogatej matrycy do próbki o uproszczonym składzie [2, 3].

Anality wyizolowane do fazy gazowej charakteryzują się dość niskim stężeniem, więc niemożliwe jest ich bezpośrednie zadozowanie na kolumnę chromatograficzną. W celu zateżenia próbki stosuje się trzy techniki wzbogacania analitów:

- wymrażanie;
- sorpcję w małej objętości rozpuszczalnika;
- adsorpcję do fazy stałej – sorbentu [2, 3].

Rozwój technik izolacji analitów z próbek o bogatych matrycach zmierza do zwiększenia automatyzacji, skrócenia czasu przygotowania próbki, obniżenia granicy oznaczalności oraz wyeliminowania wykorzystania rozpuszczalników. W tym celu, tak powszechnie dotychczas stosowana metoda izolacji do fazy ciekłej zastępowana jest ekstrakcją do fazy stałej, która wykorzystuje zjawisko adsorpcji analitów na powierzchni sorbentu. Cząsteczki zatrzymywane są na powierzchni ciała stałego dzięki siłom van der Waals'a, oddziaływaniem dipol-dipol, wiązaniom wodorowym lub wiązaniom chemicznym. Ekstrakcja do fazy stałej umożliwia izolację związków organicznych o dużej lotności i polarności z matrycy ciekłej bądź gazowej. Proces ekstrakcji odbywa się na dwa sposoby:

- statyczny, który prowadzi się poprzez umieszczenie sorbentu w określonej objętości próbki do czasu ustalenia równowagi termodynamicznej;
- dynamiczny, polegający na przepuszczaniu próbki przez nieruchome złożo sorbentu [3].

Elucję ze złoża dokonuje się za pomocą niewielkiej ilości rozpuszczalnika lub poprzez desorpcję w wysokiej temperaturze. Zaletą ekstrakcji do fazy stacjonarnej jest duża selektywność, możliwość zastosowania desorpcji termicznej, eliminując tym samym konieczność zastosowania rozpuszczalników. Wysoki stopień wzbogacenia i łatwość automatyzacji są atutami tej techniki [1-3].

## ***II.2.1. Przygotowanie próbek gazowych***

### *II.2.1.1. Pobieranie próbek bez zatężania*

Próbki gazu można analizować w stanie pierwotnym jeśli stężenie analitu jest wyższe od granicy oznaczalności detektora. Analizowany gaz pobiera się najczęściej do worków teflonowych zaopatrzonych w zawory. Próbkę dozowana jest na kolumnę za pomocą strzykawki [3].

### *II.2.1.2. Absorpcja analitów w cieczy*

W celu zatężenia analitu pochłania się go w specjalnej cieczy lub adsorbuje na sorbencie. Przy bardzo lotnych analitach koniecznym okazuje się schłodzenie rozpuszczalnika lub sorbentu. Do zatrzymania analitów w cieczy wykorzystuje się płuczki szklane z płytką porowatą lub z bełkotką, umożliwiające wymianę warstwy cieczy w miejscu kontaktu z fazą gazową. Dobór odpowiedniego rozpuszczalnika odbywa się według określonych kryteriów:

- obojętność rozpuszczalnika wobec analitu;
- zdolność rozpuszczania analitu;
- optymalna lotność rozpuszczalnika, uniemożliwiająca odparowanie w trakcie zatężania;
- lepkość i wysoka czystość rozpuszczalnika [3].

### *II.2.1.3. Adsorpcja analitów na sorbencie*

Adsorpcja zanieczyszczeń powietrza lub innych gazów odbywa się z wykorzystaniem rurek szklanych wypełnionych adsorbentem:

- węglem aktywnym;
- sadzą grafityzowaną;
- polimerem porowatym;
- żelem krzemionkowym;
- żelem krzemionkowym z chemicznie związanym łańcuchem alilowym;
- zeolitem;
- cząsteczkowymi sitami węglowymi.

Przy zatężaniu analitów z powietrza stosuje się adsorbenty hydrofobowe, ponieważ wykorzystanie adsorbentów hydrofilowych niesie za sobą ryzyko zatrzymania wilgoci na ich powierzchni i zmniejszenia pojemności sorpcyjnej złoża, co uniemożliwi sorpcję analitów oraz wykonanie oznaczenia [3].

Silne właściwości sorpcyjne mają adsorbenty węglowe, których powierzchnia właściwa sięga  $2000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Znacznie lepszymi adsorbentami są sadze grafityzowane, których homogeniczna powierzchnia wynosi około  $100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , a desorpcja przebiega zdecydowanie szybciej i łatwiej niż z adsorbentów węglowych. Związki organiczne o dużych masach cząsteczkowych adsorbowane są na sadzach o małej powierzchni, natomiast sadze

o większej powierzchni właściwej znajdują zastosowanie w zateżaniu związków chemicznych zawierających w cząsteczce osiem atomów węgla [3].

Politlenki 2,6-difenylo-p-fenylenowe charakteryzują się dużą odpornością termiczną, dlatego znalazły zastosowanie w analizie mało lotnych niepolarnych substancji z próbek środowiskowych powietrza i wody [3].

Wybierając sorbent należy kierować się jego właściwościami, zdolnością do adsorpcji konkretnego rodzaju analitów, odpornością termiczną i polarnością. Desorpcja analitu z powierzchni sorbentu odbywa się w podwyższonej temperaturze lub przy użyciu rozpuszczalnika. Stosowany eluent powinien być niewidoczny na chromatogramie i nie przeszkadzać w analizie lotnych składników próbki. Desorpcja rozpuszczalnikiem ma swoje minusy. Niemożliwością jest osiągnięcie w praktyce 100% odzysku analitów, dlatego coraz częściej stosuje się desorpcję termiczną, która pozwala na całkowitą desorpcję analizowanej substancji ze złoża i bezpośrednio wprowadzenie go na kolumnę chromatograficzną [3].

### ***II.2.2. Przygotowanie próbek ciekłych***

Przygotowanie próbek ciekłych, których matryca jest rozpuszczalnikiem organicznym nie należy do szczególnie skomplikowanych. próbki rozcieńczone poddaje się procesowi zateżania poprzez oddestylowanie rozpuszczalnika. Proces ten wykonuje się w warunkach obniżonego ciśnienia i w atmosferze gazu obojętnego, aby zapobiec rozkładowi termicznemu analitu. Przygotowanie próbek z matrycą wodną do analizy chromatograficznej wymaga zastąpienia wody rozpuszczalnikiem organicznym [1, 3].

#### *II.2.2.1. Ekstrakcja ciecz-ciecz*

Ekstrakcja ciecz-ciecz to najstarsza i najbardziej znana technika przygotowania próbek z matrycą wodną, która bazuje na podziale analitu pomiędzy wodę a niemieszający się rozpuszczalnik organiczny. Zaletami tego typu ekstrakcji są prostota, szybkość wykonania i możliwość zautomatyzowania, natomiast wadą jest konieczność stosowania dużej ilości rozpuszczalników organicznych oraz mały współczynnik zateżania poszczególnych związków. Wykorzystanie wyłącznie rozpuszczalników wysokiej czystości o małej rozpuszczalności w wodzie podnosi efektywność całego procesu ekstrakcji. Coraz częściej stosowane są aparaty do ekstrakcji ciągłej ze względu na znacznie mniejsze zużycie drogich odczynników i skrócenie czasu trwania analizy, a co za tym idzie obniżenia kosztów [3].

#### *II.2.2.2. Ekstrakcja ciecz – gaz*

Ekstrakcja ciecz-gaz to metoda przygotowania próbek do analizy, wykorzystująca fakt, że substancje lotne znajdujące się w fazie ciekłej, obecne są także w fazie gazowej nad powierzchnią cieczy. Analizie poddaje się fazę nadpowierzchniową będącą w równowadze statycznej bądź dynamicznej z próbką [3].

W analizie fazy nadpowierzchniowej wykorzystuje się techniki statyczne i dynamiczne:

- odpędzanie i wylapywanie (*ang. Purge and Trap*);
- ciągły przepływ analizowanej cieczy w postaci warstwy w strumieniu gazu (*ang. Thin Layer HeadSpace, TLHS*).

W metodzie statycznej, analizie poddawane są substancje znajdujące się w nieruchomej fazie gazowej nad powierzchnią cieczy. Stosunek stężeń poszczególnych składników próbki w fazie gazowej i w fazie skondensowanej zależy od lotności oraz stopnia podziału analitów pomiędzy te dwie fazy. Wzrost temperatury fazy skondensowanej powoduje wzrost stężenia analitu w fazie nadpowierzchniowej. Dynamiczna technika analizy fazy nadpowierzchniowej opiera się na przepuszczaniu obojętnego gazu bądź powietrza przez próbkę ciekłą. Substancje o małej lotności wynoszone są przez gaz z roztworu do fazy nadpowierzchniowej, a następnie oznaczane wybraną metodą analityczną. Oznaczanie śladowych ilości lotnych składników próbki wodnej odbywa się z zastosowaniem ciągłego przepływu analizowanej cieczy w postaci cienkiej warstwy w przeciwnym kierunku gazu. Stosowanie tej techniki umożliwia ciągłe wyodrębnianie i zateżanie lotnych analitów. Technika analizy fazy nadpowierzchniowej ułatwia oddzielenie substancji oznaczanej od matrycy oraz bezpośrednie wprowadzenie analitu na kolumnę chromatograficzną [3].

Wadą tej metody jest:

- niska czułość;
- możliwość oznaczania tylko substancji o dużej lotności;
- złożona procedura analizy ilościowej [3].

#### II.2.2.3. Ekstrakcja ciecz - ciało stałe

Ekstrakcja w układzie ciecz – ciało stałe (*ang. Solid Phase Extraction, SPE*) mało lotnych substancji z matrycy wodnej charakteryzuje się prostotą, ekonomią i szybkością wykonania. Technika ta umożliwia oddzielenie analitu od matrycy wodnej i jego zateżenie. Polega na przepuszczeniu analizowanej próbki cieczy, o określonej objętości, przez złożę sorbentu. Złożę przemywa się wybranym rozpuszczalnikiem w celu usunięcia zanieczyszczeń, a zaadsorbowane substancje wymywa niewielką ilością eluentu i analizuje konkretną metodą analityczną. Desorpcja analitu odbywa się także pod wpływem wysokiej temperatury dozownika chromatografu gazowego. Zdesorbowana w ten sposób substancja, razem z gazem nośnym trafia na kolumnę chromatograficzną. Metoda desorpcji termicznej może być zastosowana tylko wobec substancji stabilnych termicznie i dość słabo związanych ze złożem sorbentu. Ograniczeniem jest wykorzystanie sorbentów odpornych na wysokie temperatury, co utrudnia dobranie odpowiedniego wypełnienia kolumny adsorpcyjnej [3].

Technika ta wykorzystuje trzy rodzaje sorbentów:

- żele krzemionkowe np. oktadecyl związany na powierzchni krzemionki lub Florisil;
- polimery np. styrenowo-diwinylbenzylowy, akrylowe, etylowinylbenzen-diwinylbenzen;
- węgle aktywne np. sadze;
- zeolity.

Ekstrakcja ciecz – ciało stałe znajduje zastosowanie w izolacji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z matrycy wodnych z wykorzystaniem adsorbentów typu C<sub>18</sub> i ZMS – 5. Porapak Q, Tenax GC czy XAD używane są w celu wyodrębnienia związków fosforoorganicznych, chloroorganicznych z próbek środowiskowych. Adsorbent Florisil znalazł szerokie zastosowanie w oddzielaniu i zateżaniu pestycydów

chloroorganicznych i chlorowanych bifenyli z matryc organicznych oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z próbek ropy naftowej [1, 3].

#### II.2.2.4. Ekstrakcja kroplą rozpuszczalnika

Mikrostrzykawkę o pojemności kilku mikrolitrów, zawierającą kroplę rozpuszczalnika, wykorzystuje się w technice ekstrakcji kroplą rozpuszczalnika (*ang. Single Drop Extraction, SDE*). Rozpuszczalnik (ok. 2 $\mu$ l) zasysany jest do strzykawki, a igła wprowadzana jest do szczelnie zamkniętej fiolki z próbką środowiskową. Za pomocą tłoczka, formuje się na końcu igły kroplę rozpuszczalnika i wystawia ją na działanie fazy nadpowierzchniowej próbki. Kolejno, kropla rozpuszczalnika zasysana jest do strzykawki, a ekstrakt dozowany jest bezpośrednio na kolumnę chromatograficzną [3].

Efektywność ekstrakcji kroplą rozpuszczalnika zależy od:

- rodzaju użytego rozpuszczalnika;
- wielkości kropli oraz czasu ekspozycji jej na działanie fazy nadpowierzchniowej;
- temperatury próbki.

Technika ta może być stosowana do oznaczania jakościowego i ilościowego, podobnie jak ekstrakcja do fazy stacjonarnej [3].

#### II.2.2.5. Ekstrakcja ruchomym elementem sorpcyjnym (*ang. Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE*)

Ekstrakcja ruchomym elementem sorpcyjnym (*ang. Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE*) [4] polega na adsorpcji analitów do warstwy sorbentu osadzonego na elemencie sorpcyjnym zanurzonego w próbce.

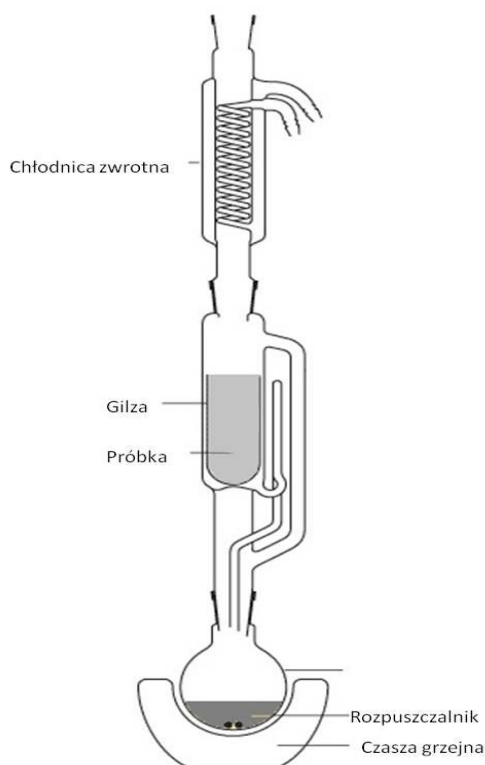
Czas ekstrakcji – mieszania – zależy od kilku czynników:

- objętość próbki;
- prędkość mieszania;
- wymiary elementu sorpcyjnego.

Za optymalny czas ekstrakcji przyjmuje się czas, poza którym dalsze prowadzenie procesu nie przynosi zwiększenia odzysku. Po zakończeniu ekstrakcji zaadsorbowane substancje desorbowane są w desorberze termicznym i wprowadzane do chromatografu gazowego. W przypadku analizy próbek naturalnych, żywności lub biologicznych element sorpcyjny przemywa się wodą destylowaną w celu usunięcia resztek cukrów, pektyn i innych składników próbki przeszkadzających w analizie chromatograficznej. Wydłużenie czasu desorpcji niesie za sobą ryzyko wystąpienia problemów z rozdziałem i rozmyciem pików chromatograficznych, dlatego ekstrakcja SBSE poprzedzona jest derywatyzacją składników próbki. Technika SBSE znajduje zastosowanie w oznaczaniu substancji lotnych z fazy nadpowierzchniowej próbek kawy, herbaty czy napojów chłodzących [3].

## II.2.3. Przygotowanie próbek stałych

### II.2.3.1. Ekstrakcja w aparacie Soxhleta



Rysunek 1. Schemat budowy aparatu Soxhleta [2]

Aparat Soxhleta (rys. 1) składa się z trzech podstawowych elementów: kolby kulistej, ekstraktora i chłodnicy zwrotnej. Gilzę wykonaną z porowatej bibuły, wypełnioną analizowaną próbką, umieszcza się w ekstraktorze, napełnionym odpowiednim rozpuszczalnikiem. Podczas ogrzewania kolby, pary rozpuszczalnika kierowane są boczną rurką szklaną do chłodnicy zwrotnej, gdzie ulegają skropleniu i spływają do gilzy, penetrując próbkę. Wyodrębniony z próbki analit wraz z rozpuszczalnikiem przenoszony jest do kolby. Cykl ten powtarzany jest wielokrotnie, do uzyskania zamierzonego efektu [2, 3, 5].

Ekstrakcja w aparacie Soxhleta umożliwia uzyskanie wysokich odzysków, ale wiąże się to z długim czasem prowadzenia procesu, zużyciem dużych ilości rozpuszczalnika, wody chłodzącej aparat oraz energii elektrycznej. Zaletą tego procesu jest możliwość zbierania analitu razem z rozpuszczalnikiem w kolbie, co pozwala zaoszczędzić czas i uniknąć konieczności oddzielenia go od pozostałej mieszaniny poekstrakcyjnej, obecnej w gilzie. Proces ten znalazł zastosowanie w oznaczaniu zawartości tłuszczu w produktach żywnościowych i paszach dla zwierząt oraz pestycydów w glebie i osadach [2, 3].

#### II.2.3.1.1 Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (ang. Microwave Assisted Extraction, MAE)

Wyodrębnianie analitów z próbki odbywa się z wykorzystaniem zjawiska absorpcji energii mikrofalowej przez związki chemiczne [6]. Dostarczana do układu energia mikrofalowa generuje ruch jonów i dipoli w polu

elektromagnetycznym, który poprzez tarcie między cząsteczkami tworzy ciepło. Na efektywność procesu wpływają następujące czynniki:

- rodzaj rozpuszczalnika;
- temperatura;
- ciśnienie;
- czas ekstrakcji;
- efekt matrycowy;
- zawartość wody [2, 5].

Wraz ze wzrostem temperatury rośnie odzysk, którego maksimum zostaje osiągnięte po 20 minutowej ekstrakcji. Dalsze prowadzenie procesu może doprowadzić do rozpadu termicznego nietrwałych analitów. Obecność wody wpływa korzystnie na przebieg ekstrakcji, ponieważ jako rozpuszczalnik polarny przyspiesza ogrzewanie układu ekstrakcyjnego. Technika MAE jest bardzo efektywna, gdyż w porównaniu do ekstrakcji w aparacie Soxhleta pozwala osiągnąć lepsze rezultaty w krótszym czasie, przy użyciu mniejszej ilości rozpuszczalnika. Metoda MAE ogranicza się do stosowania tylko rozpuszczalników polarnych, niepolarne bowiem nie tworzą dipoli, więc nie absorbują promieniowania mikrofalowego [5]. Specyfika tej techniki wymaga chłodzenia naczynia reakcyjnego i oddzielenia analitu od mieszaniny ekstrakcyjnej. MEA stosuje się przy oznaczaniu średnio i trudno lotnych substancji z próbek gleby, nasion, pasz, osadów dennych i produktów żywnościowych [2, 3].

#### *II.2.3.2. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami – sonifikacja*

Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami [7] ma na celu zapewnienie bliskiego kontaktu cząsteczek próbki z cząsteczkami rozpuszczalnika. Sonifikację prowadzi się w łaźni wodnej, gdzie umieszcza się próbkę z rozpuszczalnikiem. Efektywność procesu zależy od różnicy stężeń analitu w próbce i rozpuszczalniku, gęstości rozpuszczalnika oraz wielkości ziaren próbki. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami zaliczana jest do technik szybkich i łatwych do wykonania, jednak odzysk analitu jest mniejszy w porównaniu do innych metod ekstrakcyjnych. Najważniejszą zaletą sonifikacji jest możliwość analizowania wielu próbek jednocześnie, wadą - konieczność oddzielenia ekstraktu od próbki po zakończeniu procesu [2, 3].

#### *II.2.3.3. Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym (ang. Supercritical Fluid Extraction, SFE)*

Substancja jest w stanie nadkrytycznym, wówczas gdy temperatura i ciśnienie są wyższe od temperatury i ciśnienia punktu krytycznego substancji. Powyżej punktu krytycznego zanika granica faz ciecz – gaz, a powstała faza wykazuje właściwości pośrednie pomiędzy właściwościami cieczy i gazu. W technice SFE płyn w stanie nadkrytycznym pełni rolę rozpuszczalnika, który dzięki swoim właściwościom ułatwia ekstrakcję związków organicznych z ciał stałych [2, 3, 5].

Płyn w stanie nadkrytycznym nie ulega kondensacji w wysokiej temperaturze, nie posiada menisku, charakteryzuje się dużą dyfuzywnością, małą lepkością i niewielkim napięciem powierzchniowym. Dzięki tym

właściwościom rozpuszczalnik wykazuje zdolność penetracji porów i przenikania matrycy z szybkością gazów, nie tracąc możliwości rozpuszczania właściwej dla cieczy [2, 3, 5].

Ekstrakcję techniką SFE można prowadzić na dwa sposoby:

- dynamiczny, gdzie płyn w stanie nadkrytycznym przepuszczany jest przez próbkę;
- statyczny, w którym płyn umieszczony jest w naczyniu z próbką, a następnie razem z analitem kierowany do odbieralnika.

Odbieranie analitów po ekstrakcji odbywa się na dwa sposoby:

- absorpcja analitów w roztworze pochłaniającym;
- adsorpcja analitów na powierzchni sorbentu [3].

Technikę ekstrakcji za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym [8] charakteryzuje wysoka selektywność, duża wydajność i skrócenie czasu trwania procesu, poprzez brak konieczności oddzielania ekstraktu od matrycy [3]. Możliwość stosowania niskich temperatur, redukcji ilości zużywanych rozpuszczalników i próbek oraz skróceniu czasu ekstrakcji technika SFE znalazła zastosowanie w izolacji polichlorowanych bifenyli, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, pestycydów oraz farmaceutyków [9] z próbek gleby, żywności i paszy.

#### *II.2.3.4. Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (ang. Accelerated Solvent Extraction, ASE)*

Technika ASE opiera się na wykorzystaniu popularnych rozpuszczalników w podwyższonej temperaturze rzędu 100-180°C oraz pod zwiększonym ciśnieniem do 140 atm [2]. Wzrost temperatury rozpuszczalnika powoduje zmniejszenie jego lepkości i napięcia powierzchniowego oraz wzrost współczynników dyfuzji. Prowadzenie procesu w tych warunkach ułatwia penetrację matrycy przez rozpuszczalnik, desorpcję związków, przyspiesza rozpuszczalność analitów oraz transfer masy [3].

Próbka stała umieszczona jest w stalowym naczyniu wypełnionym rozpuszczalnikiem. Wzrost temperatury powoduje wzrost ciśnienia w naczyniu reakcyjnym. Proces ekstrakcji, trwający od 5 do 10 minut, kończy się otwarciem zaworu i przeniesieniem ekstraktu do odbieralnika [3].

Do zalet techniki ASE należy zaliczyć:

- wysoki odzysk analitów;
- szybkość i prostota procesu ekstrakcji;
- niewielkie zużycie rozpuszczalników;
- odizolowanie matrycy od ekstraktu w trakcie procesu.

Wady procesu ASE to:

- konieczność zagęszczania i oczyszczania ekstraktu przed analizą;
- wysoki koszt budowy aparatury.

Technikę przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika można z powodzeniem wykorzystać do analizy związków organicznych z próbek produktów żywnościowych, gleby, osadów dennych oraz do wyodrębniania pestycydów, herbicydów, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, polichlorowanych bifenyli z kosmetyków oraz farmaceutyków [3, 5].

*II.2.3.5. Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem (ang. Matrix Solid-Phase Dispersion, MSPD)*

Technika ta wykorzystywana jest do ekstrakcji analitów z matryc stałych i półpłynnych. Próbka umieszczona jest w naczyniu razem z sorbentem, dokładnie mieszana, a następnie mieszanina reakcyjna przeniesiona zostaje do kolumny ekstrakcyjnej. Kilka porcji rozpuszczalnika przepuszcza się przez próbkę, a zebrany eluat poddaje analizie chromatograficznej.

Technikę MSPD stosuje się do wyodrębniania produktów metabolizmu leków z krwi oraz tkanek zwierzęcych, witamin, pestycydów, herbicydów z próbek warzyw i owoców [3, 10].

### ***II.3. Bezrozsączalnikowe metody izolacji i wzbogacania analitów***

#### ***II.3.1. Mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. Solid Phase Microextraction, SPME)***

Mikroekstrakcja do fazy stałej to metoda izolacji i wzbogacania analitów z próbek stałych, ciekłych i gazowych wprowadzona w 1990 roku przez Arthura i Pawliszyna [11]. Zyskuje coraz większą popularność wśród analityków bowiem staje się alternatywą dla konwencjonalnych metod przygotowania próbek środowiskowych [12-14], żywności [15-19], klinicznych lub farmaceutyków [20]. Metoda ta coraz częściej stosowana jest w oznaczaniu lotnych i średniolotnych związków organicznych w bogatych, różnorodnych matrycach. Wykorzystanie techniki SPME w analityce chemicznej umożliwia prawie całkowite wyeliminowanie rozpuszczalnika z procesu ekstrakcji.

W technice SPME używane są włókna krzemionkowe pokryte cienkim, polimerowym filmem fazy stacjonarnej lub fazy polimerowej z naniesionym sorbentem stałym. Preparatyka komercyjnych włókien SPME jest dość skomplikowana i kosztowna, stąd pomysł konstruowania włókien o pożądanych, selektywnych właściwościach w warunkach laboratoryjnych [23, 24]. Ekstrakcja techniką SPME odbywa się z wykorzystaniem cienkiego włókna kwarcowego z immobilizowanym na jego powierzchni materiałem sorpcyjnym. Przymocowane do tłoka mikrostrzykawki włókno, eksponowane jest na działanie badanej próbki ciekłej bądź fazy nadpowierzchniowej. Podział analitu pomiędzy matrycę a fazę stacjonarną następuje do czasu ustalenia się stanu równowagi termodynamicznej między fazami. Anality desorbowane są termicznie w komorze dozownika chromatografu gazowego. Razem z gazem nośnym, przenoszone są na kolumnę chromatograficzną, gdzie poddawane są separacji oraz identyfikacji za pomocą odpowiedniego detektora [3].

### II.3.1.1. Zalety techniki SPME

Technika przygotowania próbek metodą SPME zyskała uznanie wśród analityków dzięki:

- możliwości jednoczesnego pobierania, zateżnienia i oznaczania analitów, co w znacznym stopniu skraca czas trwania analizy, pozwala wyeliminować straty próbki oraz błędy popełnione podczas toku analitycznego;
- wysokiej czułości, co daje możliwość oznaczenia substancji na poziomie ppt;
- prostocie i szybkości wykonania analizy, nie wymagającej zastosowania skomplikowanych przyrządów, aparatów, narzędzi oraz precyzyjnych operacji;
- minimalizacji kosztów, poprzez zmniejszenie zużycia rozpuszczalników organicznych o dużej czystości. Włókna SPME mogą być użyte wielokrotnie, w zależności od warunków adsorpcji i desorpcji;
- niewielkim rozmiarom włókna SPME – mikrostrzykawka jest wielkości pióra, dzięki temu jest mobilna i stosowana do pobierania próbek środowiskowych;
- zastosowaniu techniki adsorpcji z fazy nadpowierzchniowej (*ang. HeadSpace, HS*), która umożliwia adsorpcję analitów nawet z bardzo bogatej matrycy;
- możliwości łączenia z innymi technikami analitycznymi. SPME najczęściej stosowane jest w połączeniu z chromatografem gazowym. Desorpcja analitów ze złoża odbywa się w komorze dozownika chromatografu gazowego. Spektrometr masowy lub Spektrometr Emisji Atomowej mogą także pracować w sprzężeniu z SPME, wówczas desorpcja analitów z sorbentu wywołana jest przechodzącym bezpośrednio przez włókno prądem elektrycznym lub energią laserową. Technika SPMR w połączeniu z wysokosprawną chromatografią cieczową (*ang. High-Performance Liquid Chromatography, HPLC*) wykorzystana jest w analizie związków niestabilnych termicznie;
- szerokiej gamie włókien z sorbentami umożliwiającymi zateżnienie różnych związków chemicznych z różnorodnych matryc [25, 26].

### II.3.1.2. Wady techniki SPME

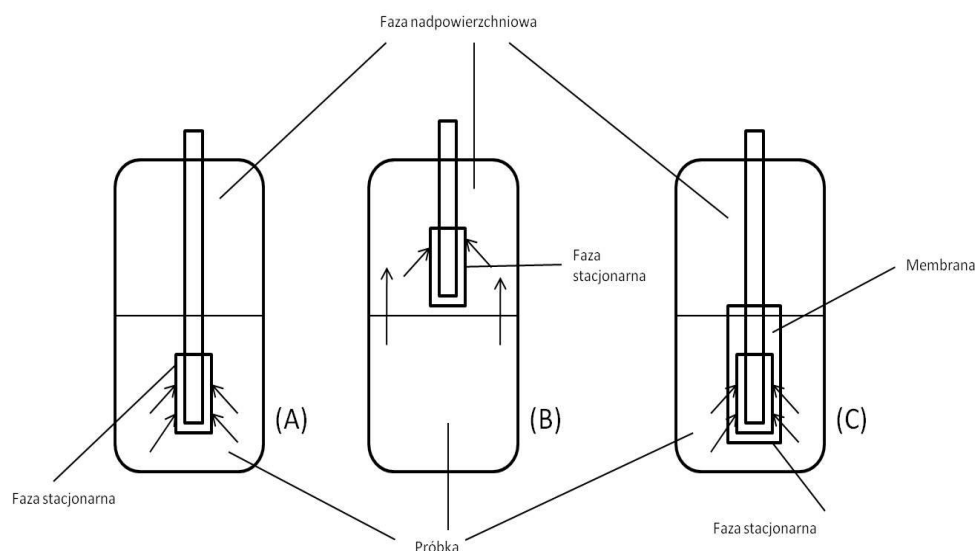
W porównaniu do innych metod przygotowania próbek, SPME posiada niewiele wad:

- w wyniku prowadzenia procesu desorpcji w wysokiej temperaturze faza stacjonarna oraz niestabilne termicznie składniki próbki mogą ulegać częściowej lub całkowitej degradacji, co prowadzi do pogorszenia się dokładności i precyzji analizy;
- adsorpcja związków trudno lotnych, pozostających na włóknie pomimo termicznej desorpcji może utrudniać wykonanie kolejnych analiz;
- związki humusowe i cząsteczki koloidalne, które uległy współadsorpcji modyfikują fazę stacjonarną, zmieniając jej właściwości [25, 26].

## II.3.1.3. Typy ekstrakcji techniką SPME

W zależności od umieszczenia włókna względem próbki, mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej może odbywać się na trzy sposoby:

- bezpośredni (*ang. Direct Immersion, DI*);
- adsorpcja z fazy nadpowierzchniowej (*ang. HeadSpace, HS*);
- adsorpcja z membraną ochronną [2, 5, 23, 25, 26,].



Rysunek 2. Typy ekstrakcji techniką SPME. (A) Ekstrakcja bezpośrednia, (B) ekstrakcja z fazy nadpowierzchniowej, (C) ekstrakcja z membraną ochronną

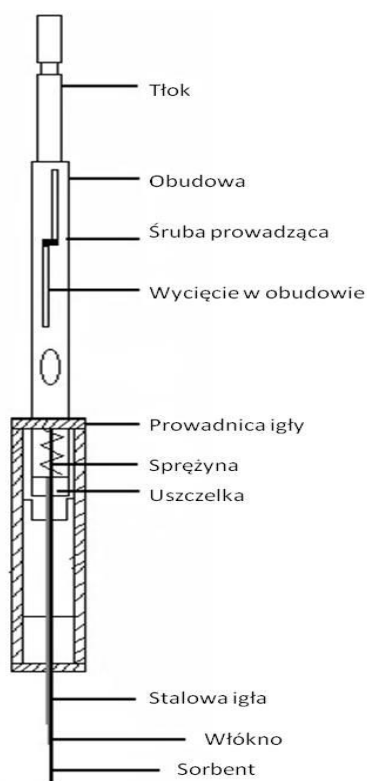
W technice DI – SPME (rys. 2A) włókno zostaje zanurzone w próbce, anality przenoszone są bezpośrednio z matrycy do fazy stacjonarnej immobilizowanej na włóknie [2, 5, 22, 25, 26].

Podczas ekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej (rys. 2B) anality przenoszone są z matrycy próbki do fazy gazowej, będącej w bezpośrednim kontakcie z próbką. Włókno ekspozowane jest na działanie fazy nadpowierzchniowej, co chroni pokrycie włókna przed uszkodzeniem wywołanym przez nietłone zanieczyszczenia obecne w matrycy próbki. Ten sposób prowadzenia ekstrakcji umożliwia dokonanie zmian w próbce bez ryzyka zniszczenia włókna. Przemieszczanie się analitów z próbki do pokrycia włókna odbywa się zdecydowanie szybciej niż w przypadku transportu analitów bezpośrednio z próbki do fazy stacjonarnej. Ze względu na to, że współczynniki dyfuzji w fazie gazowej są większe niż w fazie ciekłej, równowaga termodynamiczna w takim układzie ustala się w krótszym czasie [3].

Mikroekstrakcja z membraną ochronną (rys. 2C) znalazła zastosowanie przy zateżnieniu analitów średnio lotnych, wobec których nie można wykorzystać techniki adsorpcji z fazy nadpowierzchniowej [2, 5, 23, 25, 26].

### II.3.1.4. Budowa aparatu do mikroekstrakcji

W 1993 roku firma Supelco wykonała pierwsze komercyjne urządzenie do przeprowadzenia ekstrakcji techniką SPME.



Rysunek 3. Schemat budowy aparatu SPME

Włókno kwarcowe pokryte fazą stacjonarną umieszczone jest w cienkiej stalowej rurce, przymocowanej do specjalnego uchwyty, z budowy przypominającego mikrostrzykawkę. Naciśnięcie tłoka powoduje wysunięcie włókna ze stalowej igły [3].

Na mechanizm procesu SPME składają się dwa podstawowe etapy:

- adsorpcja analitów na powierzchni sorbentu;
- desorpcja analitów pod wpływem wysokiej temperatury w dozowniku chromatografu gazowego [5, 26].

Poprzez naciśnięcie tłoka z igły mikrostrzykawki, umieszczonej we fiolce, wysunięte zostaje włókno, które eksponowane jest na działanie składników próbki. Związki obecne w próbce ulegają podziałowi pomiędzy pokrycie włókna a matrycę. Ilość zaadsorbowanego analitu zależna jest od wartości stałych podziału analitu pomiędzy matrycę próbki a fazę nadpowierzchniową oraz pomiędzy sorbentem pokrywającym włókno a fazę nadpowierzchniową [3, 5, 26]. Po adsorpcji włókno wycofane zostaje do stalowej igły mikrostrzykawki [3].

Termiczna desorpcja analitów z pokrycia włókna jest drugim etapem procesu mikroekstrakcji. Igła z włóknem zostaje umieszczona w dozowniku chromatografu gazowego. Włókno z zaadsorbowanym analitem

eksponowane jest na działanie wysokiej temperatury, w wyniku której wartość współczynnika podziału związków osadzonych na sorbencie spada. Anality uwalniane są do fazy gazowej, razem z gazem nośnym transportowane na kolumnę chromatograficzną, ulegają rozdzielaniu i identyfikacji w oparciu o czas retencji [3].

### ***II.3.2. Optymalizacja procesu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej***

Wydajność procesu mikroekstrakcji uzależniona jest od wielu czynników, które wpływają na wartość współczynnika podziału analitów. Dobór odpowiednich parametrów ekstrakcji determinuje uzyskanie poprawnego wyniku analizy.

#### ***II.3.2.1. Pokrycie włókna***

Pokrycie włókna powinno charakteryzować się odpowiednimi właściwościami fizycznymi i chemicznymi, które pozwolą osiągnąć optymalną selektywność i efektywność procesu ekstrakcji. Dokonując wyboru fazy stacjonarnej należy kierować się zasadą „podobne rozpuszcza podobne”. Przy analizie niepolarnych związków chemicznych ekstrakcja zachodzi szybciej i skuteczniej do niepolarnego pokrycia włókna, niż do sorbentu o właściwościach polarnych [2, 25-27].

Firmy chemiczne mają w ofercie całą gamę komercyjnych włókien SPME (Tabela 1), różniących się właściwościami adsorpcyjnymi.

*Tabela 1. Właściwości i zastosowanie włókien o różnej polarności fazy stacjonarnej [2,25]*

Rodzaj fazy stacjonarnej	Polarność	Zastosowanie
Polidimetylosiloksan (PDMS)	Niepolarna	Niepolarne związki organiczne np.: Lotne związki organiczne Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne BTEX
Polidimetylosiloksan/ diwinylobenzen (PDMS/DVB)	Umiarkowanie polarna	Węglowodory aromatyczne, aminy aromatyczne, Lotne związki organiczne
Poliakrylan (PA)	Polarna	Polarne związki organiczne np.: Triazyny, Pestycydy fosforoorganiczne, Fenole
Carboxen/polidimetylosiloksan (CAR/PDMS)	Umiarkowanie polarna	Lotne związki organiczne Węglowodory
Carbowax/diwinylobenzen (CW/DVB)	Polarna	Polarne związki organiczne np.: Alkohole, Ketony, Związki nitroaromatyczne

Włókna SPME znalazły zastosowanie w różnych dziedzinach analityki chemicznej. Powstał więc pomysł konstruowania ich w warunkach laboratoryjnych, zyskując tym samym narzędzie o pożądanых właściwościach adsorpcyjnych.

Włókno SPME z naniesioną warstwą polianiliny zostało wykorzystane do oznaczania ftalanów obecnych w próbkach wody powierzchniowej z południa Chin. Xiang Li i współpracownicy dokonali elektrochemicznej modyfikacji włókna stalowego, pokrywając go cienką warstwą polianilinowego filmu [28]. Strzykawka wykonana w warunkach laboratoryjnych została zaadaptowana do celów SPME. Bagheri i współpracownicy opracowali metodę elektropolimeryzacji cienkiego filmu polianiliny na platynowym pręcie, który wykorzystany został jako włókno SPME do zateżania i oznaczania fenoli w próbkach wody [29].

Technika zol-żel to dość szeroko stosowana metoda przygotowania włókna SPME, która daje możliwość utworzenia chemicznie związanej i porowatej fazy stacjonarnej naniesionej na powierzchnię włókna kwarcowego. Technologia ta została wykorzystana do przygotowania pokrycia włókna z polidimetylosiloksanu (PDMS) [30-32], eteru koronowego [33-35], n-oktylotrietoksyilanu [36], fulerenów [37], oraz polietyloglikolu [38, 39] do celów SPME. Elektrochemiczna polimeryzacja została użyta także do preparatyki włókna z wykorzystaniem polimerów takich jak polipyrrol [40, 41] lub polianilina [42, 43]. Cienkie warstwy tych materiałów nanoszono na powierzchnię platynowego, stalowego lub srebrnego prętu. Literatura specjalistyczna opisuje wykorzystanie anodyzowanego prętu aluminiowego [44] lub cynkowego [45] jako nowego włókna SPME do zateżania i izolacji niektórych związków organicznych z próbek ciekłych i gazowych. Pokrycie włókna pod postacią chlorku miedzi [46] i siarczku miedzi [47] uzyskane dzięki modyfikacji miedzianego drutu okazało się bardzo skuteczne przy ekstrakcji lotnych amin i alkoholi alifatycznych z próbek wodnych i gazowych.

W celu oznaczenia zanieczyszczeń powietrza, coraz częściej stosuje się włókna pokryte mieszaną, porowatą fazą stacjonarną taką jak carboxen/polidimetylosiloksan (Car/PDMS) lub polidimetylosiloksan/diwinylobenzen (PDMS/DVB). Pokrycia te wykazują większą skuteczność niż włókna pokryte ciekłą fazą stacjonarną [48], zwłaszcza w przypadku analizy cząsteczek o małej masie molekularnej. Zastosowanie włókien pokrytych fazą stacjonarną do celów ilościowego i jakościowego oznaczania zanieczyszczeń w próbkach owoców [49], żywności [50] oraz mleka [51] zostało opisane w literaturze fachowej.

#### *II.3.2.2. Grubość filmu fazy stacjonarnej*

Grubość warstwy fazy stacjonarnej pokrywającej włókno SPME wpływa na czułość metody i czas ekstrakcji. Wykorzystanie fazy stacjonarnej o dużej grubości filmu wiąże się ze znacznym wydłużeniem czasu sorpcji, a tym samym czasu trwania całej analizy. Gruba warstwa fazy stacjonarnej umożliwia sorpcję większej ilości analitu. Dzięki temu zaadsorbowane lotne związki organiczne mogą zostać przetransportowane do dozownika chromatografu gazowego bez strat. Cienka warstwa fazy stacjonarnej zapewnia szybką dyfuzję i łatwe uwalnianie wysokowrzących związków organicznych w wyniku termicznej desorpcji [25, 26].

#### *II.3.2.3. Typ prowadzenia ekstrakcji*

Typ prowadzonej ekstrakcji uzależniony jest od rodzaju matrycy, powinowactwa do matrycy próbki oraz lotności analitów. próbki o wysokiej czystości mogą być poddane ekstrakcji bezpośredniej. Technikę ekstrakcji z

fazy nadpowierzchniowej stosuje się także do izolacji i zateżnienia lotnych związków organicznych, ze względu na szybkość osiągnięcia równowagi międzyfazowej w takim układzie [26].

#### *II.3.2.4. Mieszanie*

Zastosowanie skutecznego mieszania próbki skraca czas osiągnięcia stanu równowagi międzyfazowej, ułatwia transport analitów z próbki do pokrycia włókna SPME, zwiększając odzysk przeprowadzonej analizy. W przypadku próbek gazowych jedynie wartość współczynnika dyfuzji determinuje szybkość ustalenia się stanu równowagi, dlatego istnieje możliwość wykonania szybkiej ekstrakcji bez konieczności stosowania mieszała. [26]

Można dokonać wyboru sposobu mieszania próbki spośród:

- mieszanie magnetyczne, stosowane najczęściej z wykorzystaniem mieszała magnetycznego;
- mieszanie z wykorzystaniem techniki „wiru”, gdzie naczynko z próbką obracane jest szybkim ruchem okrężnym;
- mieszanie przez stały przepływ próbki, które prowadzi do ciągłego odnawiania powierzchni włókna;
- mieszanie z użyciem ultradźwięków można uznać za najskuteczniejsze, jednak powoduje ogrzewanie próbki, a tym samym degradację analitów [26].

#### *II.3.2.5. Objętość próbki*

Przy wyborze optymalnej objętości próbki należy kierować się wartością współczynnika podziału  $K_{fs}$ . Związki chemiczne o dużym powinowactwie do pokrycia włókna są bardziej wrażliwe na wahania objętości próbki, niż związki o małej wartości współczynnika podziału. Konieczność osiągnięcia maksymalnego stężenia analitu decyduje o minimalizacji objętości fazy gazowej, co pozwoli uzyskać dużą czułość metody [25].

#### *II.3.2.6. Długość włókna*

Bardzo ważnym parametrem optymalizacji procesu mikroekstrakcji jest objętość fazy stacjonarnej czyli długość włókna pokrytego sorbentem. Istotne jest więc osiągnięcie wysokiego współczynnika zagęszczenia oraz największej ilości ekstrahowanych analitów. Zgodnie z informacjami zaczerpniętymi z literatury fachowej, za optymalną długość włókna pokrytego sorbentem przyjmuje się 15mm [24].

#### *II.3.2.7. Wartość pH*

Dobór odpowiedniej wartości pH próbki poprawia czułość metody oznaczania analitów w próbkach kwasów i zasad. Obniżenie wartości pH próbki powoduje cofnięcie dysocjacji kwaśnych analitów, a tym samym wzrost odzysku dla związków poddanych ekstrakcji. Substancje pozostaną w formie niezdysonowanej wówczas gdy pH dla analitów kwasowych przyjmie wartość o dwie jednostki niższą od wartości pK, a dla analitów zasadowych – o dwie jednostki wyższą od pK analitu. [25, 26, 52].

### II.3.2.8. Wysalanie

Wprowadzenie soli do próbki powoduje wzrost wartości stałej podziału  $K_{fs}$  oraz siły jonowej roztworu. Zmniejsza to rozpuszczalność substancji organicznych w wodzie i zwiększa ilość analitów sorbowanych na włóknie [26, 52].

### II.3.2.9. Temperatura ekstrakcji

Wraz ze wzrostem temperatury próbki, rośnie współczynnik dyfuzji, co powoduje przyspieszony ruch analitów w kierunku pokrycia włókna. W tych warunkach maleje wartość stałej podziału  $K_{fs}$ , czego efektem jest spadek ilości wyekstrahowanego analitu oraz przyspieszenie osiągnięcia stanu równowagi międzyfazowej. W przypadku analizy związków średniolotnych, wzrost temperatury wiąże się ze spadkiem czułości metody. Zastosowanie wyższej temperatury ekstrakcji w technice SPME umożliwia szybszy transport lotnych składników próbki do fazy nadpowierzchniowej, a tym samym skrócenie trwania analizy [23, 26, 52].

W celu wyznaczenia optymalnej temperatury ekstrakcji, przy której ilość wyekstrahowanego analitu jest największa, przeprowadza się serię pomiarów intensywności sygnałów dla wybranego analitu, o określonym stężeniu, przy stałych pozostałych parametrach analizy. Zmianie ulega tylko wartość temperatury ekstrakcji. Optymalna temperatura dla przebiegu procesu ekstrakcji zostaje wyznaczona na podstawie wykresu zależności intensywności sygnału pochodzącego od analitu i temperatury ekstrakcji [52, 53].

### II.3.2.10. Czas ekstrakcji

W celu uzyskania powtarzalnych wyników, konieczne jest prowadzenie procesu ekstrakcji do momentu osiągnięcia stanu równowagi, pomiędzy próbką a pokryciem włókna SPME. Czas uzyskania równowagi międzyfazowej określony jest jako czas, po upływie którego ilość ekstrahowanych analitów pozostaje stała w granicach błędu doświadczalnego i równa ilości ekstrahowanych analitów w nieskończenie długim czasie [23, 25, 26].

Ustalenie optymalnego czasu ekspozycji ogranicza się do przeprowadzenia serii pomiarów ilości zaadsorbowanego na włóknie analitu przy kilku różnych czasach ekstrakcji w stałej temperaturze. Na podstawie zależności intensywności sygnału badanej substancji od czasu ekspozycji można wyznaczyć optymalny czas ekstrakcji [54].

Wraz z wydłużeniem czasu ekspozycji w stałej temperaturze, ilość wyekstrahowanego analitu rośnie, by osiągnąć stałą wartość po ustaleniu się równowagi międzyfazowej [53, 54].

### II.3.2.11. Parametry desorpcji

Prawidłowy przebieg procesu desorpcji termicznej uzależniony jest od temperatury komory dozownika chromatografu gazowego, lotności analitów, grubości pokrycia włókna SPME oraz czasu trwania desorpcji [27].

Wzrost temperatury desorpcji powoduje obniżenie wartości stałej podziału faza stacjonarna/faza gazowa oraz gwałtowny wzrost wartości współczynnika dyfuzji analitów, co zwiększa efektywność uwalniania substancji oznaczanej. Za optymalną temperaturę desorpcji przyjmuje się temperaturę równą temperaturze wrzenia najmniej lotnego analitu. Dokonując wyboru warunków desorpcji należy wziąć pod uwagę także wytrzymałość termiczną włókna SPME [25]. W celu uniknięcia poszerzenia pików na chromatogramie, po

umieszczeniu igły SPME w dozowniku, należy niezwłocznie wysunąć z niej włókno z zaadsorbowanymi substancjami oznaczanymi. Wydłużony czas desorpcji może niekorzystnie wpłynąć na kształt piku [29].

#### *II.3.2.12. Dobór parametrów pracy chromatografu gazowego*

Uzyskanie poprawnego wyniku analizy, zależy od doboru odpowiednich parametrów pracy chromatografu gazowego. W bezrozpuszczalnikowej technice SPME, zamknięcie splitu powoduje szybki transport wszystkich analitów na kolumnę i wzrost czułości oznaczenia [26].

Wygenerowanie dużej prędkości przepływu gazu nośnego, przyspiesza transport zdesorbowanych związków na kolumnę, co znajduje odzwierciedlenie w szerokości pasm na chromatogramie. Dokonując wyboru kolumny chromatograficznej należy kierować się jej właściwościami separacyjnymi, sprawnością oraz odpornością termiczną i chemiczną [26]. Faza stacjonarna kolumny chromatograficznej powinna charakteryzować się stabilnością termiczną oraz dużą selektywnością względem analizowanej mieszaniny [25].

#### **II.3.3. Zastosowanie techniki SPME**

Ze względu na swoje liczne zalety, technika SPME znalazła szerokie zastosowanie w analizie chemicznej. Metodę tę z powodzeniem wykorzystuje się do jakościowej i ilościowej analizy związków lotnych i średniolotnych w matrycach stałych, ciekłych i gazowych, sprzęgając z różnymi technikami pomiarowymi tj.: GC (*ang. Gas Chromatography*) HPLC [55], Spektroskopią Ramanowską [56], Elektroforezą Kapilarną [57].

Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej doskonale sprawdza się w analizie próbek środowiskowych powietrza, gleby, osadów i wody.

Technika SPME została z sukcesem użyta do oznaczania lotnych związków organicznych [58-60], benzenu, etylobenzenu, toluenu, ksyleny [56], wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [61], pestycydów [10, 63- 65], fenoli [5, 62], polichlorowanych bifenyli [61], w zróżnicowanych matrycach.

Metoda SPME zyskała także popularność w analizie żywności i środków farmaceutycznych. Z SPME korzysta się przy

- oznaczaniu poziomu zanieczyszczeń produktów żywnościowych i farmaceutycznych rozpuszczalnikami organicznymi, stosowanymi w procesie produkcji [15, 66];
- badaniu składu substancji smakowych i zapachowych zawartych w żywności, farmaceutykach i kosmetykach np.: alkohole, kwasy tłuszczowe i estry w czerwonym winie [17], ketony, estry aldehydy, alkohole, związki siarki, kwasy tłuszczowe, związki alifatyczne i aromatyczne zawarte w aromacie sera Camembert [67], diterpeny w olejku oliibanowym używanym do mumifikacji ciał w Starożytnym Egipcie [53], substancje lotne, głównie kwasy organiczne w tytoniu [68];
- analizie zawartości przeciwutleniaczy i substancji konserwujących np. butylowany hydroksyanizol (BHA) oraz butylowany hydroksytoluen (BHT) w kosmetykach [69];
- ilościowym oznaczaniu zawartości kofeiny w herbacie i napojach.

Technikę SPME wykorzystuje się do analiz klinicznych i sądowych:

- analiza wydychanego powietrza lub krwi na obecność etanolu lub acetonu w organizmie diabetyków;
- wykrywanie obecności narkotyków: amfetaminy lub kokainy [52, 70, 71], środków dopingujących np. efedryny [72], leków np. antybiotyków [53, 70, 73], a także nikotyny i anestetyków [70] w krwi, moczu, płynach ustrojowych, ślinie, włosach, amin aromatycznych w mleku kobiet palących papierosy;
- Identyfikacja substancji toksycznych w kryminalistyce [52, 71].

### III. ZAKRES I CEL ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Celem jaki sobie postawiłam w ramach pierwszego etapu badań, była preparatyka włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi. Realizacja tak postawionego celu badań wymagała:

- opracowania skutecznej techniki oczyszczania i aktywacji powierzchni włókna kwarcowego;
- opracowania procedury przygotowania i modyfikacji powierzchni krzemionki;
- scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych modyfikowanej krzemionki;
- zaprojektowania techniki statycznego nanoszenia cienkiego filmu siloxanu na włókno kwarcowe celem uzyskania monowarstwowego pokrycia modyfikowanym uprzednio sorbentem;
- opracowania efektywnej techniki montażu i kondycjonowania włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi;
- potwierdzenia przy użyciu metody mikroskopowej uzyskania monowarstwy sorbentu na powierzchni włókna.

W drugim etapie badań skupiłam się na praktycznym zastosowaniu sporządzonego włókna SPME. Głównym zamierzeniem omówionych badań było:

- potwierdzenie skuteczności działania nowego włókna SPME poprzez wykorzystanie go do identyfikacji związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, z którego wykonano kolorowy nadruk płyty DVD;
- optymalizacja warunków analizy jakościowej lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, wykorzystanego do wykonania nadruku na płycie DVD;
- analiza ilościowa wybranego składnika tuszu światłoutwardzalnego.

## IV. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### IV.1. Odczynniki i aparatura

#### IV.1.1. Odczynniki

Krzemionka poddana procesowi modyfikacji - Nucleosil 50-3 (Baker Analyzed, 3 ~ nm) została zakupiona od JTBaker.

Roztwór heksametylodisilozanu pochodził z firmy Riedel-Dehaen.

Pochodne 3-pentano-2, 4-dionu, które zostały użyte do modyfikacji żelu krzemionkowego, zostały przygotowane w Zakładzie Chemii Metaloorganicznej, Wydziału Chemii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Jako lepiszcze dla fazy stacjonarnej, wykorzystano roztwór fazy OV1 firmy PYE UNICAM Ltd. YORK Street Cambridge England.

Do przygotowania roztworów fazy metylowodorosiloksanowej posłużono się następującymi odczynnikiemami:

- aceton firmy Chempur, cz.d.a.;
- dichlorometan firmy Merck;
- heksan firmy Chempur.

Do sporządzenia roztworu fazy OV1 użyto chloroform firmy Chempur cz.d.a.

W celu oczyszczenia włókna szklanego i aktywacji jego powierzchni wykorzystano następujące odczynniki:

- aceton firmy Chempur, cz.d.a.;
- kwas solny, 35%-38%, firmy POCH Gliwice, cz.d.a.;
- wodorotlenek sodu firmy POCH Gliwice cz.d.a.

Do przygotowania roztworów wzorcowych benzenu zastosowano:

- benzen firmy POCH Gliwice cz.d.a.;
- alkohol metylowy firmy Chempur, cz.d.a.

Włókno kwarcowe o parametrach 100mm x 100µm, będące podstawą w procesie przygotowania włókna SPME otrzymano z firmy OPTEC z Białogostoku.

Substancje wzorcowe stosowane w procesie identyfikacji lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego zestawiono w tabeli 2:

Tabela 2. Substancje wzorcowe stosowane w procesie identyfikacji lotnej frakcji tuszu

l.p.	Nazwa związku	Firma	Czystość
1.	Benzofenon	Aldrich	99%
2.	$\epsilon$ -kapolakton	Merck	Cz.d.a.
3.	2,6-di-tert-butylometylofenol (BHT)	Aldrich	Cz.d.a.
4.	2-fenoksyetanol	Aldrich	98%
5.	Monoeter metylowy hydrochinonu	Fluka	Cz.d.a.
6.	Akrylan fenylowy glikolu etylenowego	Aldrich	Cz.d.a.

#### ***IV.1.2. Aparatura***

- waga analityczna STARTORIUS o dokładności 0,0001 g;
- mikrostrzykawka SPME firmy SUPELCO wykorzystana do przygotowania włókna SPME, którego powierzchnię pokryto krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi. Technika przygotowania włókna jak i jego montażu do mikrostrzykawki została opracowana w Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydziału Chemii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu;
- mikrostrzykawka firmy SUPELCO z włóknem SPME firmy SUPELCO z naniesioną fazą stacjonarną polidimetylosiloksanem (PDMS);
- termostat firmy MLW PRUFGERATE – WERK U7C;
- chromatograf Gazowy firmy VARIAN, CP-3800, wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID), z kolumną kapilarną typu CP 8742 WCOT Fused Silica CP-Sil5 CB 30m x 0,32 mm, grubość fazy wynosiła 0,25  $\mu\text{m}$ . Prędkość przepływu gazu nośnego (hel) wynosiła 1ml/min, Split 1:20;
- chromatograf gazowy VARIAN, 4000-MS GC/MS, wyposażony w kolumnę kapilarną firmy VARIAN typ VF-5 MS.

### ***IV.2. Preparatyka włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi***

#### ***IV.2.1. Charakterystyka włókna szklanego wykorzystanego do przygotowania włókna SPME***

Ze względu na swoje właściwości chemiczne włókno szklane zostało wykorzystane do przygotowania włókna SPME.

W pierwszej kolejności zastosowano światłowód szklany, używany na szeroką skalę w przemyśle jako doskonałe medium do transportu informacji na znacznych odległościach.

Kabel światłowodowy składa się z następujących elementów: rdzeń, płaszcz, powłoka lakiernicza, wzmocnienie, płaszcz ochronny, osłona zewnętrzna. Rdzeń i płaszcz stanowią aparat optyczny włókna światłowodowego. Wykonane są ze szkła kwarcowego, różniące się wartością współczynnika załamania światła. Powłoka lakiernicza, którą stanowi warstwa materiału termoplastycznego i żelu hydrofobowego, zabezpiecza powierzchnię płaszcza przed zarysowaniem. Wzmocnienie, zbudowane z materiału wykazującego wysoką wytrzymałość mechaniczną, chroni włókno przed uszkodzeniem spowodowanym nadmiernym zginaniem. Płaszcz ochronny i osłona zewnętrzna, wykonane z tworzywa sztucznego, zabezpieczają przed negatywnym wpływem warunków środowiskowych np.: wilgocią, wysoką i niską temperaturą, kwaśnym deszczem.

Światłowody szklane dzięki swoim właściwościom znalazły zastosowanie w analityce. Pełnią funkcję optycznych sensorów chemicznych, łącząc chemiczne metody detekcji z pomiarem optycznym, gdzie główną rolę odgrywa tzw. Element detekcyjny – oktoda – zawierająca substancje chemiczne reagujące na określone wartości parametrów tj: temperatura, pH, obecność i stężenie gazów. W skład typowego układu optycznego czujnika chemicznego wchodzi jeszcze źródło światła oraz detektor, czuły na zmiany wartości długości fali lub natężenia światła, wynikłe z oddziaływania czynników zewnętrznych.

Powierzchnia włókna szklanego po uprzedniej aktywacji może zostać poddana procesowi modyfikacji i pełnić funkcję sorbentu bądź nośnika fazy stacjonarnej w technikach separacyjnych. [74-84].

Mając na uwadze ograniczony dostęp do światłowodów szklanych o odpowiednich parametrach, zlecono firmie Optec z Białegostoku wykonanie prętów szklanych o średnicy 125um, wykorzystanych potem do preparatyki włókna SPME.

#### ***IV.2.2. Oczyszczanie włókna i aktywacja jego powierzchni***

Zgodnie z informacjami zawartymi w literaturze naukowej, pierwszym etapem przygotowania włókna szklanego jest pozbawienie go zewnętrznych powłok ochronnych, wykonanych najczęściej z polimetakrylanu metylu, poliuretanu czy poliamidu, metodami mechanicznymi i chemicznymi - z wykorzystaniem rozpuszczalników organicznych.

Zagraniczne prace naukowe [79-81] donoszą o wykorzystaniu acetonu w procedurze oczyszczania włókna do celów analitycznych. Pozbycie się warstwy poliamidowej odbywa się poprzez zanurzenie włókna w roztworze acetonu na 3h, następnie usunięcie resztek rozpuszczalnika organicznego przy użyciu wody destylowanej. Włókno szklane suszone jest w temperaturze pokojowej, a następnie poddawane procesowi aktywacji przy użyciu 1M roztworu NaOH. Celem tego zabiegu jest zwiększenie liczby grup hydroksylowych zlokalizowanych na powierzchni włókna szklanego. Proces ten trwa ok. 30minut, a pozostałości roztworu wodorotlenku sodu usuwane są przy pomocy wody destylowanej. Dezaktywacja nadmiaru NaOH zachodzi z udziałem 0,1M roztworu HCl.

W innych publikacjach naukowych [78] autorzy wykorzystali roztwór kwasu siarkowego w celu usunięcia powłok zabezpieczających. Włókno zanurzono w kwasie siarkowym na 3h, następnie umieszczono w wodzie

destylowanej, usuwając tym samym pozostałości zanieczyszczeń, a potem suszono w temperaturze pokojowej. Tak przygotowane włókno szklane mogło zostać poddane procesowi aktywacji powierzchni z użyciem roztworu NaOH.

W celu optymalizacji procesu oczyszczania włókna szklanego sprawdzone zostały trzy różne procedury.

- Pierwsza zastosowana procedura oczyszczania włókna światłowodowego pokrytego warstwą tworzywa sztucznego składa się z następujących etapów: włókno optyczne o długości ok. 6cm, z którego usunięto zewnętrzne warstwy poliamidowych izolacji, pozostawiono na 3h zanurzone w acetonie, a następnie w celu usunięcia pozostałości rozpuszczalnika i ewentualnych zanieczyszczeń trzykrotnie płukano je wodą i suszono w temperaturze pokojowej.

Przygotowane w ten sposób szklane włókno światłowodowe poddane zostało procesowi aktywacji w celu przywrócenia grup hydroksylowych na jego powierzchni.

Oczyszczone włókno trawiono 1M NaOH przez 1h, następnie nadmiar NaOH neutralizowano zanurzając włókno w 0,5M roztworze HCl przez 0,5h. Proces suszenia przeprowadzono w temperaturze pokojowej. Przygotowane w ten sposób włókno przechowywano w szczelnie zamkniętym naczyniu nie dłużej niż 48h. W celu potwierdzenia skuteczności przeprowadzonego procesu wykonano analizę elementarną na obecność ewentualnych pozostałości związków organicznych. Uzyskane wyniki zawarte są w Tabeli 3.

Tabela 3. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna

Próbka włókna oczyszczona metodą mechaniczną i chemiczną z zastosowanie acetonu	N [%]	C [%]	H [%]
1	-	0,058	1,02
2	-	-	0,861
3	-	-	1,143

- Kolejna zastosowana procedura to proces oczyszczania włókna szklanego w aparacie Soxhleta z wykorzystaniem rozpuszczalnika organicznego - cykloheksanonu. W tabeli 4 zamieszczono wyniki Analizy Elementarnej oczyszczanych włókien.

Tabela 4. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna oczyszczanego w aparacie Soxhleta

Próbka włókna	N [%]	C [%]	H [%]
1	0,953	9,300	1,315
2	1,011	9,532	0,670
3	0,985	9,620	1,236

Wyniki Analizy Elementarnej wskazują na znaczną obecność związków organicznych na powierzchni włókna.

- Jako ostatnią procedurę wykonano proces oczyszczania włókna światłowodowego w płomieniu palnika. W tym celu włókno szklane o długości ok. 6cm umieszczono w płomieniu palnika na 1min, następnie usunięto resztki powłok ochronnych zanurzając włókno w acetonie na 0,5h. Pozostałości rozpuszczalnika organicznego zostały usunięte poprzez trzykrotne płukanie wodą. Suszenie odbywało się w temperaturze pokojowej. W celu sprawdzenia skuteczności oczyszczania włókna optycznego w płomieniu palnika, próbkę włókna poddano Analizie Elementarnej, a wyniki zestawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna światłowodowego oczyszczanego w płomieniu palnika

Próbka włókna	N [%]	C [%]	H [%]
1	-	0,273	0,899
2	-	0,492	0,682
3	0,004	0,286	0,412

Na podstawie wyników analizy elementarnej stwierdzono, że pierwsza z opisanych procedur oczyszczania włókna jest najbardziej optymalną (świadczy o tym niska zawartość procentowa C, N i H) i została ona wykorzystana w dalszych badaniach.

W celu zobrazowania i potwierdzenia skuteczności procedury oczyszczania wykonano zdjęcie (rys. 4) przy użyciu mikroskopu elektronowego w Pracowni Mikroskopii Elektronowej Wydziału Biologii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.



Rysunek 4. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego, po przeprowadzeniu procesu oczyszczania i aktywacji powierzchni

### IV.2.3. Procedura przygotowania i modyfikacji powierzchni krzemionki

Preparatykę sorbentu – krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi oparto wyłącznie na krzemionce Nucleosil 50-3, której charakterystykę przedstawia Tabela 6.

Tabela 6. Charakterystyka wypełnienia Nucleosil 50-3

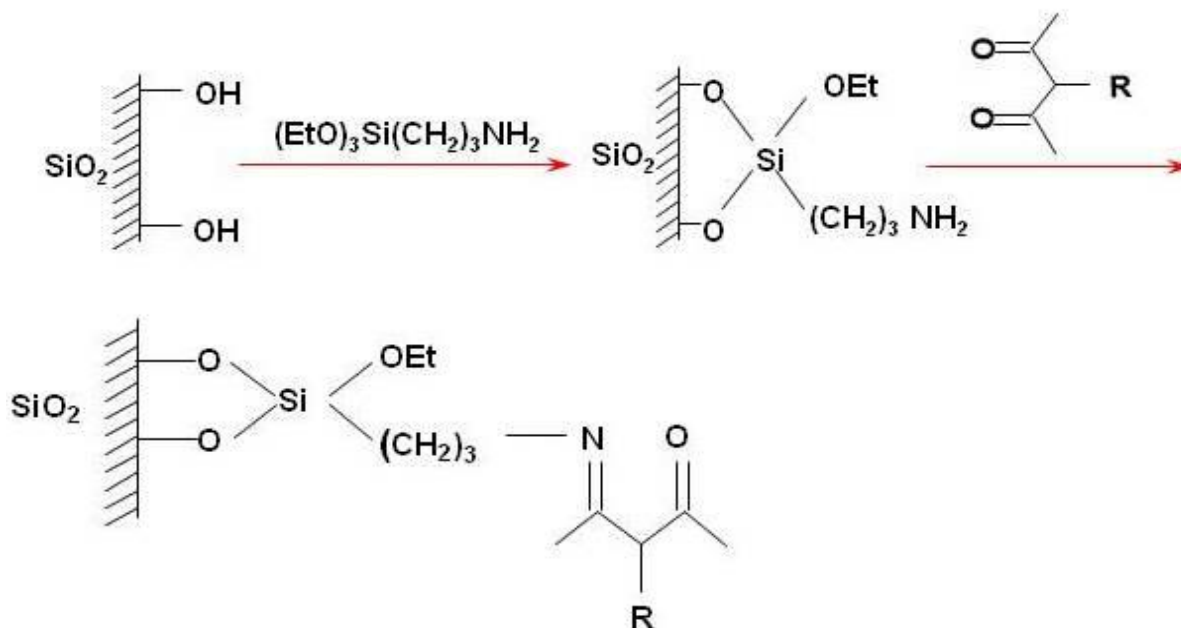
Rozmiar porów [ $\mu\text{m}$ ]	Rozmiar porów [ $\text{\AA}$ ]	Objętość porów [ $\text{ml}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Powierzchnia właściwa (BET) [ $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Waga [ $\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Stabilność [bar]
~3	50	0,8	420	0,45	600

Procedura modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi została opracowana przez dr Iwonę Rykowską z Zakładu Chemii Analitycznej, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu [85]. Do wykorzystania krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi jako fazy stacjonarnej włókna SPME zainspirowały mnie obiecujące wyniki badań nad zastosowaniem tego sorbentu w innych technikach analitycznych. Mowa tutaj przede wszystkim o zateżaniu metali przejściowych w próbkach wody oraz zateżaniu związków organicznych w próbkach żywności z wykorzystaniem techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Nie można także zapomnieć o zastosowaniu krzemionki modyfikowanej jako wypełnienia w kolumnach pakowanych z przeznaczeniem do chromatografii gazowej.

Proces modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi przeprowadzono w trzech etapach. W pierwszej kolejności naważkę krzemionki Nucleosil 50-3 równą 2,6g suszono w temperaturze 180°C przez 12h. Następnie, pozbawioną wody krzemionkę umieszczono w specjalnie zaprojektowanej szklanej, okrągłej kolbie zabezpieczającej reagenty przed dostępem wilgoci i zanieczyszczeń z zewnątrz, zabiegającej formowaniu się większych aglomeratów nieprzereagowanej krzemionki w trakcie procesu modyfikacji. Kolejnym krokiem było dodanie roztworu 3-aminopropylotrietoksyilanu w bezwodnym ksylenie. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano do wrzenia i utrzymywano pod chłodnicą zwrotną przez 12h. Po przemyciu ksylenem, krzemionkę przeniesiono do aparatu Soxhleta i ekstrahowano ksylenem przez kolejne 6h.

Reakcja „end-capping” zapoczątkowała drugi etap procesu modyfikacji powierzchni krzemionki. Przeprowadzony z wykorzystaniem 3,7ml heksametylodisilozanu (HMDS) proces derywatywacji pozostałych na powierzchni wolnych grup hydroksylowych odbywał się w warunkach bezwodnego ksyleny. Tylko część powierzchniowych grup hydroksylowych ulega reakcji z organosilanem, z tego powodu przeprowadzono reakcję z HMDS aby sprowadzić liczbę grup hydroksylowych do minimum.

W trzecim etapie, po ekstrakcji ksylenem w aparacie Soxhleta, do znajdujących się na powierzchni krzemionki grup aminowych, wiązano pochodną 3-pentano-2,4-dionu. Reakcję prowadzono podobnie jak poprzednio w bezwodnym ksylenie. Poniższy schemat (rys. 5) obrazuje opisany proces. Stężenie grup silanolowych na powierzchni krzemionki szacuje się na około 8 [ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ ], ale tylko część z nich może ulec reakcji ze względów sterycznych.



Gdzie R= 3-all (CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)

Rysunek 5. Schemat modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi.

#### IV.2.4. Charakterystyka krzemionki

Charakterystyka krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi, wykorzystanej do przygotowania włókna SPME, obejmowała:

- pomiar powierzchni właściwej (badanie obejmowało pełną izotermę adsorpcji/desorpcji przy użyciu azotu jako adsorbentu w temperaturze -195°C);
- analizę elementarną wykazującą procentowy udział węgla, wodoru i azotu;
- widmo NMR dla ciała stałego (<sup>29</sup>Si CP MAS NMR);
- widmo IR z transformacją Fouriera (FTIR).

Korzystając z danych uzyskanych z analizy elementarnej, obliczono stężenie powierzchniowe związanego silanu w oparciu o zależność zaproponowaną przez Berendsena i Galana oraz przez Hemetsbergera i współpracowników [86, 87].

$$[\text{Si}] = \frac{\%C \times 10^6}{(100 \times n \times 12 - \%C \times M) \times S_{\text{BET}}} \quad [\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}]$$

Gdzie:

Si – stężenie powierzchniowe związanego silanu

%C – zawartość procentowa węgla związanego z powierzchnią krzemionki

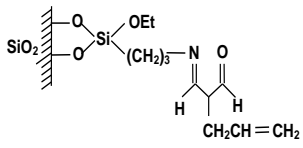
n – liczba atomów węgla w organosilanie

M – ciężar cząsteczkowy związanego silanu

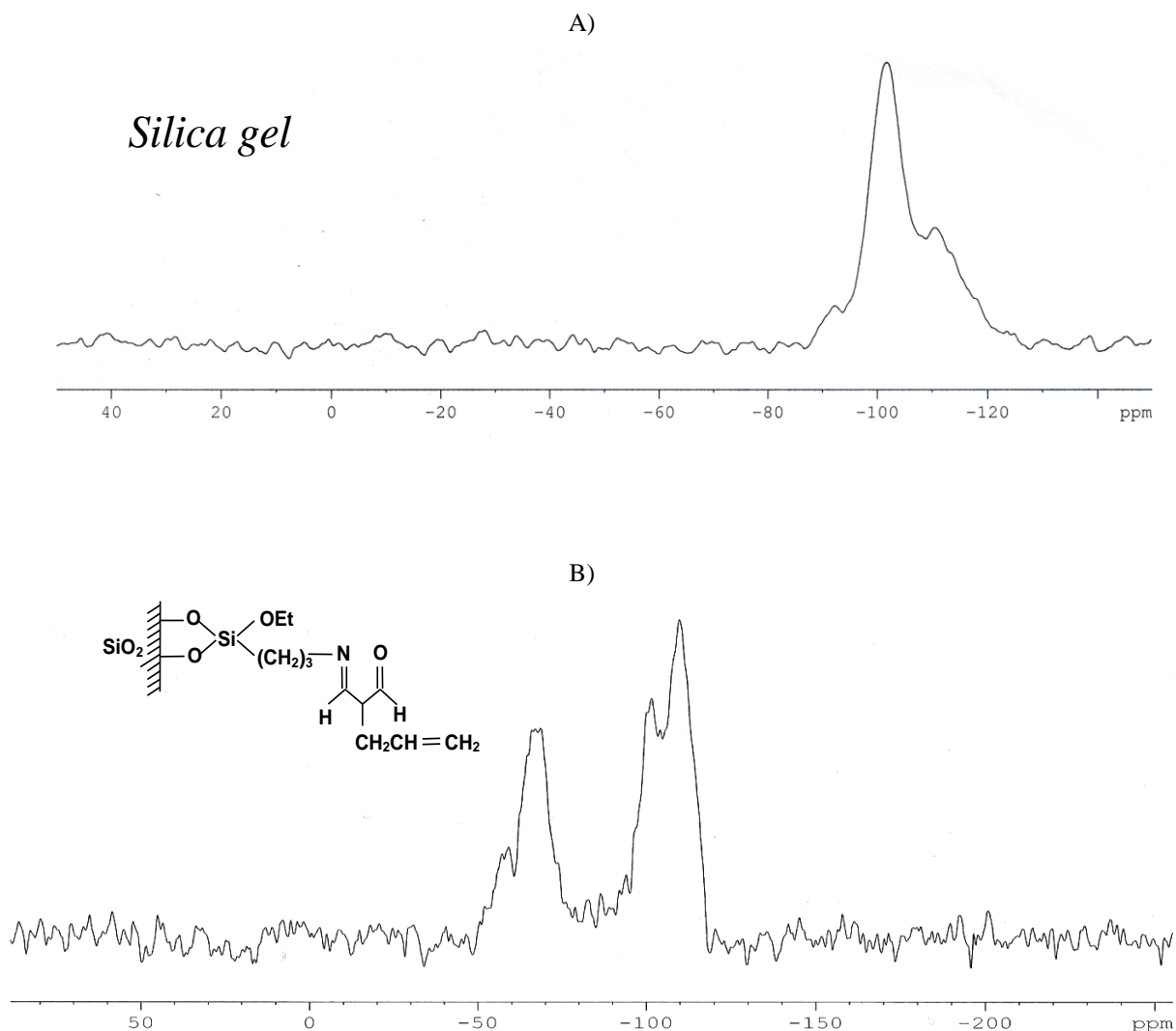
$S_{BET}$  – powierzchnia właściwa wyjściowej krzemionki

Opisujące krzemionkę wielkości zebrano w Tabeli 7.

Tabela 7. Charakterystyka fizykochemiczna krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi

Sorbent – wzór strukturalny	Analiza elementarna [%]			Powierzchnia właściwa [ $m^2 \cdot g^{-1}$ ]	Stężenie powierzchniowe związanego silanu [ $mol \cdot m^{-2}$ ]	Średnica pora [nm]	Objętość właściwa pora [ $ml \cdot g^{-1}$ ]
	C	H	N				
krzemionka	0,379	0,915	-	420	-	7,180	0,880
	13,337	2,522	1,776	286,232	6,309	6,608	0,443

W celu zbadania powierzchni krzemionki posłużono się techniką NMR dla ciała stałego ( $^{29}Si$  CP MAS NMR). Otrzymane w wyniku analizy widmo (rys.6B) umożliwia rozróżnienie atomów krzemu w strukturze krzemianu ( $SiO_2$ ) oraz pozwala na kontrolowanie reaktywności silanoli. Obecność silanoli typu geminalnego (bliźniaczego) na powierzchni krzemionki potwierdza sygnał przy -90ppm. Wolne silanole (pojedyncze) dają sygnał przy -100ppm, natomiast sygnał przy -110ppm pochodzi od siloksanów. Na rys. 6B przedstawiono widmo  $^{29}Si$  CP MAS NMR otrzymanego w wyniku modyfikacji sorbentu natomiast rys. 6A przedstawia widmo  $^{29}Si$  CP MAS NMR wyjściowej krzemionki.



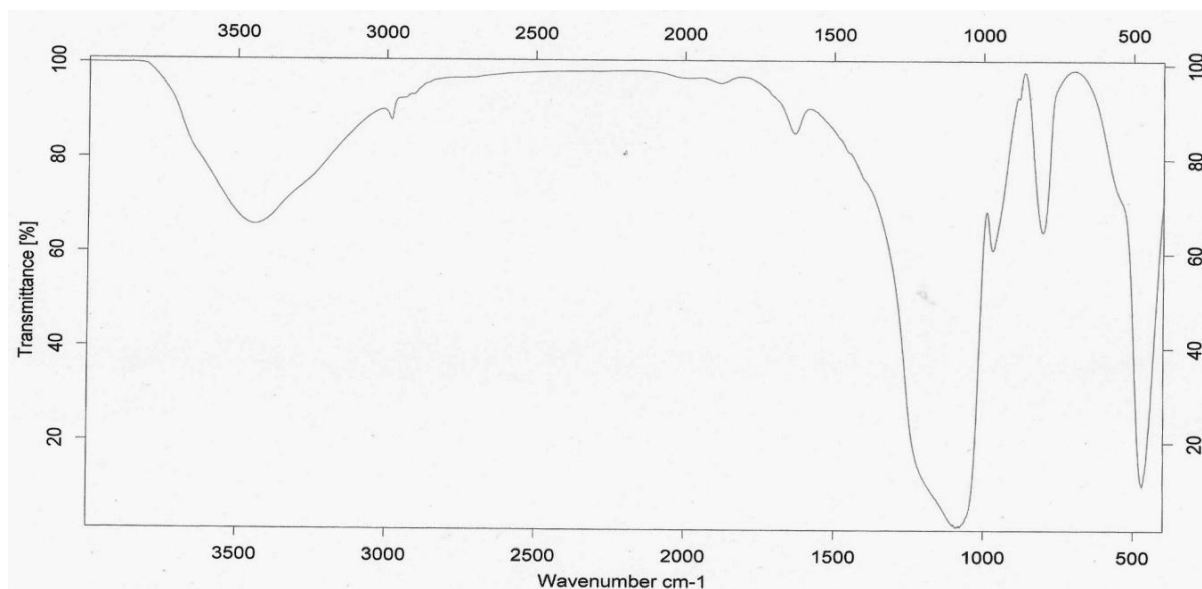
Rysunek 6. Widma  $^{29}\text{Si}$  CP MAS NMR wyjściowej krzemionki (A) oraz sorbentu uzyskanego w wyniku procesu modyfikacji (B)

Analiza otrzymanych widm potwierdza, przebieg reakcji syntezy jaka zaszła na powierzchni krzemionki. Przy modyfikacji powierzchni krzemionki zablokowane zostały silanole geminalne. Wyraźny sygnał przy  $-90$  ppm w widmie pochodzącym z krzemionki wyjściowej (rys. 6A) staje się zdecydowanie słabszy w przypadku modyfikowanego sorbentu. Jednocześnie w uzyskanym w wyniku procesu modyfikacji sorbencie (rys. 6B), zmianie uległ sygnał przy  $-100$  ppm, co świadczy o blokowaniu również izolowanych silanoli. Widoczny wyraźny sygnał od  $-60$  ppm do  $-70$  ppm wskazuje na modyfikację krzemionki silanem trójfunkcyjnym i na przeprowadzenie procesu „end capping” przy użyciu heksametylodisilazanu.

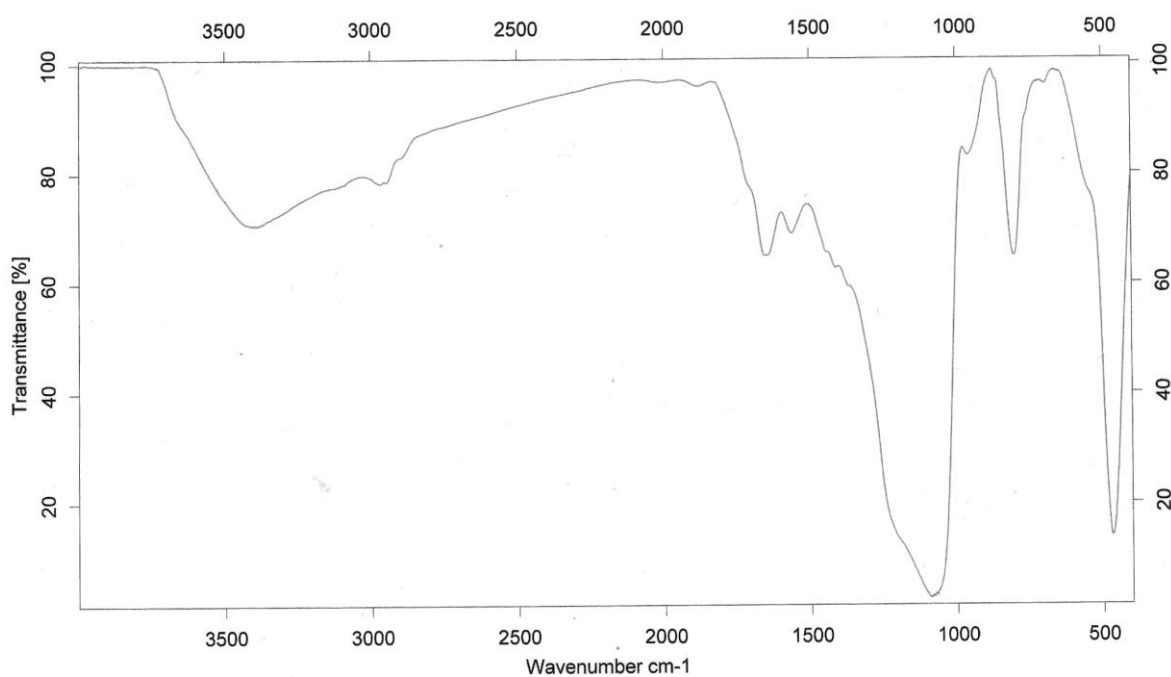
W pozyskiwaniu informacji na temat zmodyfikowanych powierzchni silikażeli obok magnetycznego rezonansu jądrowego skutecznym narzędziem badawczym jest spektroskopia w podczerwieni. Za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (*ang. Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FTIR) porównano materiał przed oraz otrzymany po procesie modyfikacji powierzchni krzemionki. Interpretując widma wykonane techniką FTIR przy zastosowaniu metody pastylki KBr można zauważyć na widmie niemodyfikowanej krzemionki (rys. 7A) obecność grup hydroksylowych, o czym świadczy pasmo walencyjne OH w zakresie  $3500\text{--}3434\text{cm}^{-1}$ . Intensywność tego pasma maleje po etapie modyfikacji (rys. 7 B), co oznacza, że

została zablokowana część powierzchniowych silanoli. W widmie krzemionki zmodyfikowanej aminosilanem pojawia się wyraźne pasmo walencyjne N-H przy  $3425\text{ cm}^{-1}$ , co potwierdza, przebieg pierwszego etapu syntezy i na powierzchni krzemionki związane zostały grupy  $\text{NH}_2$ . Ponadto na tym samym widmie można zauważyć pasmo walencyjne C-N przy  $1093\text{ cm}^{-1}$ , deformacyjne N-H przy  $1634\text{ cm}^{-1}$  oraz walencyjne C-H ugrupowań alifatycznych przy  $2940\text{ cm}^{-1}$  i deformacyjne C-H przy  $1569\text{ cm}^{-1}$ . Na widmie krzemionki poddanej drugiemu etapowi reakcji syntezy można zauważyć pasmo walencyjne C=O przy  $1653\text{ cm}^{-1}$  i dodatkowo pasmo walencyjne C=C, co świadczy o tym, że na powierzchni pojawiło się ugrupowanie ketoiminowe. Ponadto widoczne są pasma walencyjne C-H (grupy  $-\text{CH}_2-$ ) przy  $2937\text{ cm}^{-1}$  i deformacyjne C-H przy  $1568\text{ cm}^{-1}$ .

A)

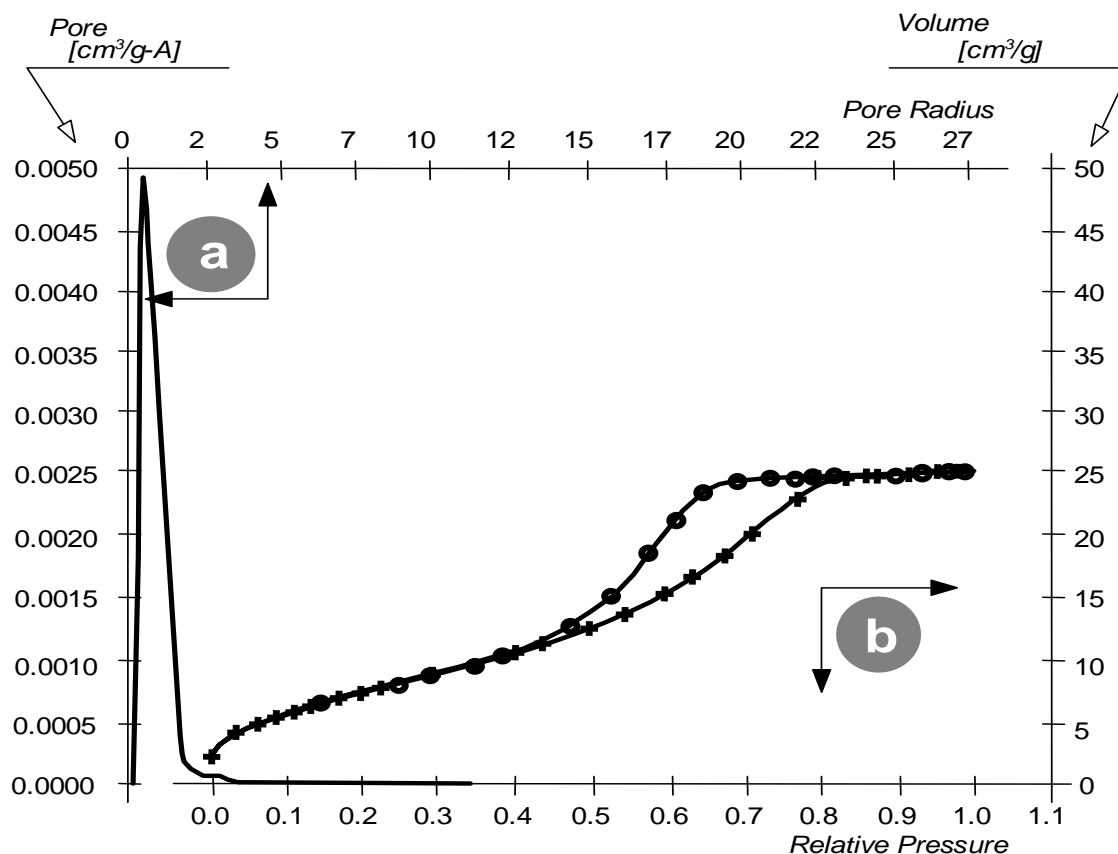


B)



Rysunek 7. Widmo FTIR wyjściowej krzemionki (A) i krzemionki modyfikowanej (B)

Wykonanie pełnego profilu izotermy krzemionki modyfikowanej pozwoliło na uzyskanie dodatkowych informacji na temat otrzymanego sorbentu. Jak wynika z wykresu, przedstawionego na rysunku 8, rozkład porów jest jednorodny. Kształt porów jest trudny do określenia, jednakże kształt pętli histerezy (rys.8B) dostarcza pewnych informacji o specyficznej strukturze porów. Pętla ta charakteryzuje się praktycznie pionowymi oraz równoległymi gałęziami. Ten typ pętli histerezy kojarzony jest zwykle z materiałami porowatymi składającymi się z aglomeratów stosunkowo jednolitych kulek, regularnie ułożonych. Dzięki temu pory są stosunkowo jednorodne, a ich średni promień leży w dość wąskim zakresie. Objętość porów niemodyfikowanej krzemionki wynosiła  $0,880 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$ , a po związaniu ketoiminy  $0,443 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$ .



Rysunek 8 Pełny profil izotermi sorpcji krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi

#### ***IV.2.5.Procedura przygotowania fazy stacjonarnej***

##### *IV.2.5.1. Przygotowanie fazy metylowodoropolisiloksanowej*

Preparatykę fazy stacjonarnej oparto na procedurze opracowanej przez dr Rafała Wawrzyniaka w Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydziału Chemii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu [88]. Jako lepiszcze służące do zespolenia sorbentu z powierzchnią włókna szklanego wykorzystano metylowodoropolisiloksan, który wraz ze wzrostem temperatury przyjmuje postać gęstego żelu. Odpowiednią dawkę substancji rozpuszczono w rozpuszczalniku organicznym w celu uzyskania roztworu o odpowiedniej konsystencji i właściwościach klejących. Ustalenie odpowiednich warunków temperaturowych ogrzewania fazy metylowodoropolisiloksanowej wiązało się z wielokrotnym powtarzaniem procesu i kontrolowaniem

konsystencji polimeru. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów ustalono optymalne warunki przebiegu procesu:

- objętość fazy metylowodoropolisiloksanowej wynosi 3ml;
- grzanie w temperaturze 45°C przez 10minut;
- grzanie z gradientem temperatury 3°C/min do 180°C.

Przygotowana w ten sposób faza została wykorzystana do dalszych badań.

#### IV.2.5.2. Przygotowanie roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej w acetonie

Jako rozpuszczalnik organiczny do przygotowania roztworu fazy metylowodoropolisiloksanowej wykorzystano aceton o odpowiednim stężeniu. Metodykę procesu przygotowania roztworów przedstawiono w Tabeli 8.

Tabela 8. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu

l.p.	Stężenie fazy [%]	Naważka fazy metylowodoropolisiloksanowej [g]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – acetonu [ml]
1.	1	0,1	12,6
2.	3	0,3	12,6
3.	5	0,5	12,6
4.	7	0,7	12,6
5.	9	0,9	12,6
6.	13	2,6	25,2
7.	15	3,0	25,2
8.	20	4,0	25,2

Roztwory przygotowane w ten sposób, zostały pozostawione na dobę w szczelnie zamkniętych fiolkach w temperaturze pokojowej w celu całkowitego rozpuszczenia się fazy i ujednoczenia cieczy.

Roztwory o wysokim stężeniu od 13%-20% wymagały 8 dni na przyjęcie jednolitej konsystencji.

Wszystkie przygotowane w ten sposób roztwory zostały wykorzystane w dalszych badaniach.

*IV.2.5.3. Przygotowanie roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej w dichlorometanie*

Dichlorometan został wykorzystany jako rozpuszczalnik organiczny do przygotowania roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej. W Tabeli 9 przedstawiono metodykę przygotowania roztworów.

*Tabela 9. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem dichlorometanu*

L.p.	Stężenie roztworu [%]	Naważka fazy metylowodoropolisiloksanowej [g]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – dichlorometanu [ml]
1.	1	0,1	7,5
2.	3	0,3	7,5
3.	5	0,5	7,5

Przygotowane w ten sposób roztwory, zostały pozostawione w zamkniętych fiolkach, w temperaturze pokojowej do całkowitego rozpuszczenia się fazy. Powyższe roztwory nie były wykorzystane w dalszych badaniach, ponieważ nie uzyskano zadowalającego stopnia homogenizacji próbek.

*IV.2.5.4. Wykorzystanie dwóch rozpuszczalników organicznych*

Przeprowadzono także eksperyment z wykorzystaniem mieszaniny rozpuszczalników organicznych w odpowiednich proporcjach. Do przygotowania roztworu fazy metylowodoropolisiloksanowej użyto mieszaniny acetonu i heksanu. W tabeli 10 przedstawiono metodykę otrzymania roztworów fazy metylowodoropolisiloksanowej.

*Tabela 10. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu i heksanu*

L.p.	Stężenie roztworu [%]	Naważka fazy metylowodoropolisiloksanowej [g]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – aceton [ml]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – heksan [ml]	Proporcje mieszaniny
1.	1	0,1	2,5	11,9	2:8
2.	1	0,1	3,8	10,5	3:7
3.	1	0,1	5,1	8,9	4:6

Naważka fazy metylowodoropolisiloksanu niezależnie od proporcji rozpuszczalników organicznych była trudno rozpuszczalna, w związku tym ta procedura przygotowania fazy nie była wykorzystana w dalszych eksperymentach.

W celu przygotowania roztworu fazy wykorzystano także mieszaninę acetonu i dichlorometanu w odpowiednich proporcjach, które przedstawiono w tabeli 11.

Tabela 11. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu i dichlorometanu

L.p.	Stężenie roztworu [%]	Naważka fazy metylowodoropolisiloksa -nowej [g]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – aceton [ml]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – dichlorometan [ml]	Proporcje mieszaniny
1.	1	0,1	2,5	6	2:8
2.	1	0,1	3,8	5,3	3:7
3.	1	0,1	5,1	4,5	4:6
4.	1	0,1	6,3	3,8	5:5
5.	1	0,1	7,6	3	6:4

Przygotowane w ten sposób próbki pozostawiono w temperaturze pokojowej, w szczelnie zamkniętych fiolkach. Wraz z upływem czasu mieszaniny nie uległy ujednoczeniu, w związku z tym nie wykorzystano ich do dalszych badań.

#### IV.2.5.5. Przygotowanie roztworu fazy polidimetylosiloksanowej (OV1)

Zbadano również możliwość zastosowania, jako lepszycze służące do zespolenia sorbentu z powierzchnią włókna szklanego roztworu fazy polidimetylosiloksanowej (OV1). W Tabeli 12 zestawiono metodykę przygotowania roztworu fazy OV1. Uzyskane zgodnie z tą procedurą roztwory polimeru, charakteryzowały się klarownością, przezroczystością, stabilnością, odpowiednią gęstością i znalazły ostatecznie zastosowanie w procesie przygotowania włókna SPME.

Tabela 12. Metodyka przygotowania roztworu fazy OV1

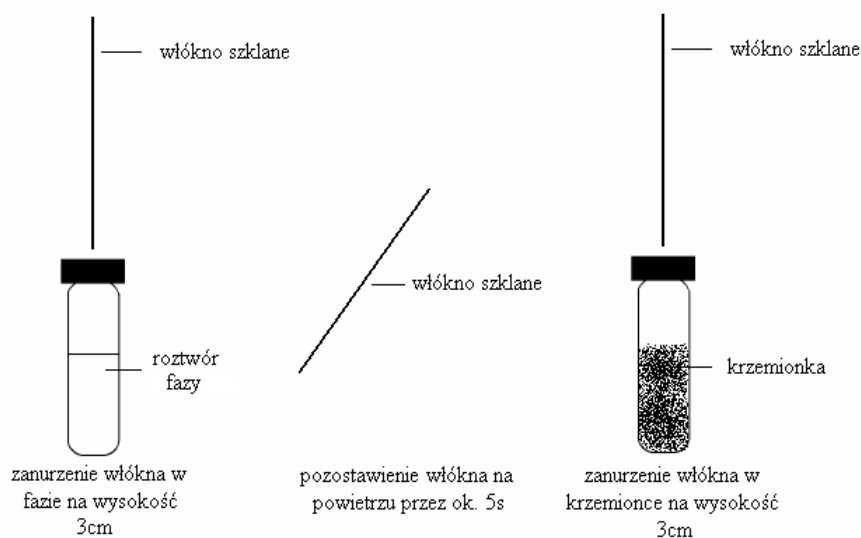
L.p.	Stężenie procentowe roztworu [%]	Naważka fazy OV1 [g]	Objętość rozpuszczalnika organicznego – chloroformu [ml]
1.	1	0,0125	1,25
2.	2	0,0250	1,25
3.	3	0,0375	1,25
4.	4	0,0500	1,25

Uzyskane według powyższej procedury roztwory, znalazły zastosowanie w procesie przygotowania włókna SPME.

### ***IV.2.6. Procedura immobilizacji sorbentu na powierzchni włókna kwarcowego***

#### *IV.2.6.1. Procedura nanoszenia sorbentu z wykorzystaniem fazy metylowodoropolisiloksanowej*

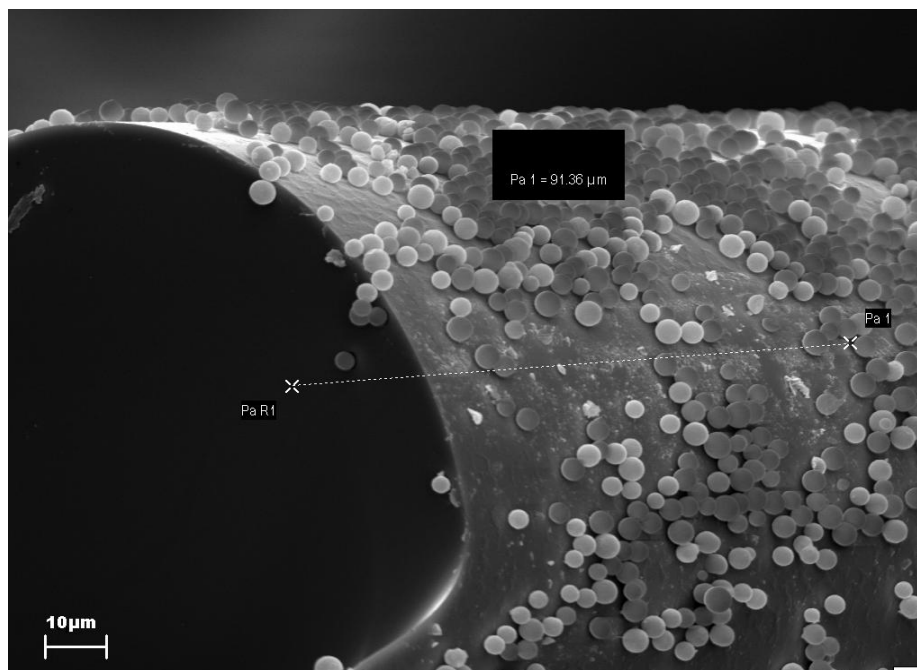
Przed przystąpieniem do procedury nanoszenia sorbentu, włókno kwarcowe poddano procesowi oczyszczania i aktywacji powierzchni. Następnie włókno o odpowiedniej długości zanurzone we fiolce z roztworem fazy na głębokość 3cm, po czym umieszczono we fiolce zawierającej sorbent. Metodykę immobilizacji sorbentu na włóknie kwarcowym obrazuje rysunek 9.



Rysunek 9. Procedura immobilizacji sorbentu na powierzchni włókna kwarcowego

Włókna SPME przygotowane według powyższej metody zostały poddane procesowi kondycjonowania gradientem temperaturowym  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do temperatury  $220^{\circ}\text{C}$  przez 15h w celu usunięcia wszelkich zanieczyszczeń oraz utrwalenia połączenia pomiędzy fazami: stacjonarną oraz ciekłą.

Zdjęcia wykonane z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego dowodzą, że niezależnie od stężenia wykorzystanej fazy nie jest możliwe uzyskanie równomiernego pokrycia oraz monowarstwy sorbentu (rys.10)

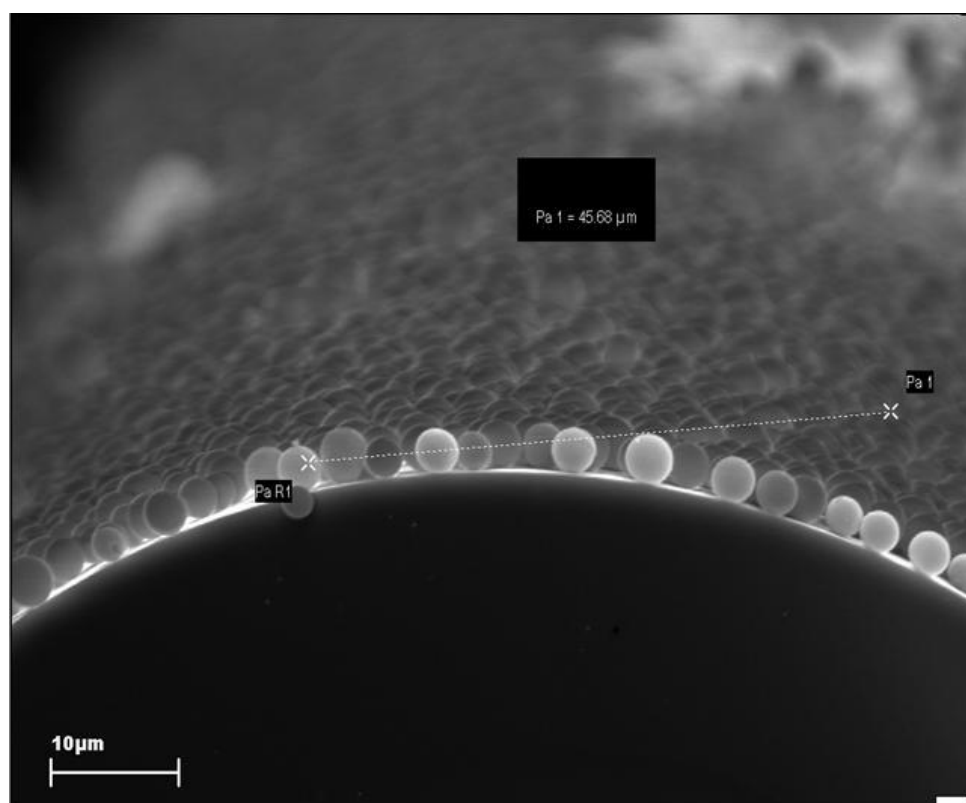
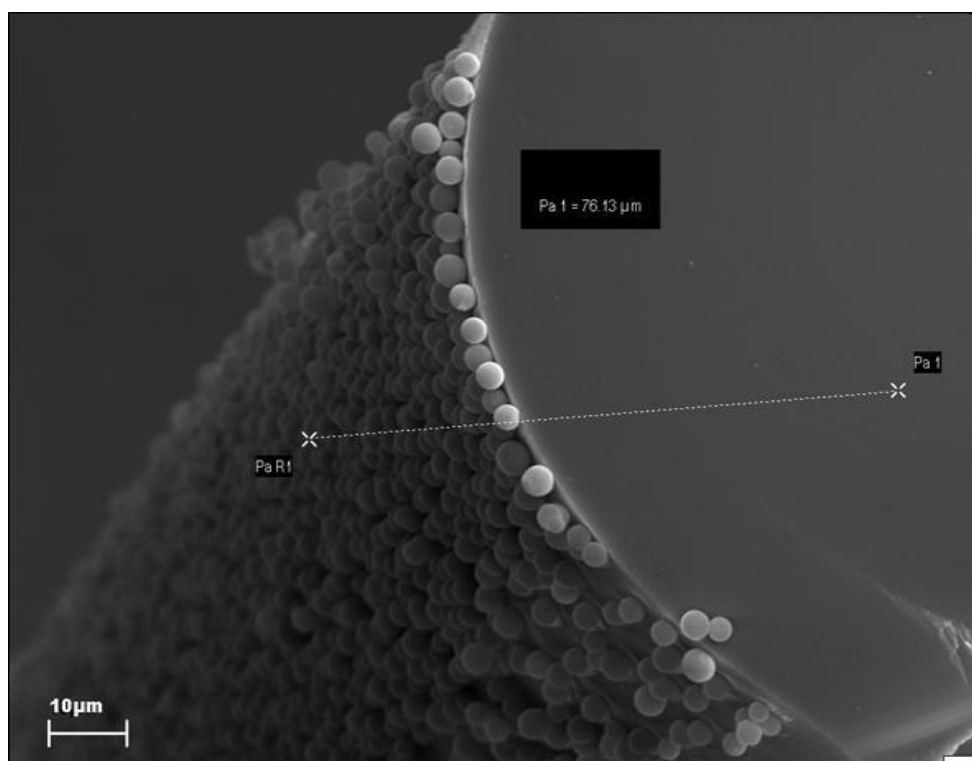


Rysunek 10. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem fazy metylowodoropolisiloksanowej

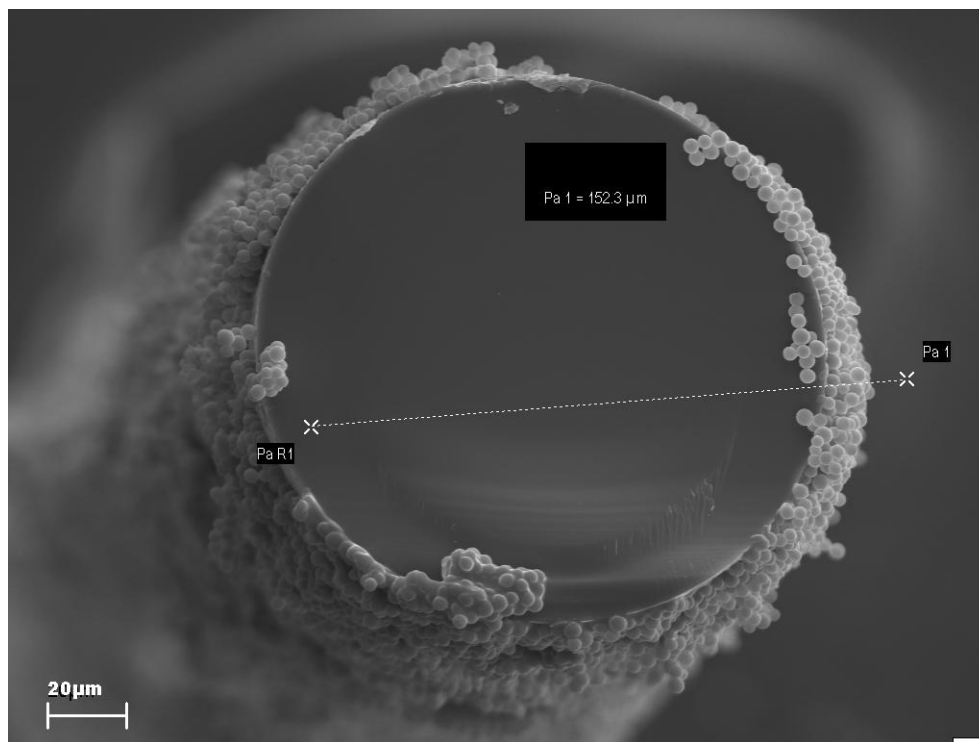
#### IV.2.6.2. Procedura nanoszenia sorbentu z wykorzystaniem fazy polidimetylosiloksanowej (OV1)

Roztwór fazy OV1 został wykorzystany do przygotowania włókna SPME. Procedurę immobilizacji sorbentu na powierzchni włókna kwarcowego prowadzono zgodnie z metodyką przedstawioną schematycznie na rysunku 9. Odpowiednio przygotowane włókno kwarcowe zanurzono we fiolce zawierającej roztwór fazy polidimetylosiloksanowej o odpowiednim stężeniu, a następnie zanurzono we fiolce z sorbentem na głębokość 3cm. Włókna SPME kondycjonowano w stałej temperaturze 200°C przez 1h celem usunięcia wszelkich zanieczyszczeń powstałych w trakcie preparatyki oraz utwardzenia połączenia pomiędzy fazami.

Na podstawie zdjęć wykonanych przy pomocy mikroskopu elektronowego stwierdzono, że monowarstwowe pokrycie włókna kwarcowego można uzyskać jedynie z wykorzystaniem 3% roztworu fazy polidimetylosiloksanowej (OV1). Zastosowanie roztworów o mniejszym stężeniu nie gwarantuje uzyskania jednolitej warstwy sorbentu. Użycie roztworów fazy o dużym stężeniu sprzyja tworzeniu się znacznych aglomeratów sorbentu. Na rysunkach 11 i 12 przedstawiono zdjęcia mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem: a) 3% roztworu fazy OV1 (rys. 11A-B), b) 5% roztworu fazy OV1 (rys.12).



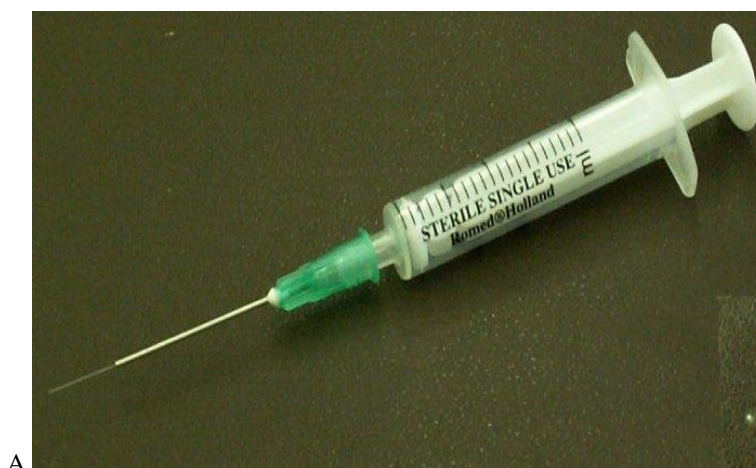
Rysunek 11(A-B). Zdjęcia mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem 3% roztworu fazy OV1



Rysunek 12. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem 5% roztworu fazy OV1

#### IV.2.6.3. Montaż i kondycjonowanie włókna SPME

Umieszczenie włókna SPME w holderze, umożliwi wykorzystanie go w procesie mikroekstrakcji i analizie chromatograficznej. Początkowo zastosowano polimerową strzykawkę o pojemności 2ml firmy Romed@Holland oraz stalową igłę o średnicy 0,8mm firmy BD Microlance (Becton Dickinson S.A.) Stalowa rurka, w której umieszczono włókno SPMR została zamocowana do tłoka strzykawki za pomocą kleju epoksydowego. Wykonany w ten sposób holder przedstawia rysunek 13(A-C).



A.



B.



C.

Rysunek 13(A-C). Włókno SPME umieszczone w polimerowej strzykawce

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że zastosowanie w analizie chromatograficznej przygotowanego w ten sposób holderu nie przynosi zamierzonego rezultatu. W momencie umieszczenia włókna SPME w dozowniku chromatografu gazowego, ciśnienie wypycha tłok strzykawki, uniemożliwiając desorpcję i transport zaadsorbowanych na włóknie analitów. Zamontowane w tej sposób włókno SPME nie zachowuje wymaganej szczelności.

Kolejno wykonano holder, wykorzystując do tego celu szklaną mikrostrzykawkę o objętości 1 $\mu$ l z serii 7000 firmy Hamilton (rys. 14)



Rysunek 14. Schemat budowy mikrostrzykawki Hamilton 7000

Mikrostrzykawka została rozłożona na części, usunięto z niej drut umocowany w tłoku, a w jego miejsce wprowadzono włókno szklane z naniesionym sorbentem z wykorzystaniem kropli kleju epoksydowego. Wykonaną w ten sposób strzykawkę użyto do analizy SPME, jednak w momencie desorpcji analitów pod wpływem wysokiej temperatury dozownika, zaobserwowano gwałtowny spadek ciśnienia na kolumnie chromatograficznej, uniemożliwiając tym samym prawidłowe przeprowadzenie analizy chromatograficznej.

W kolejnym etapie badań włókno szklane umieszczono w oryginalnym holderze SPME firmy Supelco (rys. 15). W tym celu usunięto stalową rurkę a w jej miejsce wprowadzono włókno kwarcowe z immobilizowanym na jego powierzchni sorbentem, wykorzystując do tego kroplę kleju epoksydowego.

Powodzenie całego procesu uzależnione jest od centralnego umiejscowienia włókna SPME w holderze, w przeciwnym wypadku włókno kruszy się i łamie, uniemożliwiając analizę.



Rysunek 15. Holder SPME firmy Supleco

### ***IV.3. Identyfikacja związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, z którego wykonano kolorowy nadruk płyty DVD***

#### ***IV.3.1. Metodyka procesu zateżnienia związków organicznych z fazy gazowej do fazy stałej***

Proces identyfikacji lotnych składników tuszu światłoutwardzalnego rozpoczęto z wykorzystaniem techniki mikroekstrakcji analitów z fazy gazowej do fazy stacjonarnej. Niewielki fragment płyty DVD wraz z kolorowym nadrukiem pokruszono i umieszczono w szklanej fiolce, szczelnie zamkniętej polimerową septą. Fiolkę z próbką umieszczono w termostacie w celu utrzymania stałej temperatury prowadzonej ekstrakcji. Wartość temperatury ekstrakcji określono w oparciu o warunki temperaturowe panujące wewnątrz pracującego odtwarzacza DVD. Ustalono, że wartość temperatury ekstrakcji powinna być zbliżona do wartości temperatury wnętrza odtwarzacza DVD i przyjmować wartość 60°C. Następnie do wnętrza fiolki przez otwór w sepcie wprowadzono igłę mikrostrzykawki, gdzie poprzez naciśnięcie tłoka wysunięto z igły włókno SPME z naniesioną fazą i eksponowano na działanie fazy nadpowierzchniowej. Czas ekspozycji włókna równy 5 minut określono na podstawie danych literaturowych [89]. Po upływie określonego czasu ekspozycji, włókno zostało wprowadzone do igły, którą usunięto z fiolki. Lotne związki organiczne, wchodzące w skład frakcji zostały zaadsorbowane na powierzchni włókna SPME.

### ***IV.3.2. Analiza zaadsorbowanych związków organicznych za pomocą chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo jonizacyjnym***

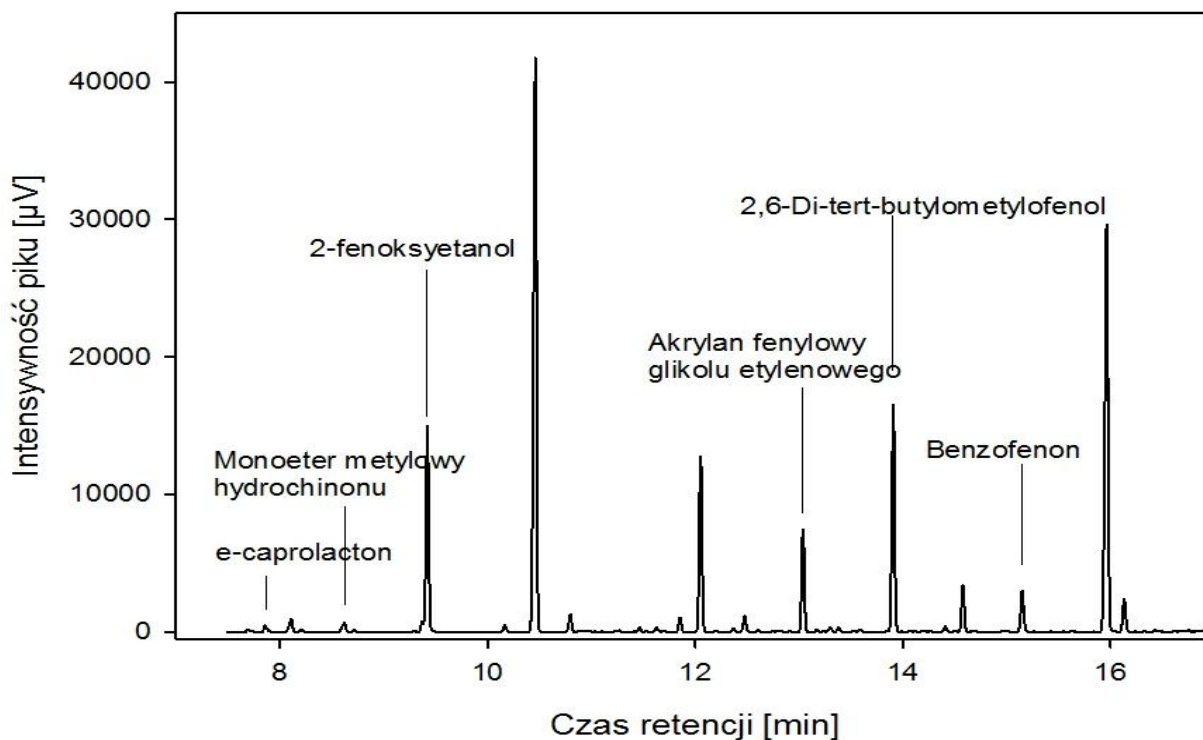
#### *IV.3.2.1. Analiza z zastosowaniem włókna SPME z krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi*

Kolejnym krokiem realizowanej procedury analitycznej było przeprowadzenie analizy zaadsorbowanych na włóknie związków z wykorzystaniem techniki mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej oraz chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną z zastosowaniem nowego, wykonanego zgodnie z opracowaną w ramach prowadzonych badań włókna SPME z immobilizowaną na jego powierzchni krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi, pełniącą funkcje fazy stacjonarnej.

Przyjęto następujące parametry pracy chromatografu gazowego wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny:

- temperatura dozownika: 180°C;
- temperatura pracy kolumny: 60°C utrzymywana przez 2minuty, następnie wzrost do temperatury 220°C ze stałą prędkością 10°C/minutę, ostatecznie utrzymywanie temperatury 220°C przez 10minut;
- temperatura detektora : 250°C.

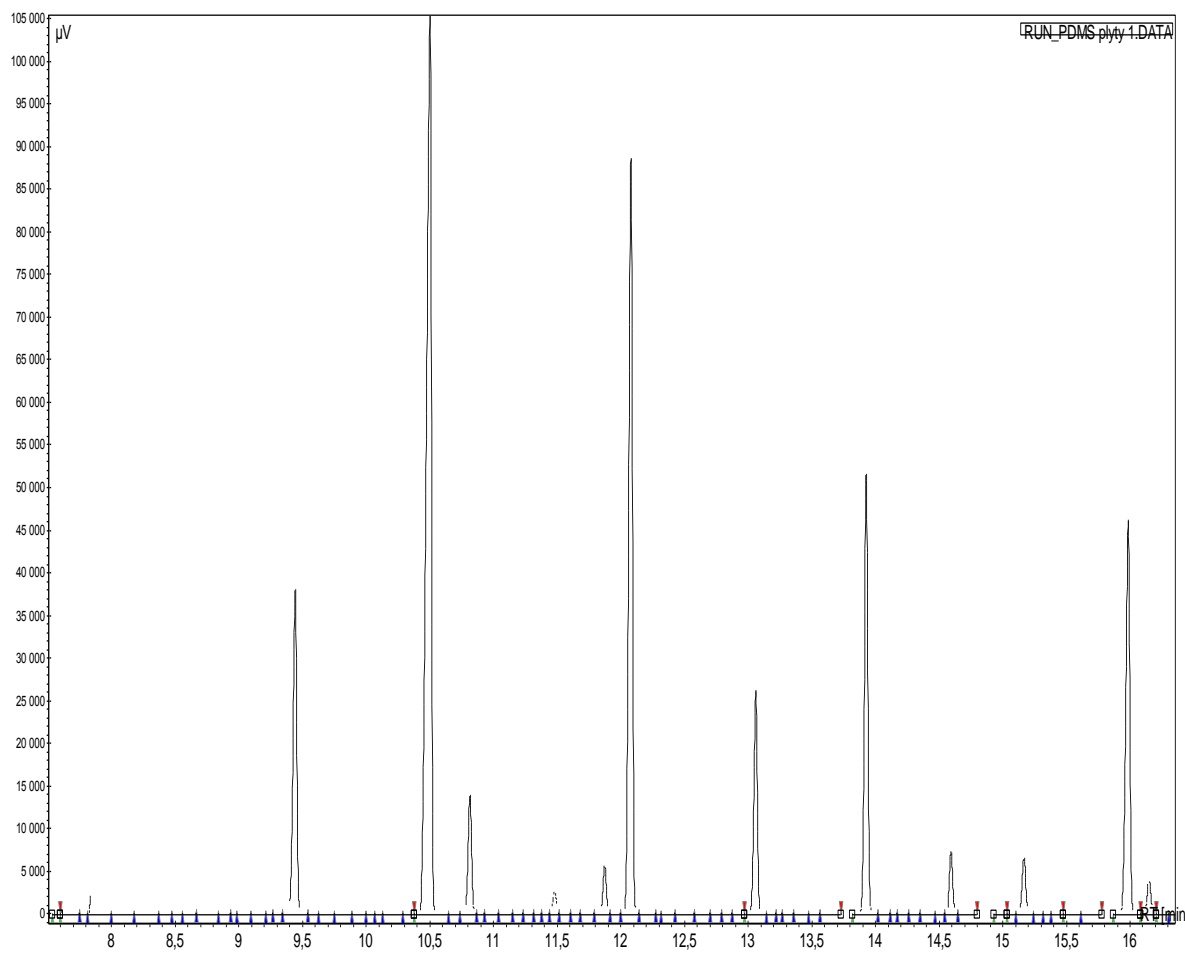
W stałych i jednakowych warunkach wykonano serię pomiarów składu tuszu światłoutwardzalnego. W rezultacie uzyskano chromatogramy przedstawiające sygnały pochodzące od związków organicznych zaadsorbowanych na włóknie (rys. 16). Każdy chromatogram obrazował sygnały pochodzące od około 50 substancji chemicznych, co świadczy o skomplikowanym i złożonym składzie tuszu światłoutwardzalnego, użytego do wyprodukowania kolorowego nadruku płyt DVD. Na rysunku 16 przedstawiono chromatogram SPME-GC/FID (*ang. Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography/Flame Ionisation Detector*) lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego.



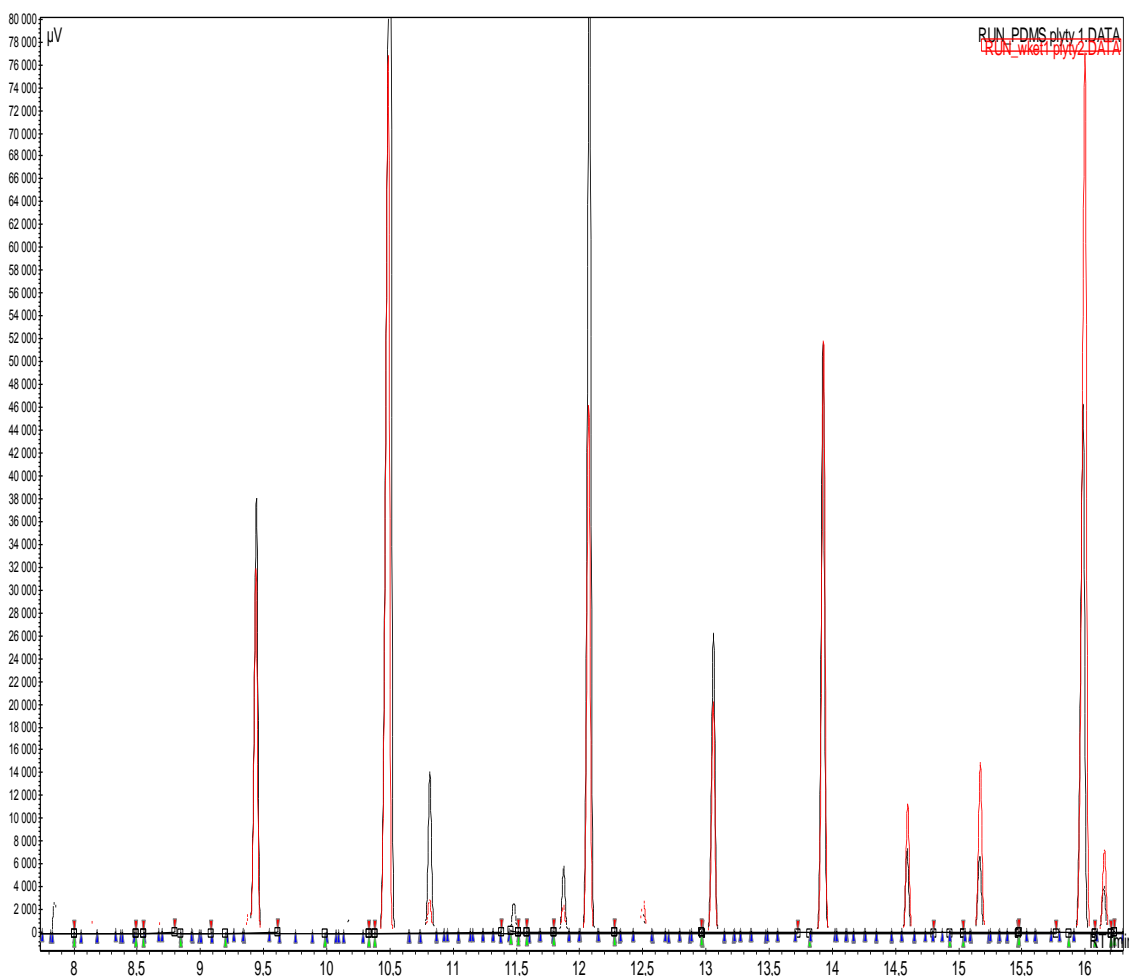
Rysunek 16. Chromatogram SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego z wykorzystaniem włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi

#### IV.3.2.2. Analiza z zastosowaniem komercyjnego włókna PDMS

W celu weryfikacji poprawności funkcjonowania wykonanego samodzielnie włókna pokrytego modyfikowaną krzemionką i przetestowania jego właściwości sorpcyjnych, wykonano analizę chromatograficzną lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, zaadsorbowanej na komercyjnym włóknie SPME, z fazą polidimetylosiloksanową (PDMS) (rys. 17). Warunki ekstrakcji oraz pomiaru były identyczne jak w przypadku, gdy stosowano włókno sporządzone samodzielnie. Chromatogramy otrzymane w wyniku przeprowadzonego eksperymentu porównano z chromatogramem wykonanym przy użyciu włókna pokrytego zmodyfikowaną krzemionką. Zestawione ze sobą wykresy, widoczne na rysunku 18, różnią się intensywnością pików przy jednakowych parametrach retencyjnych poszczególnych sygnałów. Można wysnuć wniosek, iż właściwości sorpcyjne testowanego włókna kwarcowego są zbliżone do właściwości sorpcyjnych komercyjnego włókna PDMS. Na rysunku 18 przedstawiono chromatogram lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonane przy użyciu włókna PDMS oraz włókna kwarcowego z immobilizowaną na jego powierzchni krzemionką.



Rysunek 17. Chromatogram lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonany za przy użyciu włókna PDMS



Rysunek 18. Porównanie chromatogramów lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonanych za przy użyciu włókna PDMS (kolor czarny) oraz włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminonowymi (kolor czerwony)

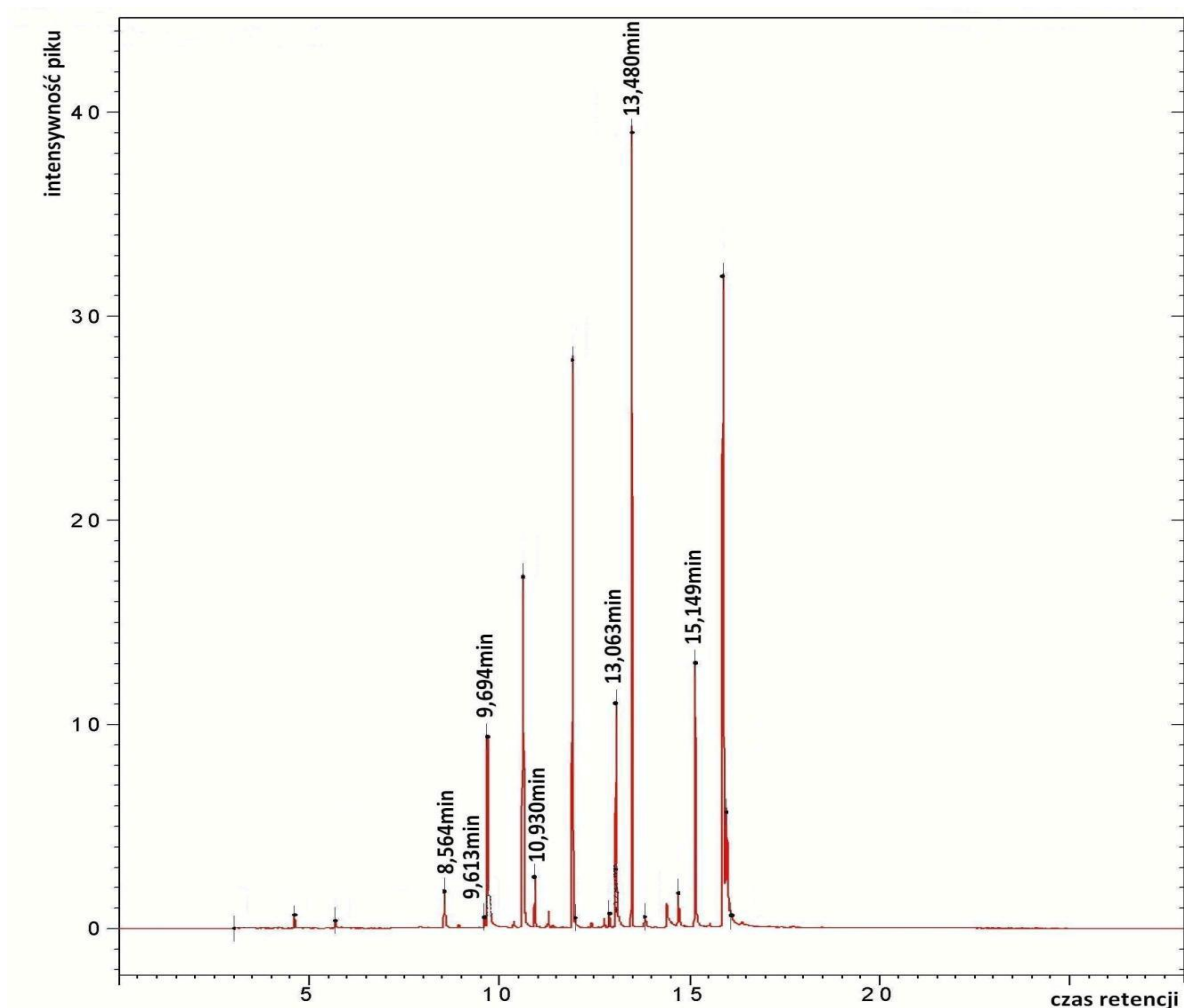
### ***IV.3.3. Analiza składników tuszu światło utwardzalnego z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detektorem masowym***

Wstępnej identyfikacji zaadsorbowanych na włóknie związków organicznych dokonano z wykorzystaniem chromatografu gazowego wyposażonego w spektrometr mas. W wyniku analizy otrzymano chromatogram związków wyizolowanych z próbki płyty DVD z kolorowym nadrukiem oraz widma masowe poszczególnych substancji. Bazując na dostępnym zbiorze widm masowych dokonano identyfikacji tychże związków. Ten etap procedury analitycznej okazał się bardzo istotny w dalszym toku ustalania ostatecznego składu lotnej frakcji farby światłoutwardzalnej. W oparciu o uzyskane widma chromatograficzne i masowe wybrano sześć związków, od których pochodziły stosunkowo intensywne piki i których obecność w wyizolowanej części tuszu była najbardziej prawdopodobna.

Ich lista przedstawia się następująco:

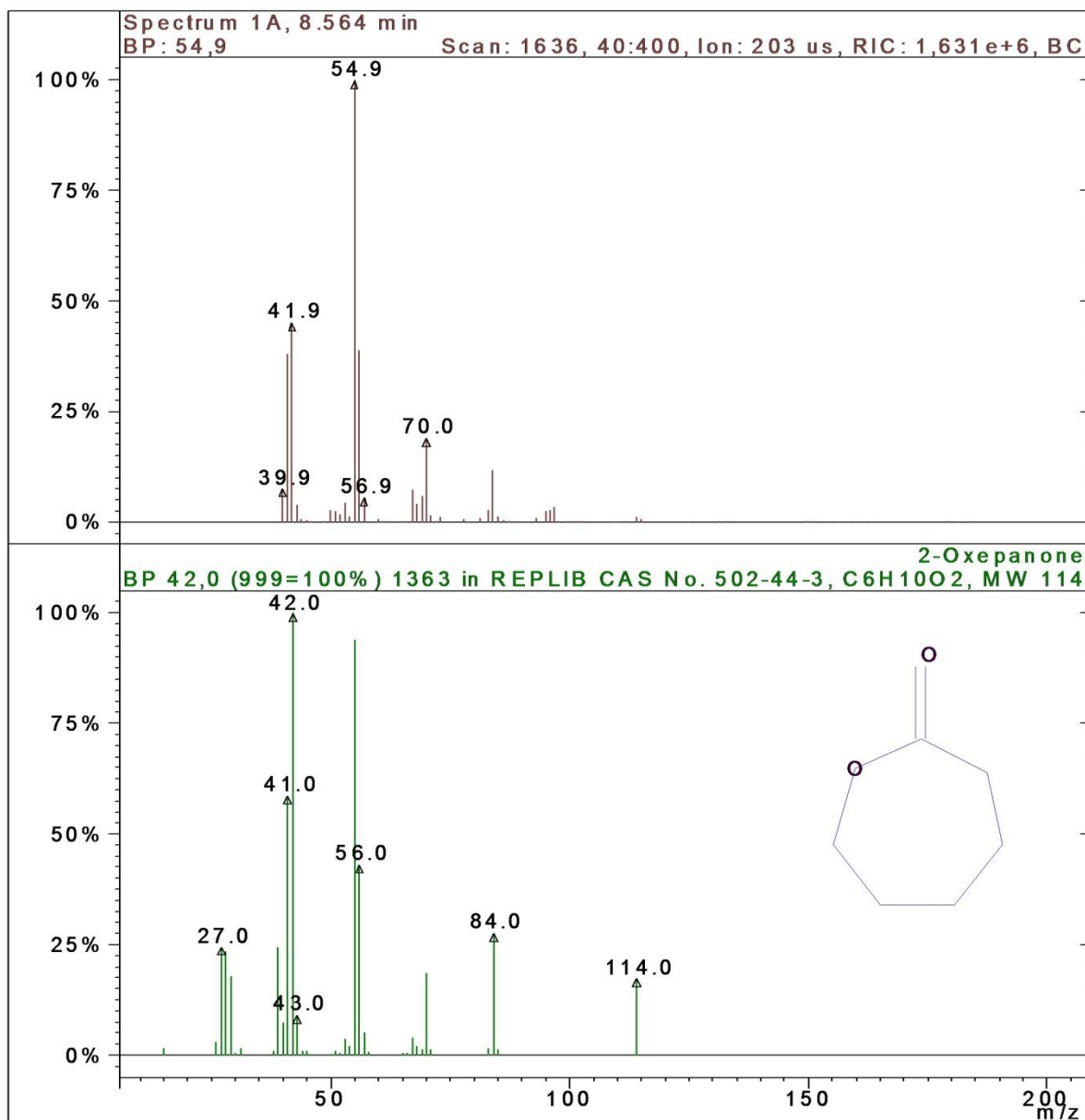
- $\epsilon$ -kapolakton;
- monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ);
- 2-fenoksyetanol;
- 2,4,6-trimetylobenzaldehyd;
- akrylan fenylowy glikolu etylenowego;
- 2,6-di-*tert*-butylo-4-metylofenol (BHT);
- benzofenon.

Na rysunku 19 przedstawiono chromatogram, a na rysunkach 20- 26 przedstawiono widma masowe (MS) wybranych związków i ich porównanie z widmami wzorcowymi.



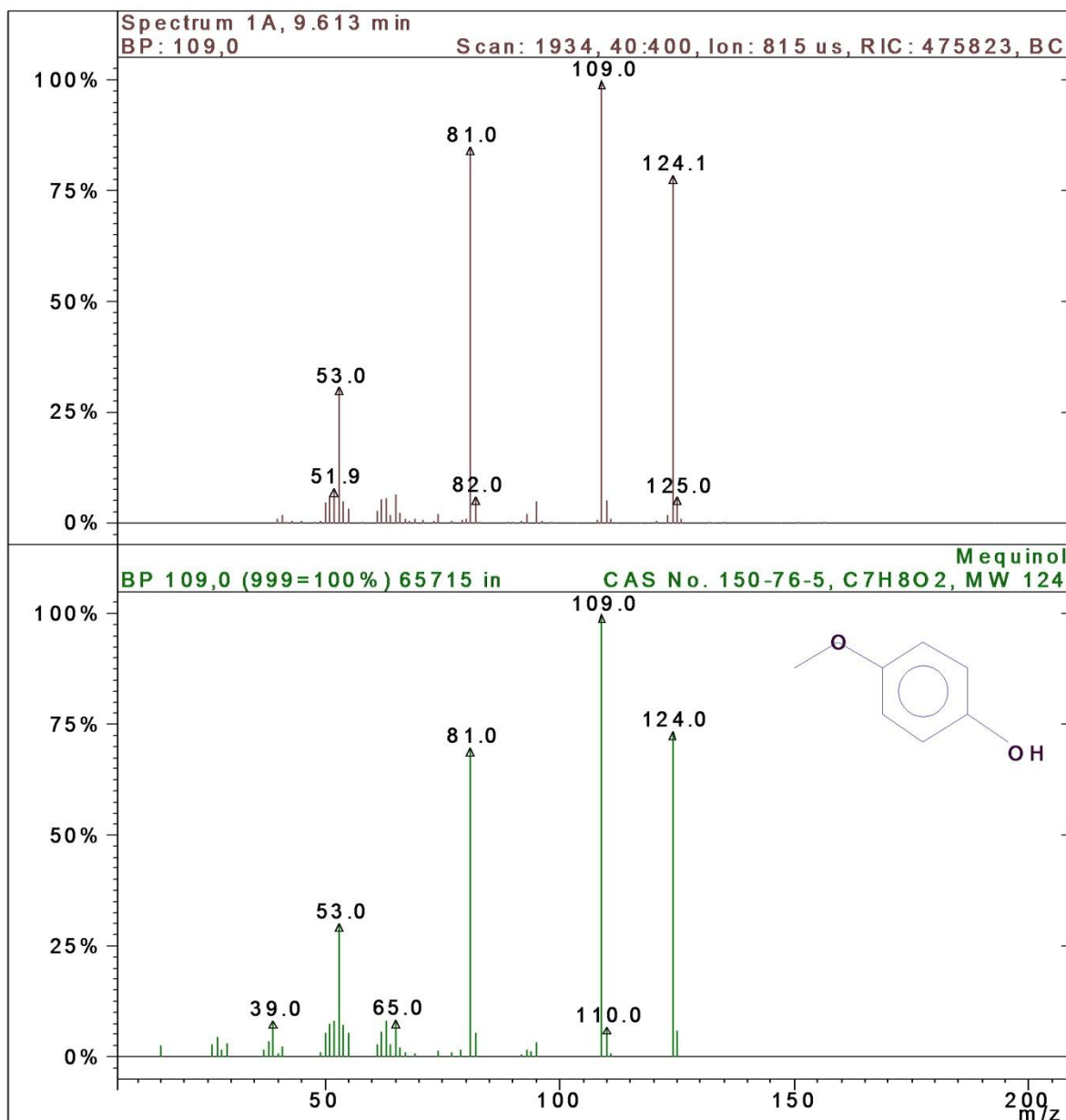
Rysunek 19. Chromatogram GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

- $\epsilon$ -kapolakton



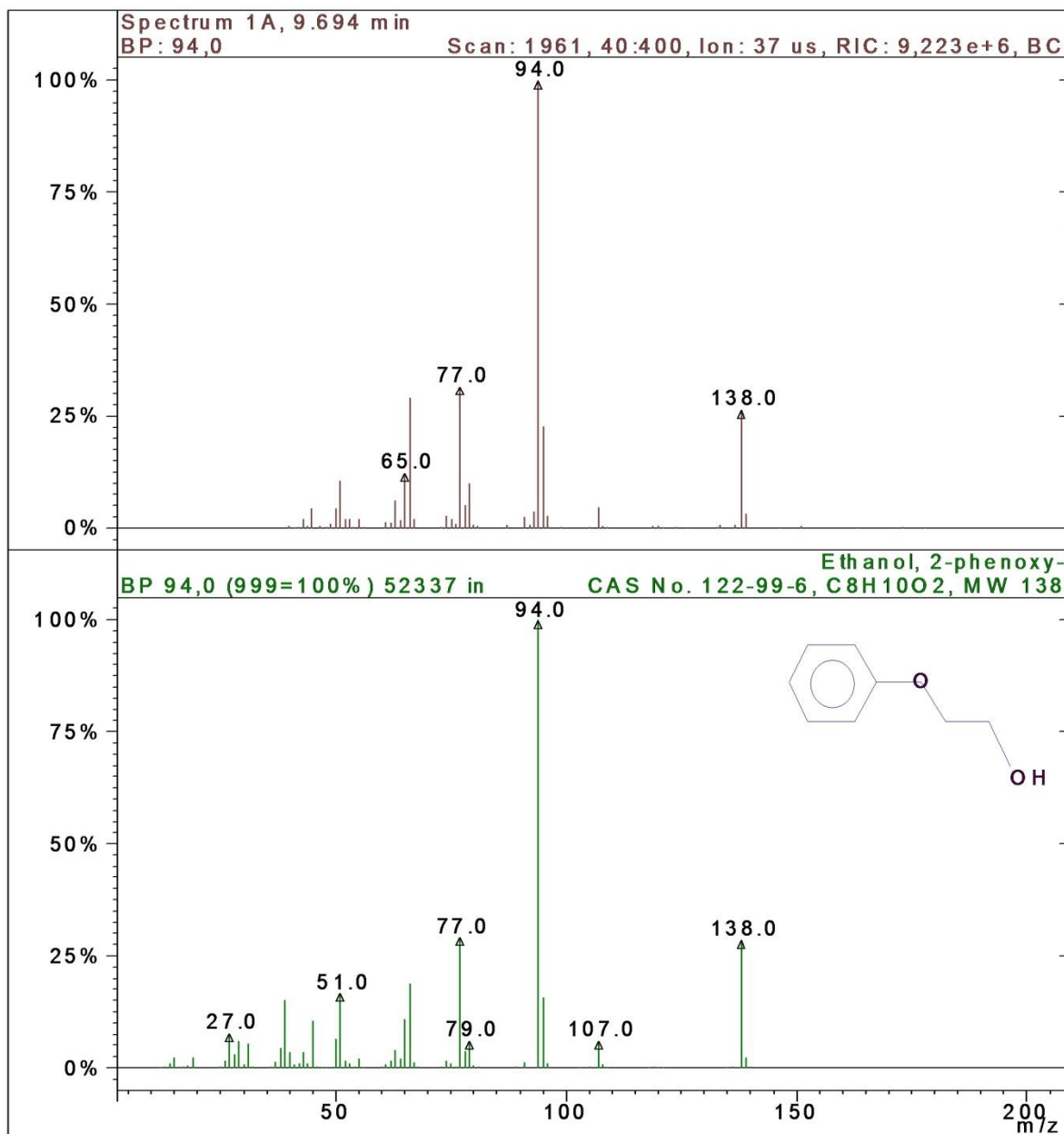
Rysunek 20. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca  $\epsilon$ -kapolaktonu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- Monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ)



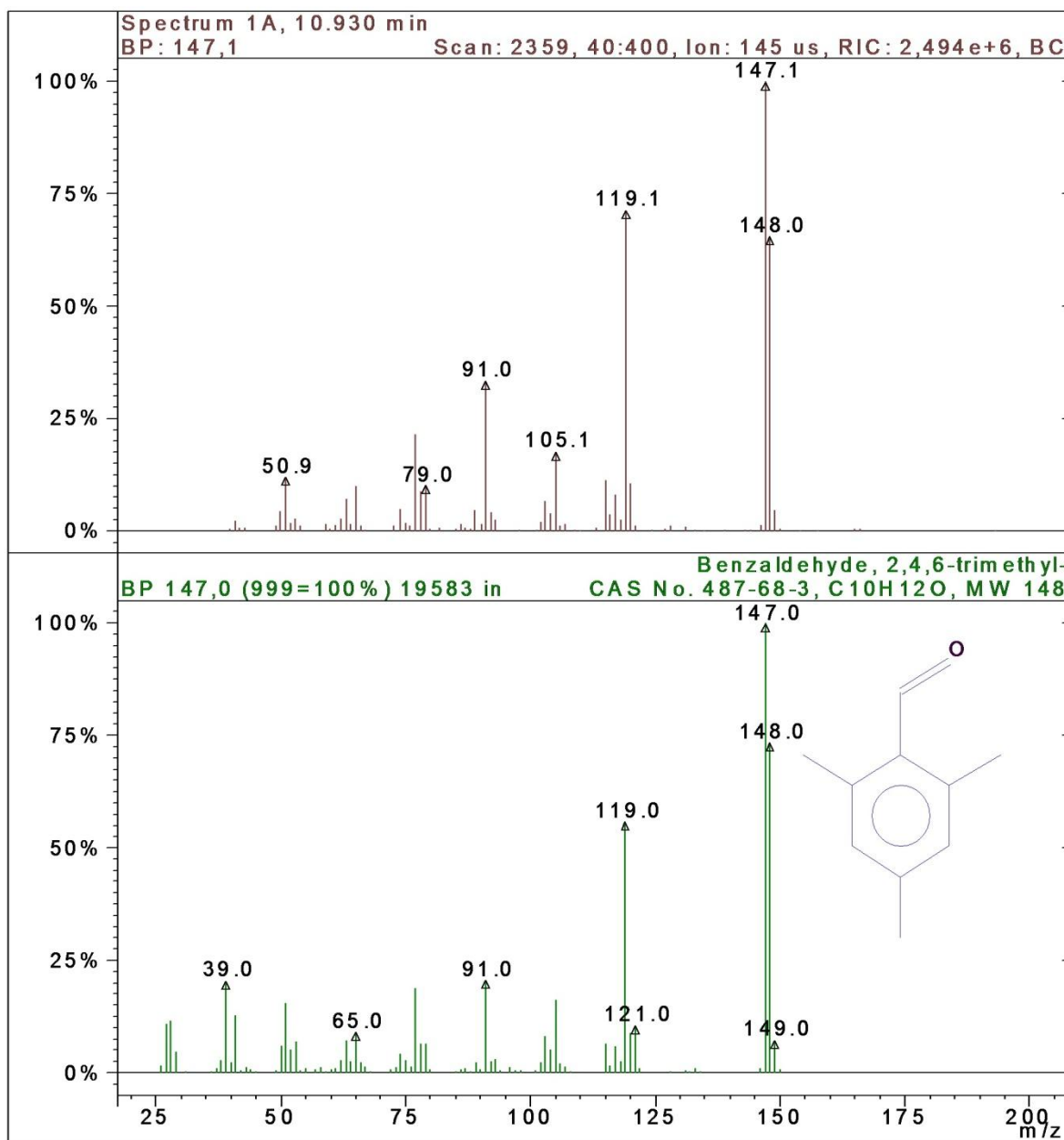
Rysunek 21. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca monoeteru metylowego hydrochinonu (MEHQ) pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- 2-fenoksyetanol



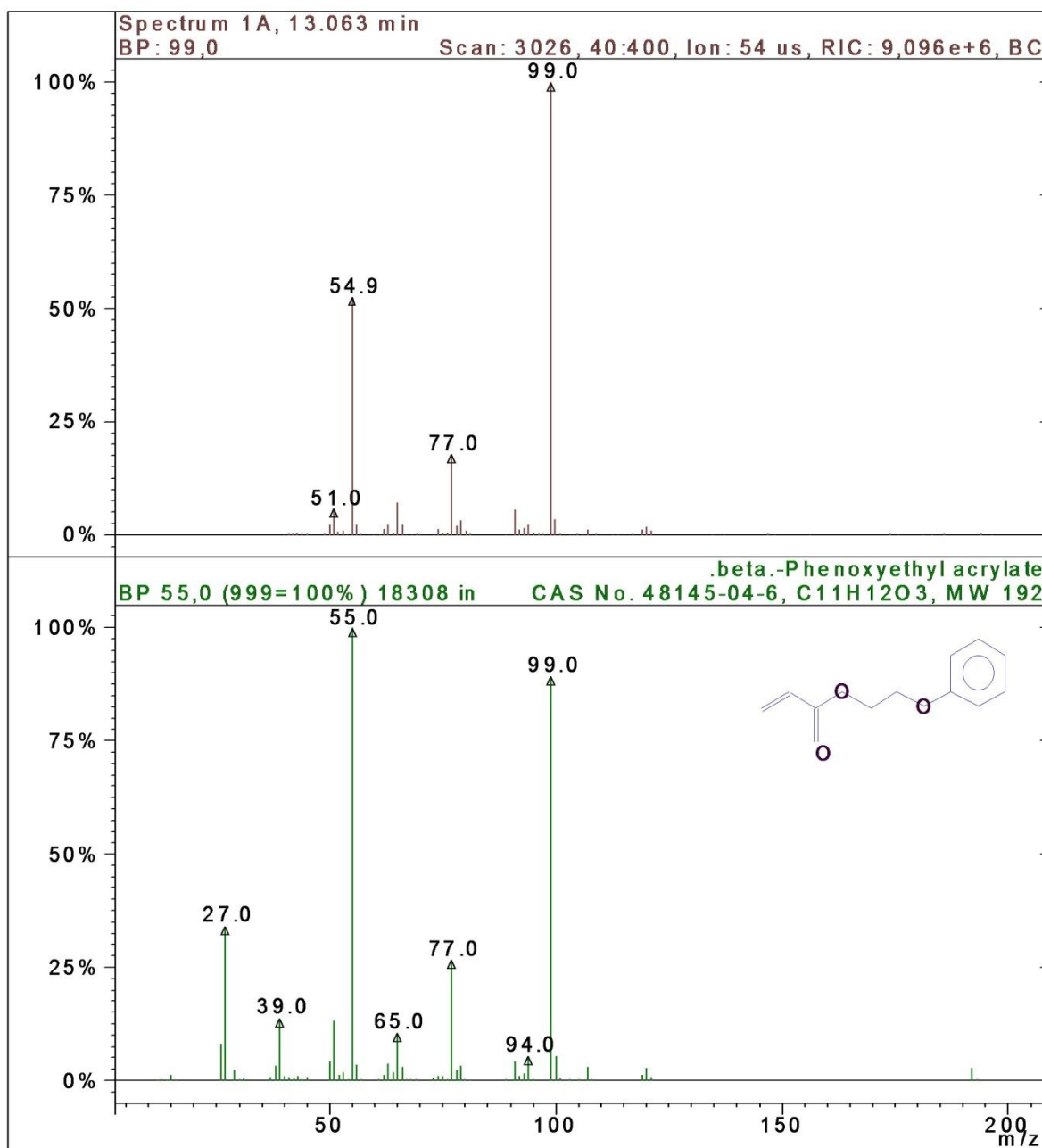
Rysunek 22. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2-fenoksyetanolu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- 2,4,6 – trimetylobenzaldehyd



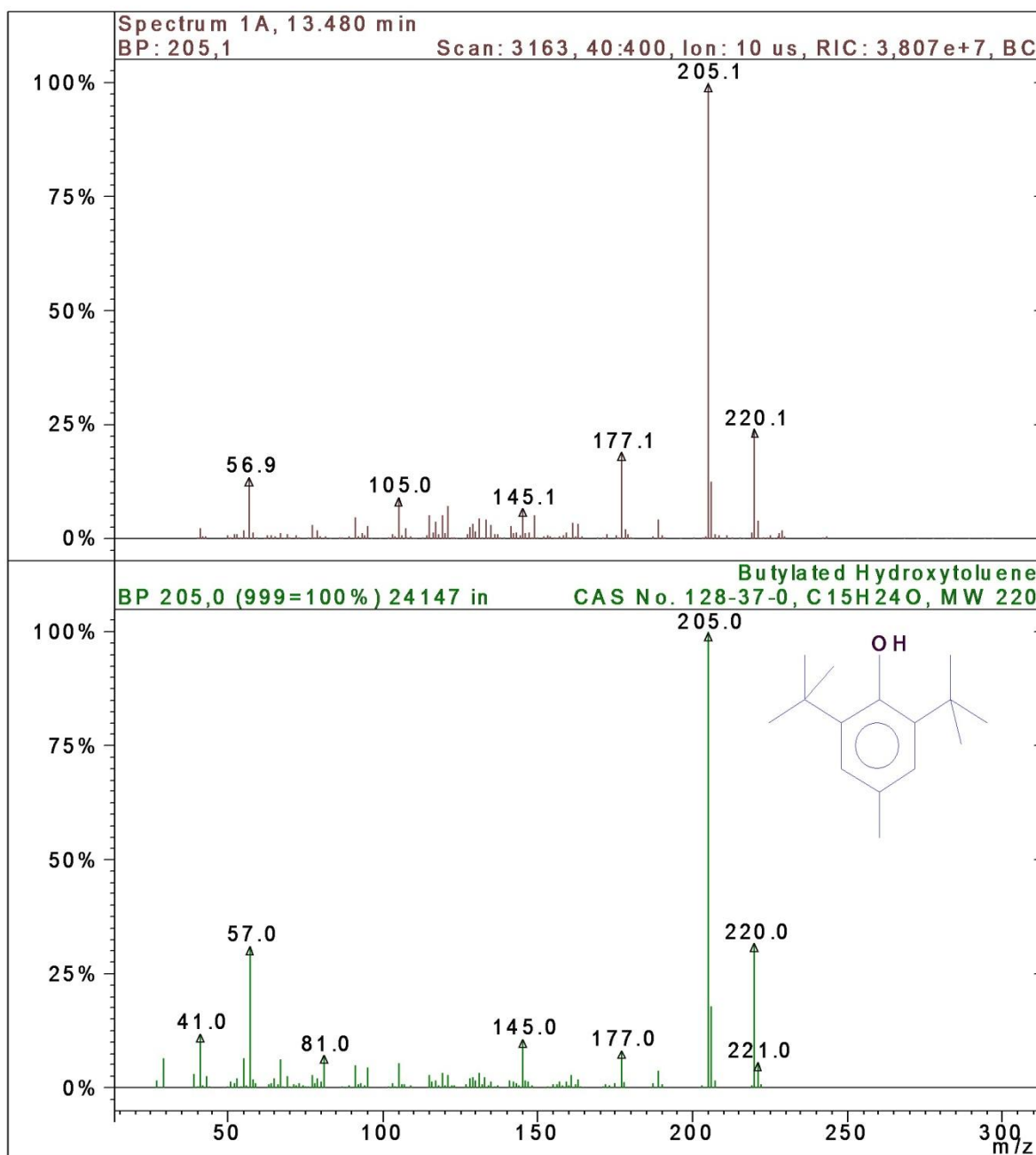
Rysunek 23. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- Akrylan fenylowy glikolu etylowego



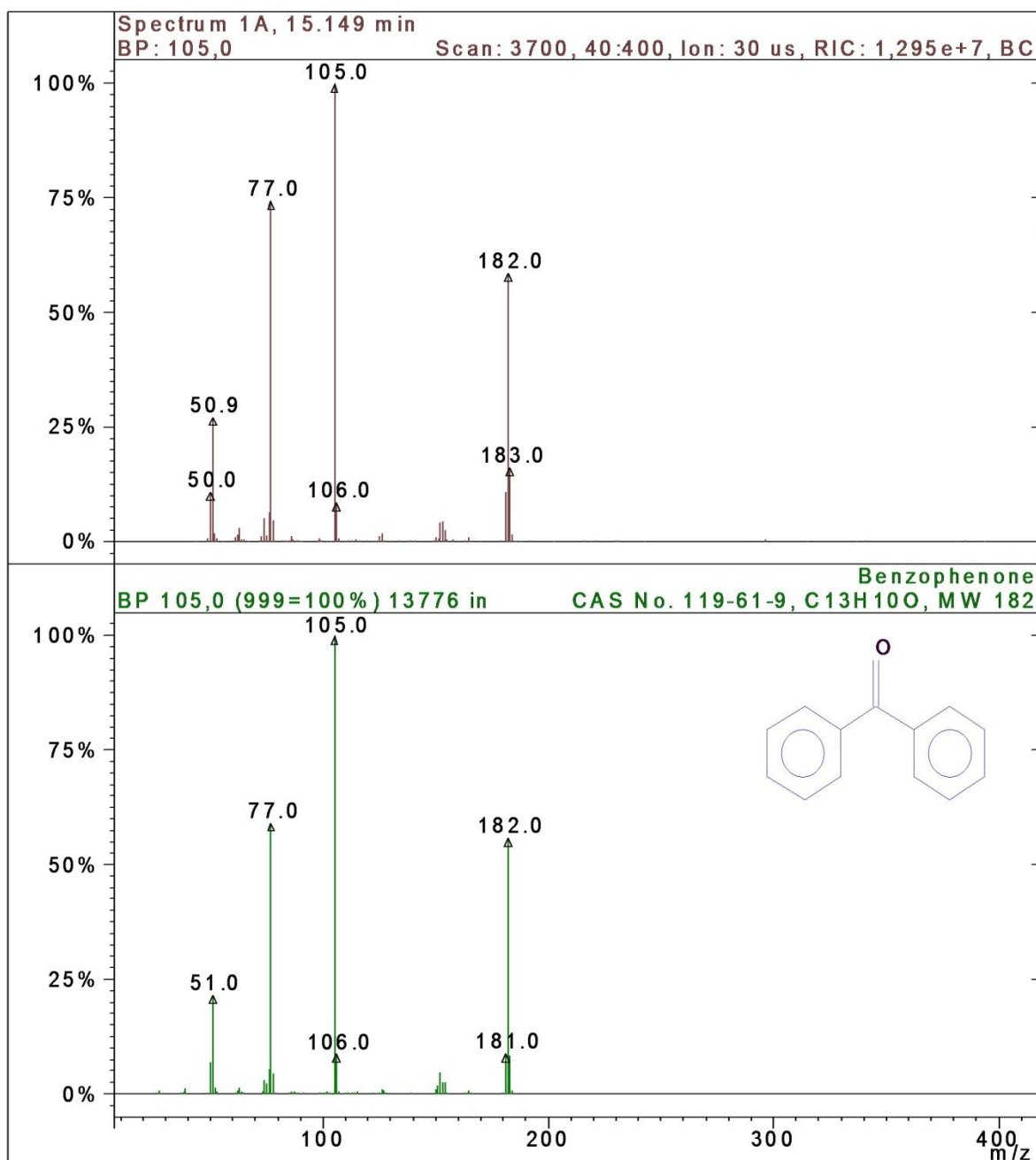
Rysunek 24. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca akrylanu fenylowego glikolu etylenowego pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- 2,6 – di- tert – butylo -4- metylofenol (BHT)



Rysunek 25. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu (BHT) pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

- Benzofenon



Rysunek 26. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca benzofenonu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne)

#### ***IV.3.4. Porównanie parametrów retencyjnych wzorców z parametrami wstępnie zidentyfikowanych związków organicznych***

W celu ostatecznego potwierdzenia obecności wyżej wymienionych związków chemicznych w lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykorzystanego do produkcji kolorowego nadruku na płycie DVD przeprowadzono analizę chromatograficzną roztwów wzorcowych tych substancji w stałych warunkach pomiaru. Porównanie parametrów retencji pików danego związku chemicznego na chromatogramie lotnej frakcji z parametrami retencji sygnału danego związku na chromatografie wzorca pozwoliło na dokonanie końcowej identyfikacji substancji chemicznej w badanej próbce.

##### *IV.3.4.1. Sporządzenie wzorców*

Przygotowanie roztworów wzorcowych rozpoczęto od oszacowania optymalnego stężenia wzorca, którego wartość przekraczałaby granicę oznaczalności aparatu oraz nie doprowadziłaby do przeładowania kolumny chromatograficznej. W celu uniknięcia zanieczyszczenia próbki poprzez wprowadzenie rozpuszczalników organicznych, które mogą wpłynąć na wynik pomiaru bądź zakłócić przebieg procesu analitycznego, substancje wzorcowe o stałym stanie skupienia stopiono, natomiast związki chemiczne w postaci cieczy analizowano bez uprzedniej modyfikacji.

Metodyka przygotowania wzorców przedstawia się następująco:

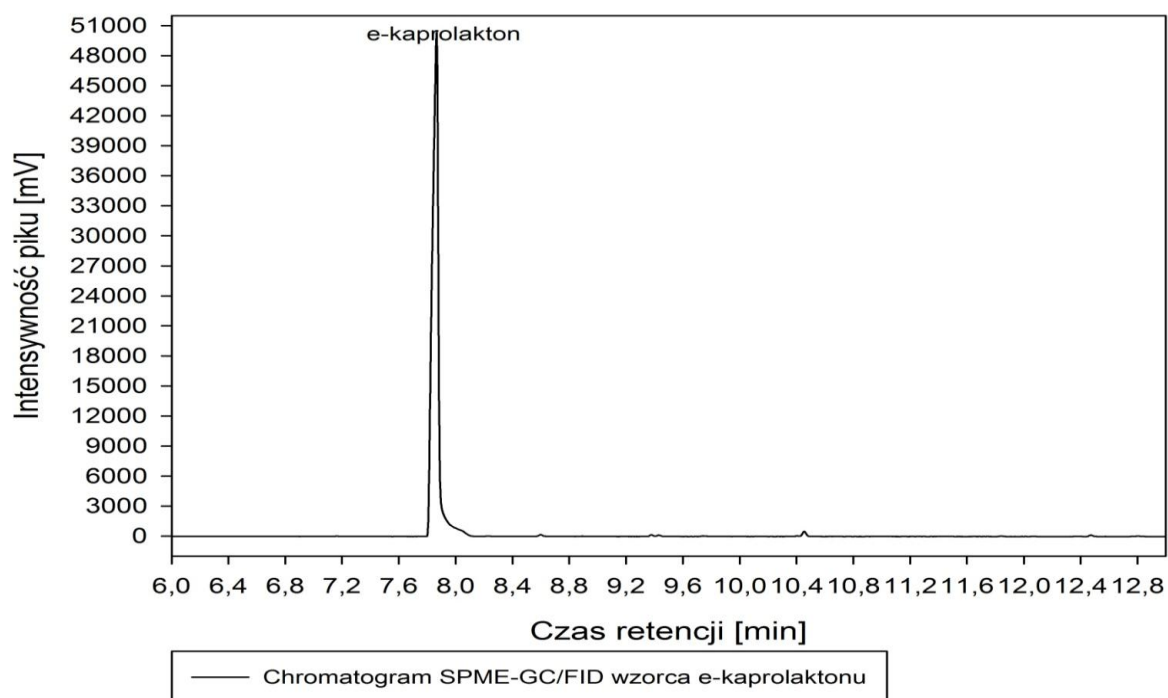
- ε-kaprolakton – w szklanej fiolce umieszczono 0,5ml związku. Fiolka została szczelnie zamknięta nakrętką wyposażoną w polimerową septę;
- monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ) – w szklanej fiolce umieszczono 0,5 g kryształków związku, fiolkę zamknięto szczelnie za pomocą nakrętki wyposażonej w polimerową septę. Fiolkę ze związkiem chemicznym umieszczono w termostacie i poddano stopieniu w temperaturze 60°C (temperatura topnienia: 55-57°C);
- 2-fenoksyetanol – w szklanej fiolce umieszczono 0,5 ml 2-fenoksyetanolu, a następnie fiolkę zamknięto szczelnie za pomocą nakrętki wyposażonej w polimerową septę;
- 2,4,6-trimetylobenzaldehyd – w szklanej fiolce umieszczono 0,3 ml związku. Fiolkę zamknięto szczelnie za pomocą nakrętki wyposażonej w polimerową septę;
- akrylan fenylowy glikolu etylenowego – w szklanej fiolce umieszczono 0,5 ml związku, a następnie fiolkę szczelnie za pomocą nakrętki wyposażonej w polimerową septę;
- 2,6-di-*tert*-butylo-4-metylofenol (BHT) – w szklanej fiolce umieszczono 0,5 g kryształków związku. Zamknięto szczelnie za pomocą nakrętki z septą, następnie umieszczono w termostacie, gdzie związek w temperaturze 70°C (temperatura topnienia: 69-70°C) uległ stopieniu;
- benzofenon – w szklanej fiolce umieszczono 0,1 g kryształków związku, fiolkę zamknięto szczelnie za pomocą nakrętki z septą, następnie umieszczono w termostacie, gdzie związek w temperaturze 60°C uległ stopieniu.

## IV.3.4.2. Analiza wzorców

Przeprowadzono analizę chromatograficzną przygotowanych roztworów wzorcowych. Przy doborze odpowiedniego czasu ekspozycji włókna SPME i czasu desorpcji kierowano się uzyskaniem symetrycznego, ostrego piku o jak najwyższej intensywności sygnału pochodzącego od wzorca substancji. Parametry pracy chromatografu gazowego były stałe i jednakowe dla wszystkich wykonanych pomiarów i zgodne z tymi, które zastosowano w analizie składu tuszu. Szczegółowy opis przebiegu poszczególnych eksperymentów przedstawiono w dalszej części pracy.

IV.3.4.2.1  $\epsilon$ -kaprolakton

Szczelnie zamkniętą, szklaną fiolkę ze związkami umieszczono w termostacie i ogrzewano w temperaturze 60°C. Mikroekstrakcję z fazy nadpowierzchniowej, poprzez umieszczenie włókna SPME we fiolece z wzorcem, prowadzono przez 15 minut. Termiczna desorpcja analitów zaadsorbowanych na powierzchni włókna SPME odbywała się w komorze dozownika chromatografu gazowego przez 1 minutę. Wyniki analizy przedstawia poniższy chromatogram (rys 27).

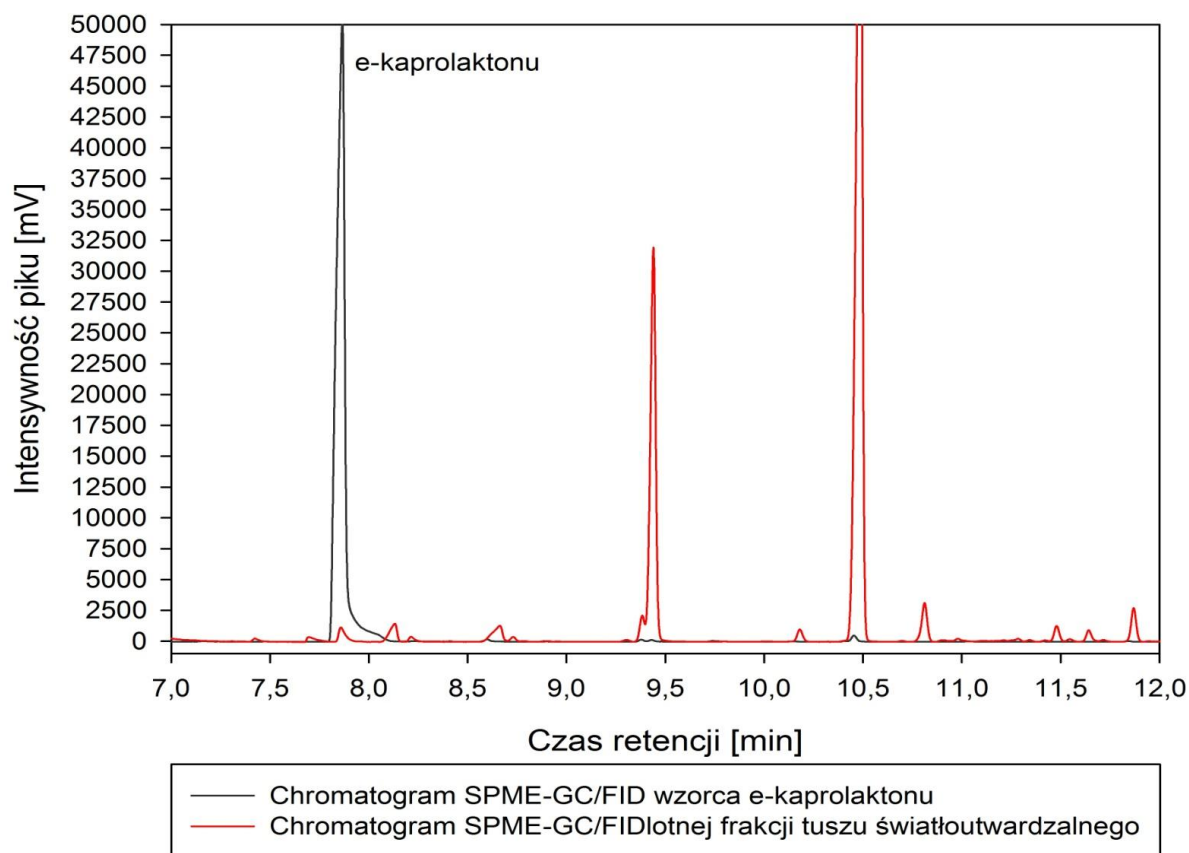


Rysunek 27. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca  $\epsilon$ -kaprolaktonu

Rezultaty analizy wzorca związku przedstawiają się następująco:

- czas retencji – 7,85 min;
- intensywność piku – 1921,9  $\mu$ V.

Uzyskane wyniki analizy wzorca wykazują zgodność z sygnałami na chromatografie otrzymanym w wyniku analizy składu tuszu, a tym samym potwierdzają obecność  $\epsilon$ -kaprolaktonu w lotnej frakcji kolorowego tuszu światłoutwardzalnego (rys 28).

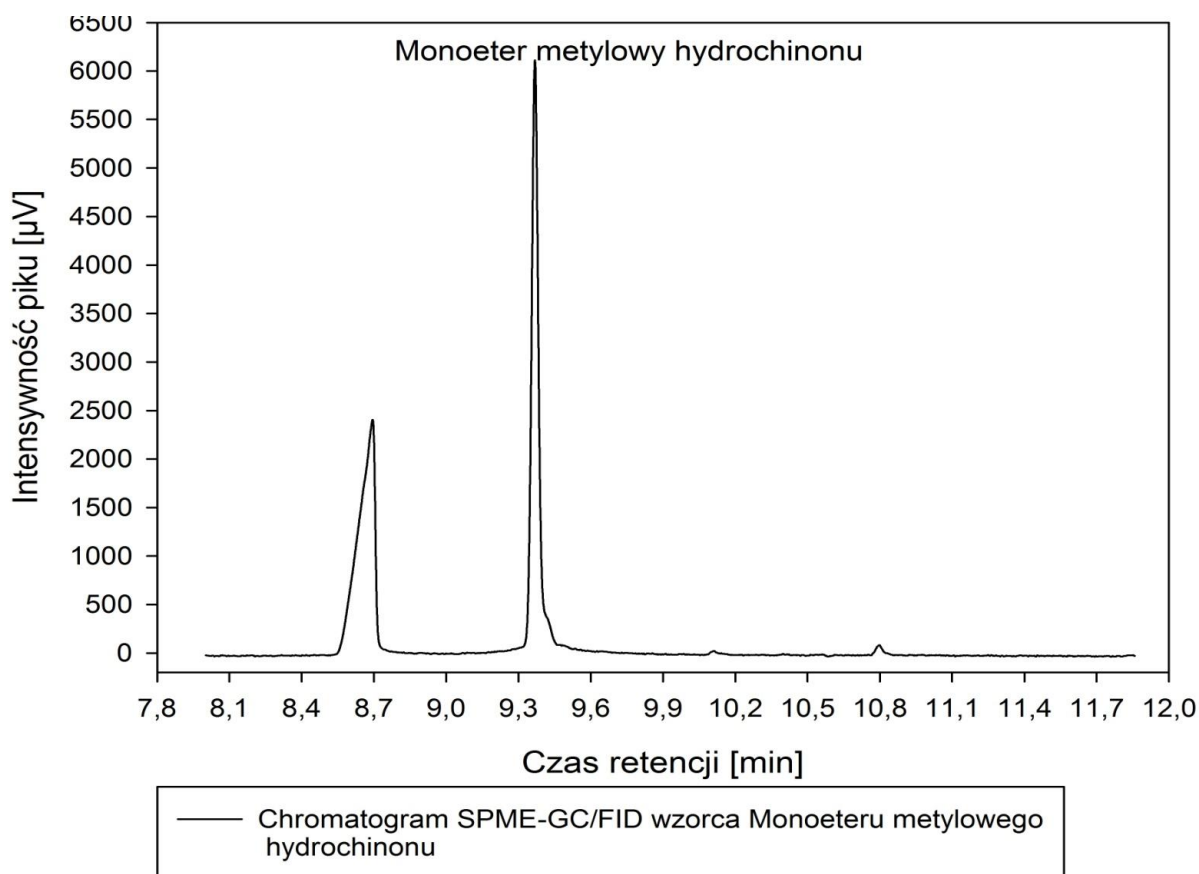


Rysunek 28. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca e-kaprolaktonu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego zaadsorbowanej na włóknie SPME z krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi

#### IV.3.4.2.2 Monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ)

Szczelnie zamkniętą fiolkę z nawązką wzorca umieszczono w termostacie i ogrzewano w temperaturze 60°C. W stałej temperaturze przeprowadzono mikroekstrakcję z fazy nadpowierzchniowej, eksponując włókno SPME na działanie analitu przez 5 minut. Termiczna desorpcja zaadsorbowanej substancji odbywała się w komorze dozownika chromatografu gazowego przez 1 minutę. Objętość wprowadzonej do kolumny próbki nie może przewyższać pojemności sorpcyjnej kolumny chromatograficznej.

Przyjęty uprzednio czas ekspozycji włókna był za długi, co doprowadziło do przeładowania kolumny, nieprawidłowego rozdzielania składników próbki oraz powstania szerokich i niesymetrycznych pików. W związku z zaistniałą sytuacją skrócono czas adsorpcji o ponad połowę - do 2 minut, czas desorpcji pozostawiając niezmienny. Wprowadzona modyfikacja pozwoliła na uzyskanie zadowalających wyników analizy, które zobrazowano na rysunku 29.



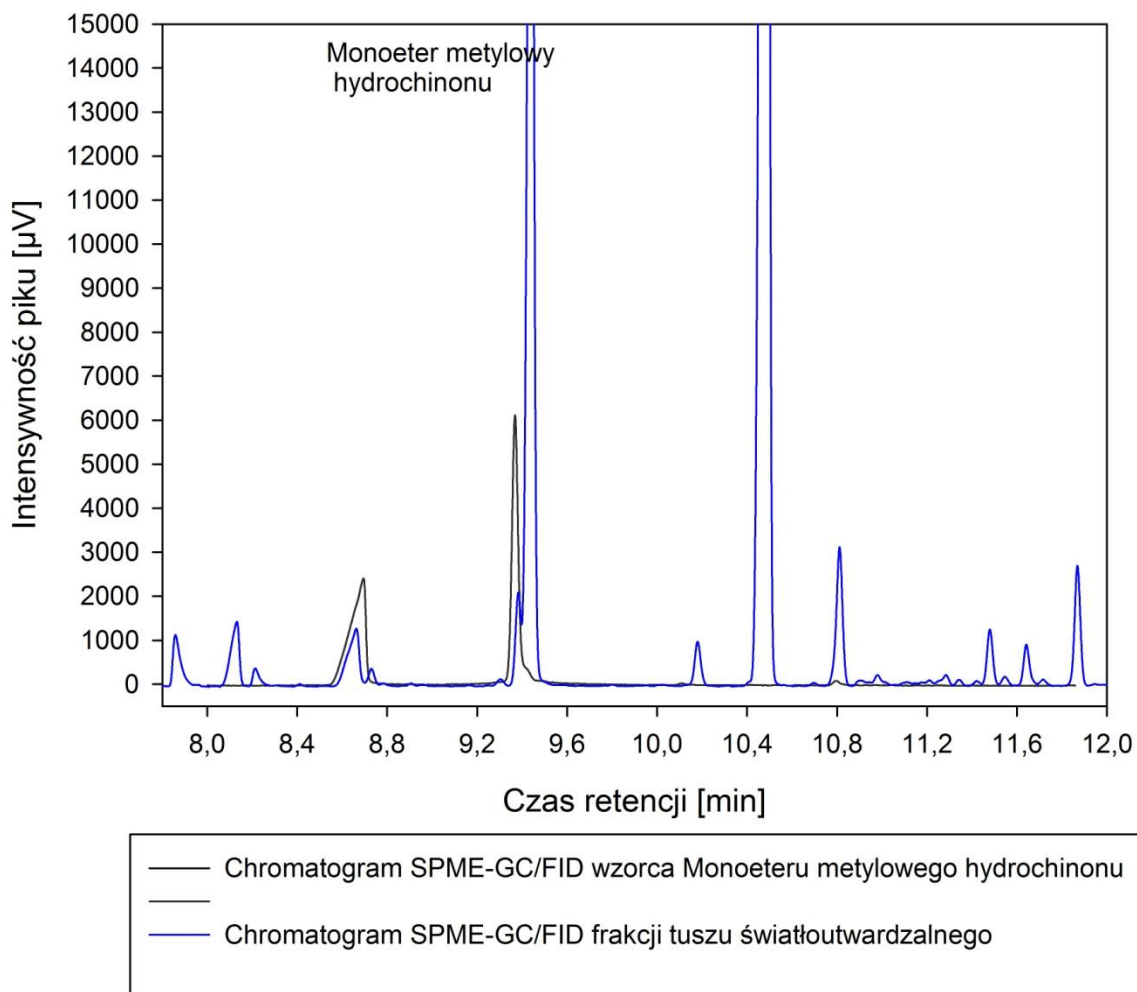
Rysunek 29. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca MEHQ

Rezultaty analizy monoeteru metylowego hydrochinonu (MEHQ):

- czas retencji – 9,37 min;
- intensywność pików – 6150,2  $\mu\text{V}$ .

Przeprowadzony pomiar pozwolił wyznaczyć czas retencji MEHQ, który jest równy 9,37 min

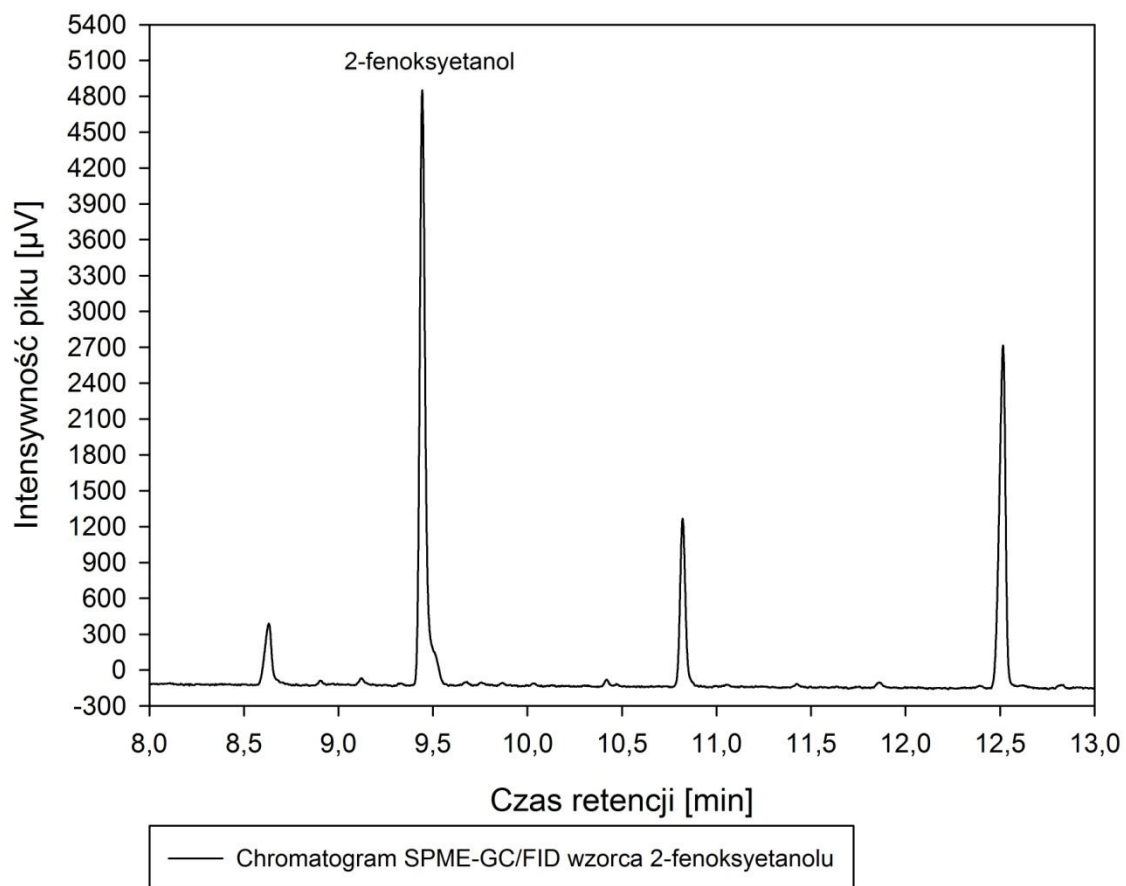
Porównanie czasów retencji wzorca z czasem retencji związku pochodzącego z lotnej frakcji tuszu, przedstawione na rysunku 30, potwierdziło obecność MEHQ w próbce kolorowego nadruku na płycie DVD.



Rysunek 30. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca MEHQ z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### IV.3.4.2.3 2-fenoksyetanol

Szczelnie zamkniętą fiolkę z naważką wzorca umieszczono w termostacie i ogrzewano w temperaturze 60°C. W stałej temperaturze przeprowadzono mikroekstrakcję z fazy nadpowierzchniowej, eksponując włókno SPME na działanie analitu przez 5 minut. Termiczna desorpcja zaadsorbowanej substancji odbywała się w komorze dozownika chromatografu gazowego przez 1 minutę. Podobnie jak w przypadku MEHQ, za długi czas ekspozycji włókna na działanie wzorca 2-fenoksyetanlu doprowadził do przeładowania kolumny chromatograficznej. Dokonano korekty czasu trwania adsorpcji, skracając go o połowę – do 2 minut. Czas desorpcji pozostawiono bez modyfikacji. Wyniki przeprowadzonego w ten sposób pomiaru przedstawiono na rysunku 31.



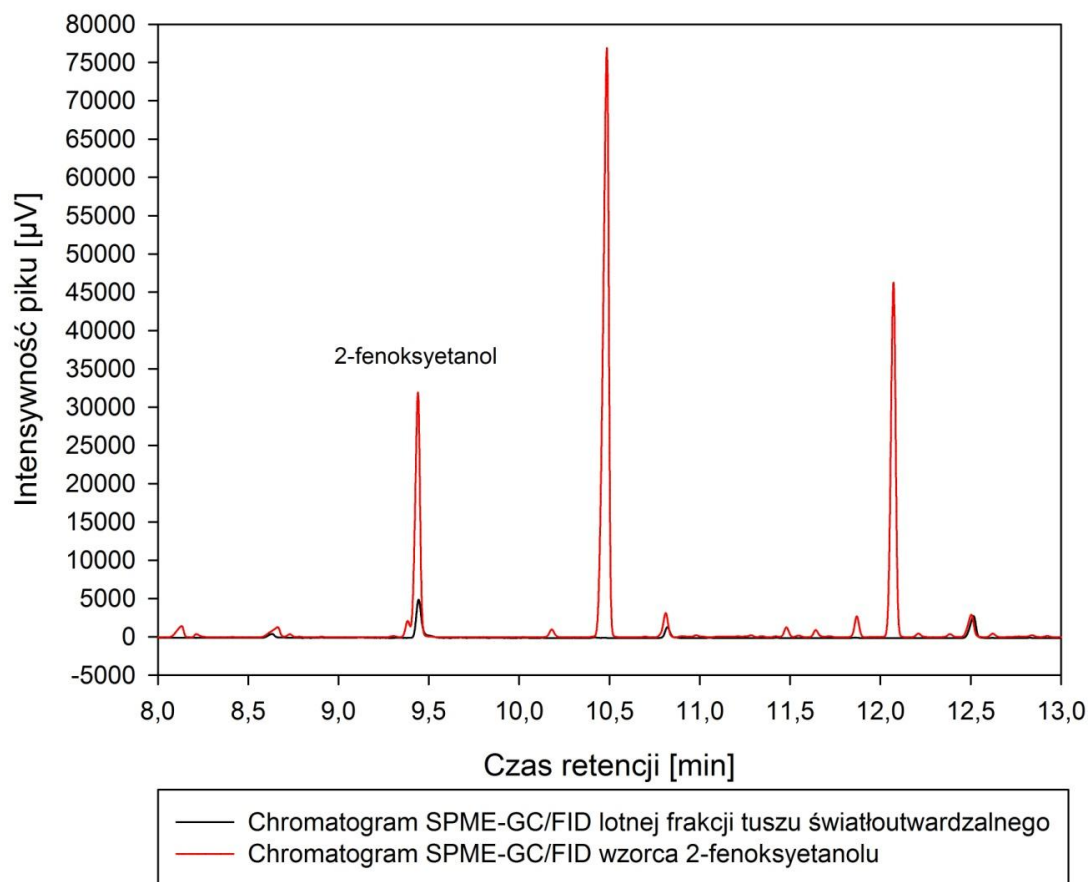
Rysunek 31. Chromatogram SPME- GC/FID wzorca 2-fenoksyetanolu

Rezultaty analizy wzorca 2-fenoksyetanolu:

- czas retencji – 9,41 min;
- wysokość pików – 7529,9  $\mu\text{V}$ .

Przeprowadzając analizę wykazano, że czas retencji 2-fenoksyetanolu wynosi 9,41 min.

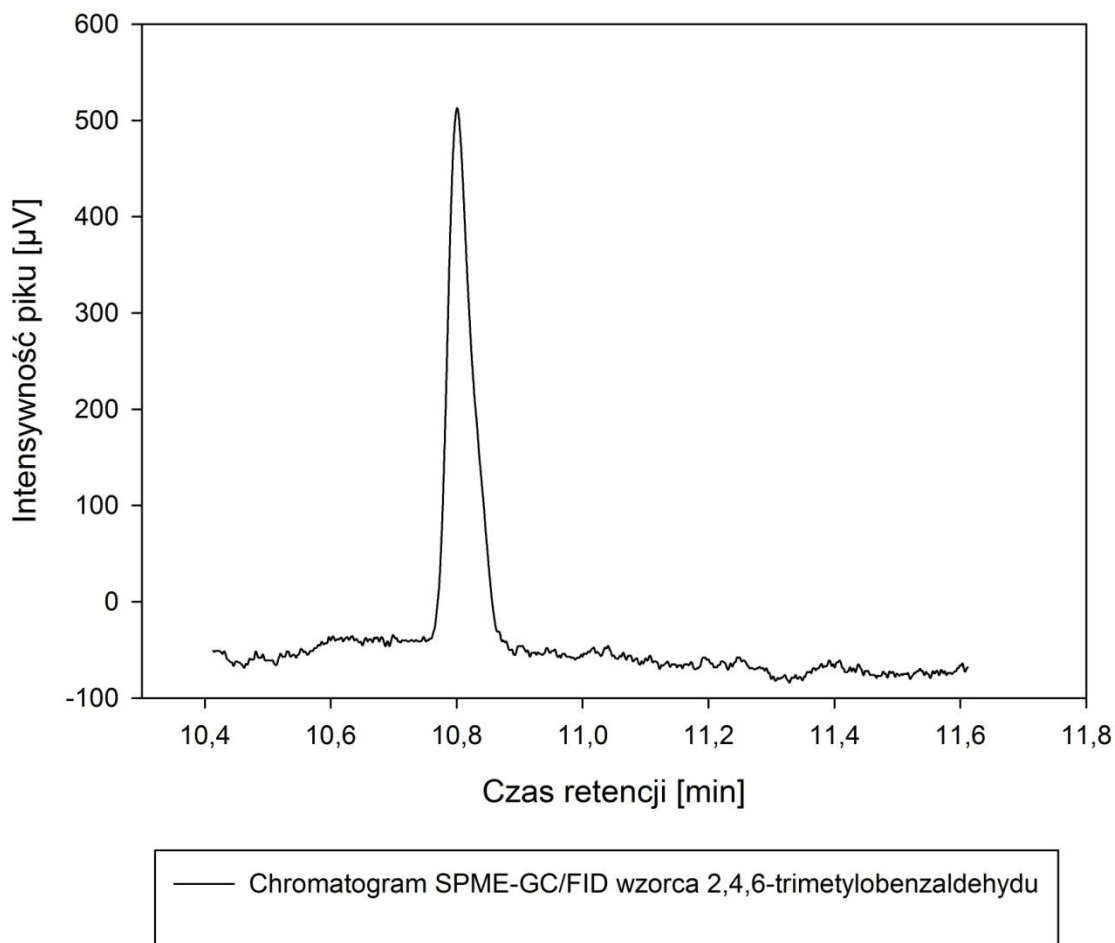
Porównując czas retencji uzyskany w analizie lotnej frakcji tuszu z powyższym czasem retencji wzorca udowodniono, iż 2-fenoksyetanol wchodzi w skład badanej farby. Wyniki analizy przedstawia rysunek 32.



Rysunek 32. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2-fenoksyetanolu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### IV.3.4.2.4 2,4,6-trimetylobenzaldehyd

Szczelnie zamkniętą fiolkę z naważką wzorca termostatowano w temperaturze 60°C. Biorąc pod uwagę możliwość ponownego przeładowania kolumny zdecydowano, że mikroekstrakcja z fazy nadpowierzchniowej będzie prowadzona przez 2 minuty. Kolejno przez 1 minutę analyty zaadsorbowane na włóknie SPME były poddawane termicznej desorpcji w komorze dozownika chromatografu gazowego, w stałej temperaturze. Wyniki powyższej analizy prezentuje rysunek 33.

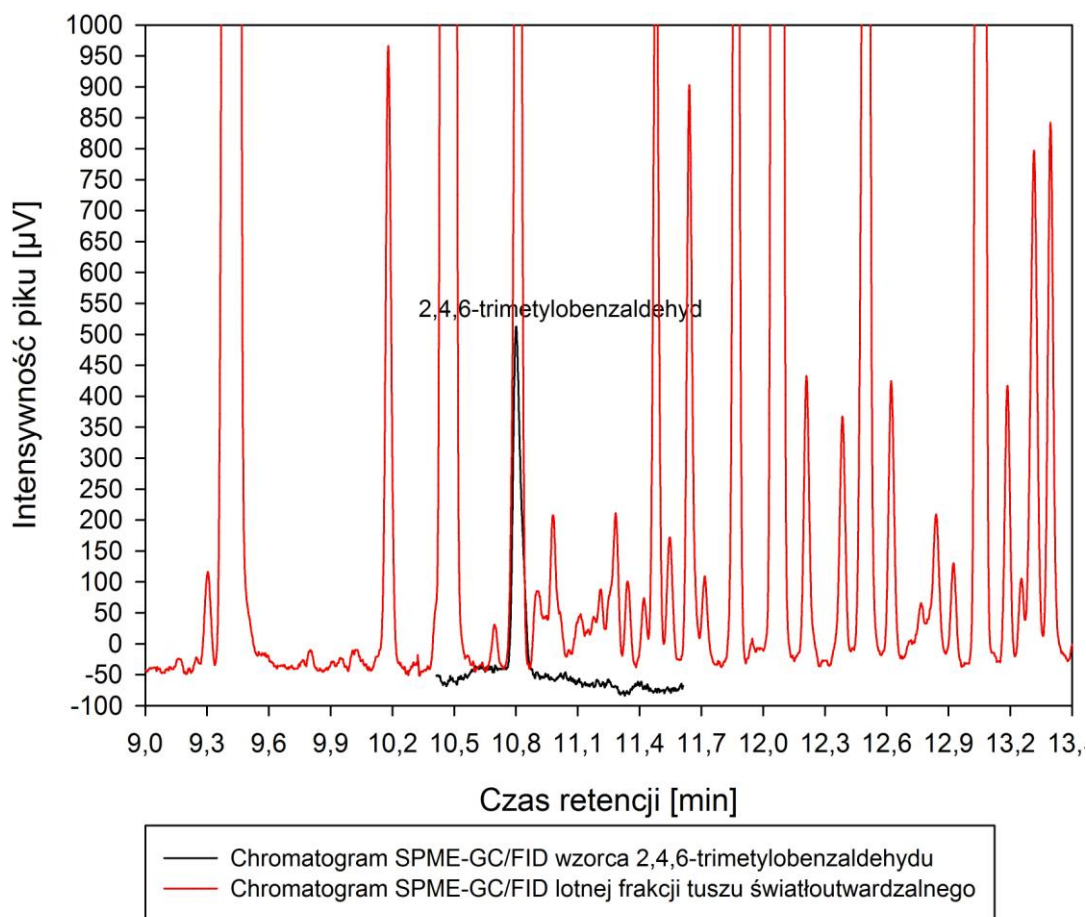


Rysunek 33. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca 2,4,6 – trimetylobenzaldehydu

Rezultaty analizy wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu:

- czas retencji – 10,80 min;
- wysokość piku – 2178,3 µV.

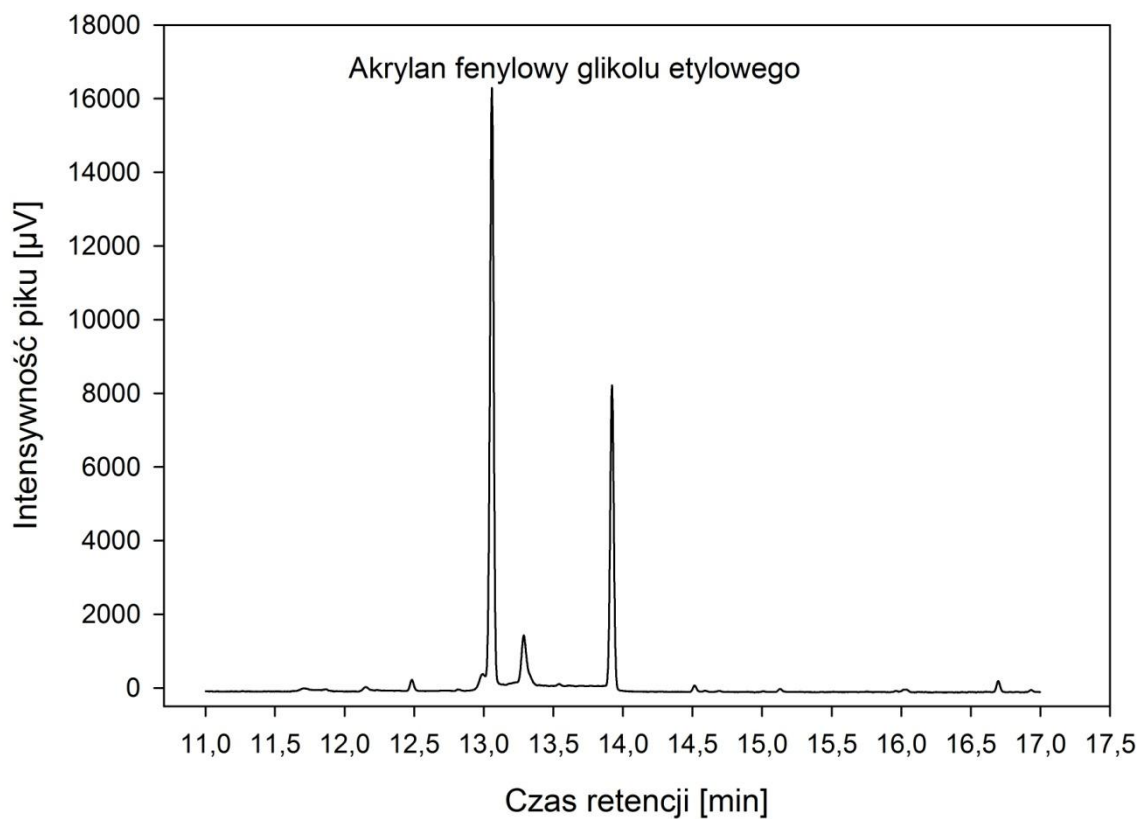
Dokonano porównania chromatogramu tuszu światłoutwardzalnego z chromatogramem uzyskanym w wyniku analizy wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu (rys. 34). Zgromadzone informacje pozwoliły na potwierdzenie obecności tego związku w lotnej frakcji pochodzącej z kolorowego nadruku na płycie DVD.



Rysunek 34. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### IV.3.4.2.5 Akrylan fenylowy glikolu etylowego

W szczelnie zamkniętej szklanej fiołce umieszczono odpowiednią objętość wzorca. Ze względu na właściwości fizyko-chemiczne związku, mikroekstrakcję z fazy nadpowierzchniowej prowadzono w temperaturze 22 °C przez 10 minut. Zaadsorbowany na powierzchni włókna analit poddano termicznej desorpcji w stałej temperaturze w komorze dozownika chromatografu gazowego w ciągu 1 minuty. Uzyskanie szerokiego i niesymetrycznego pików spowodowane było niewłaściwym doбором czasu ekspozycji włókna. W związku z tym, że ilość wprowadzonej na kolumnę substancji przewyższała pojemność sorpcyjną kolumny, zdecydowano się na skrócenie czasu ekstrakcji do 2 minut. Czas podczas którego przeprowadzono termiczną desorpcję nie uległ zmianie. Poniższy chromatogram (rys. 35) obrazuje wynik analizy wzorca akrylanu fenylowego glikolu etylowego.



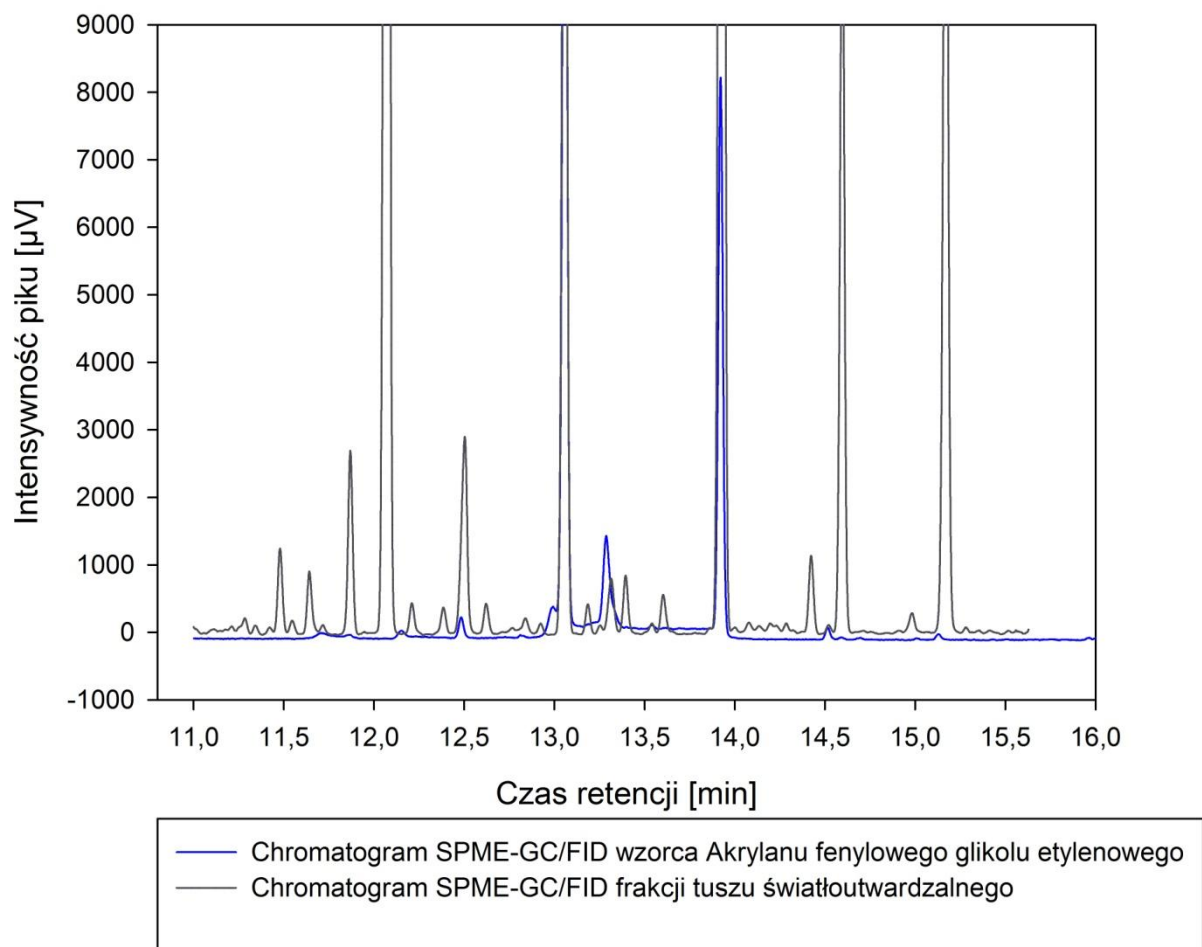
Rysunek 35. Chromatogram GC/FID wzorca akrylanu fenylowego glikolu etylowego

Rezultaty analizy wzorca przedstawiają się następująco:

- czas retencji – 13,04 min;
- wysokość pików – 17014,2 µV.

Porównanie chromatogramu frakcji kolorowego tuszu z chromatogramem wzorca akrylanu

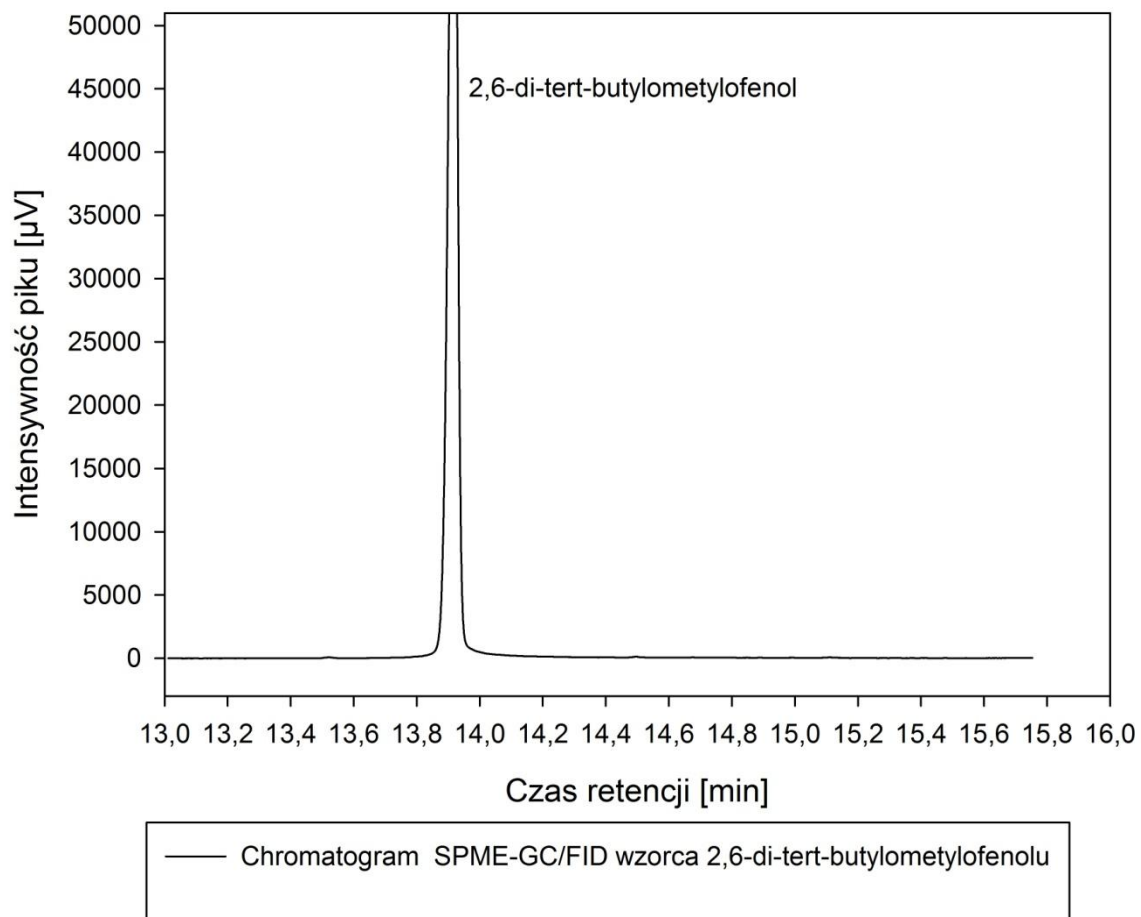
fenylowego glikolu etylowego (rys. 36) potwierdziło obecność tego związku w tuszu użytym do wykonania nadruku na płycie DVD.



Rysunek 36. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca akrylanu fenyłowego glikolu etylenowego z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### IV.3.4.2.6 2,6-di-*tert*-butylo-4-metylofenol (BHT)

Naważkę wzorca BHT umieszczono w szklanej fiołce i zabezpieczono szczelną nakrętką z polimerową septą. Fiołkę ze wzorcem termostatowano w temperaturze 70°C. Mikroekstrakcję z fazy nadpowierzniowej prowadzono w stałej temperaturze przez 2minuty. W ciągu 1 minuty odbyła się termiczna desorpcja zaadsorbowanego na włóknie SPME analitu. Poniższy chromatogram (rys. 37) przedstawia wynik analizy.

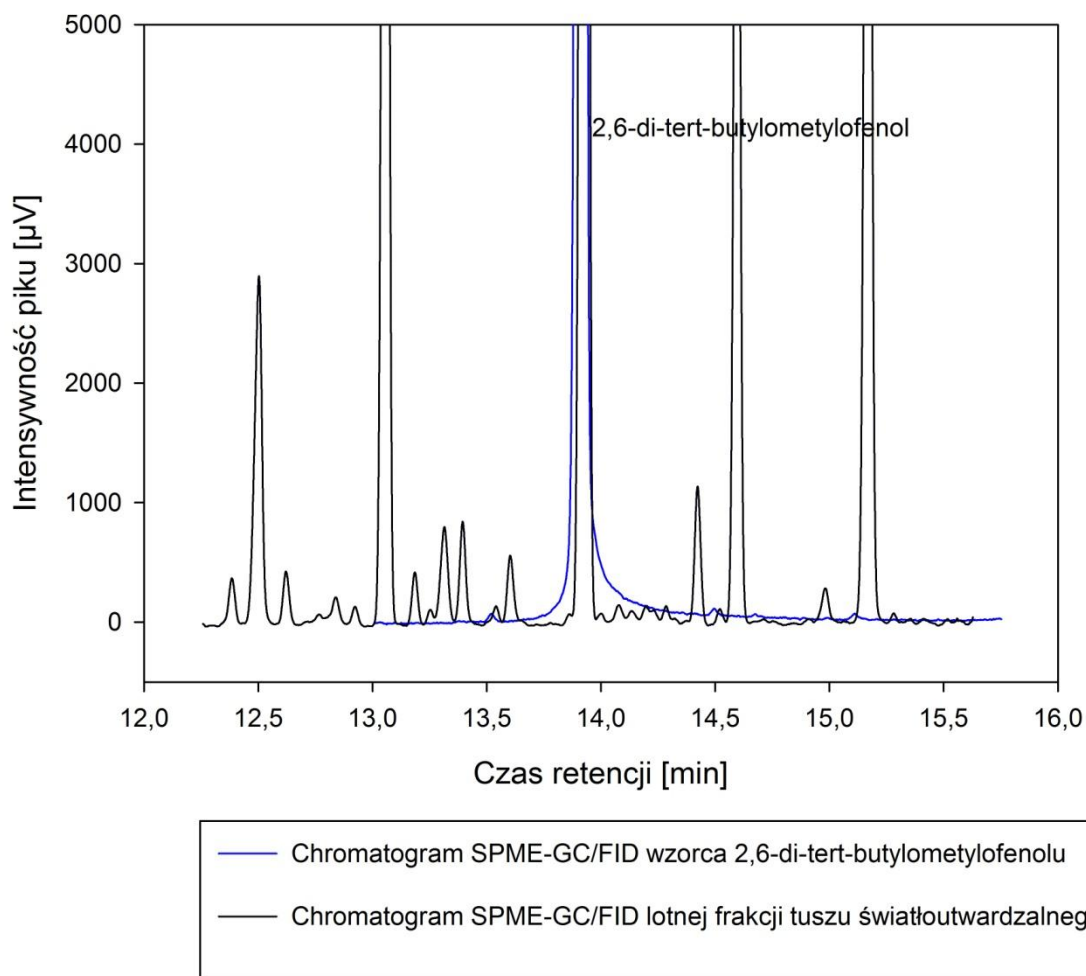


Rysunek 37. Chromatogram GC/FID wzorca 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu

Wyniki analizy wzorca BHT kształtują się następująco:

- czas retencji – 13,92 min;
- wysokość pików – 85153,5  $\mu\text{V}$ .

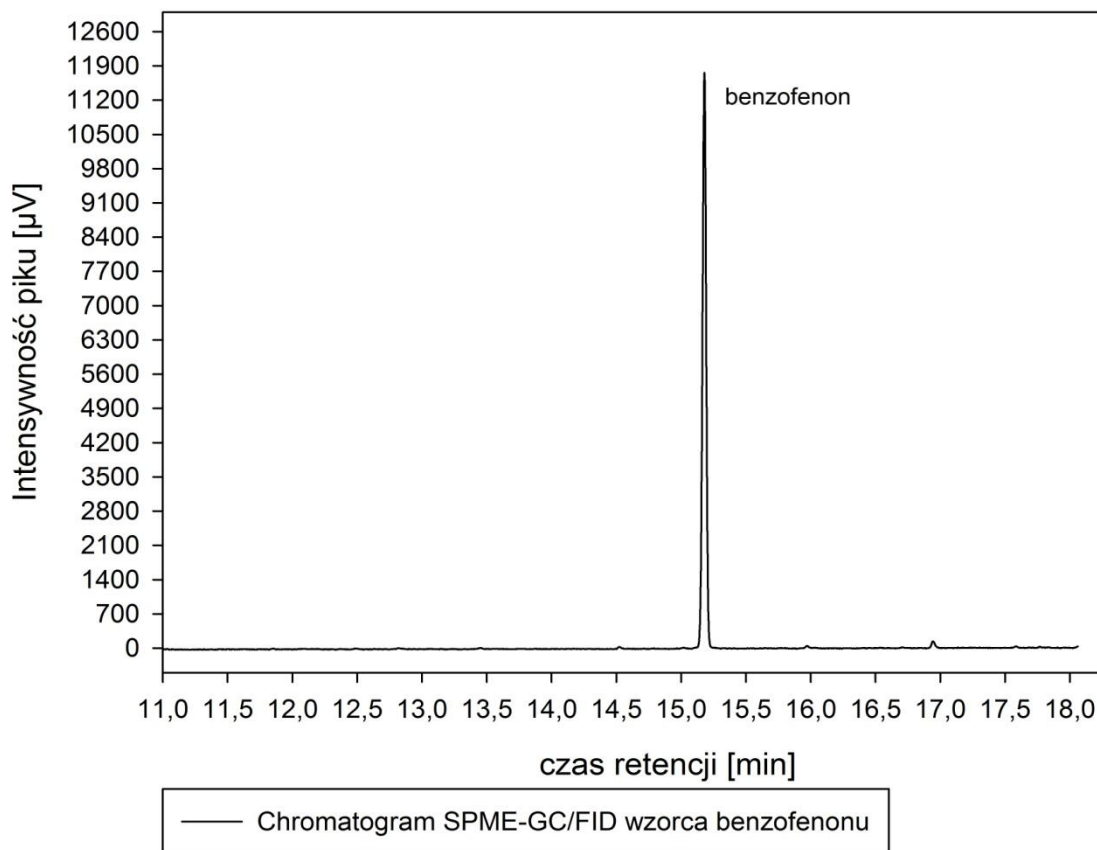
Biorąc pod uwagę rozkład pików na chromatogramie tuszu światłoutwardzalnego oraz sygnał uzyskany w wyniku analizy wzorca (rys. 38) można wysnuć wniosek że BHT wchodzi w skład tuszu, który wykorzystano do produkcji nadruku na płycie DVD.



Rysunek 38. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2,6-di-tert-butylometylofenolu (BHT) z chromatogramem SPME-GC/FID frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### IV.3.4.2.7 Benzofenon

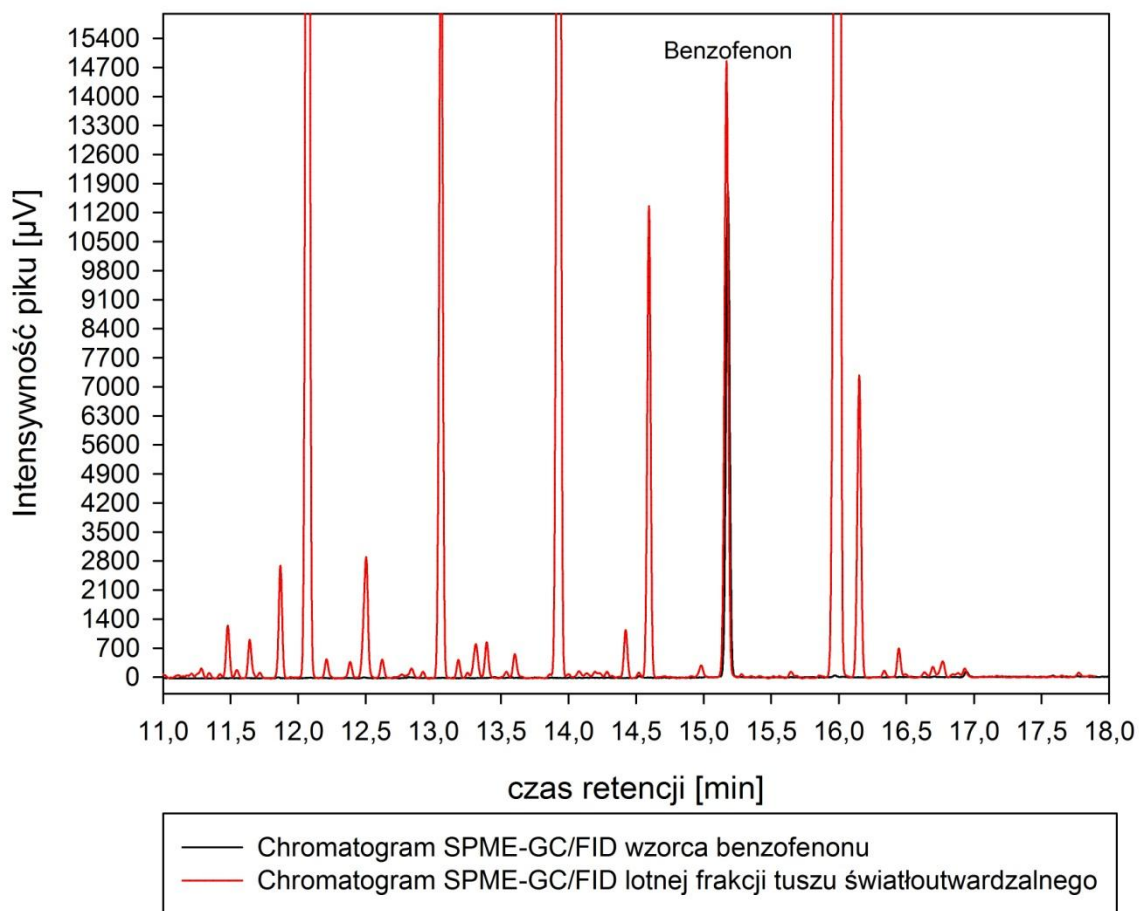
Szczelnie zamkniętą szklaną fiolkę z naważką wzorca benzofenonu umieszczono w termostacie i ogrzewano w temperaturze 60°C. Po zanurzeniu włókna SPME w fazie nadpowierzchniowej przeprowadzono ekstrakcję do ciała stałego jakim była faza stacjonarna pokrywająca włókno. Proces mikroekstrakcji ukończono po 5 minutach. Następnie, po umieszczeniu włókna SPME w dozowniku chromatografu gazowego nastąpiła jednodominutowa desorpcja zaadsorbowanego analitu. Zapis pracy detektora w postaci chromatogramu przedstawiono na rysunku 39.



Rysunek 39. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca benzofenonu

- czas retencji wynosi 15,18 min;
- wysokość piku wzorca 11776,3 µV.

Biorąc pod uwagę zgromadzone informacje (rys. 40) wysnuto wniosek że benzofenon wchodzi w skład tuszu światłoutwardzalnego.

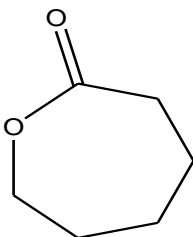


Rysunek 40. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca benzofenonu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego

#### ***IV.4. Charakterystyka i toksyczność zidentyfikowanych związków organicznych***

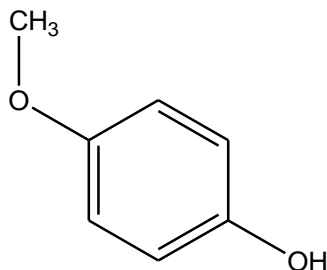
##### ***IV.4.1. Toksyczność $\epsilon$ -kapolaktonu***

Związek o strukturze przedstawionej na rysunku 41 nie wykazuje wysokiej toksyczności, a jego produkt polimeryzacji jest biodegradowalnym tworzywem syntetycznym, bardzo często wykorzystywanym jako powłoki w kapsułkach leków lub rozpuszczalne nici chirurgiczne.



Rysunek 41. Wzór strukturalny  $\epsilon$ -kapolaktonu

## IV.4.1.1. Toksyczność monoeteru metylowego hydrochinonu (MEHQ)



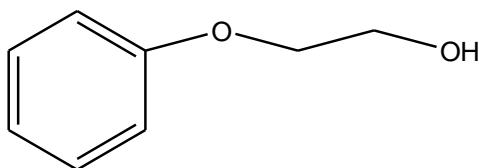
Rysunek 42. Wzór strukturalny monoeteru metylowego hydrochinonu

Monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ) o wzorze strukturalnym przedstawionym na rysunku 42:

- w kontakcie ze skórą może wywołać reakcję alergiczną organizmu;
- w zależności od stężenia i czasu ekspozycji organizmu na działanie substancji chemicznej, skutki mogą przybierać postać od łagodnego podrażnienia skóry po ciężkie uszkodzenie tkanek miękkich;
- długotrwała i wielokrotna ekspozycja na działanie MEHQ może wywołać podrażnienie i choroby oczu;
- wdychany może powodować uszkodzenie błon śluzowych górnych i dolnych dróg oddechowych;
- jest toksyczny w przypadku połknięcia.

MEHQ jest często stosowany jako dodatek podczas produkcji farb drukarskich.

## IV.4.1.2. Toksyczność 2-fenoksyetanolu



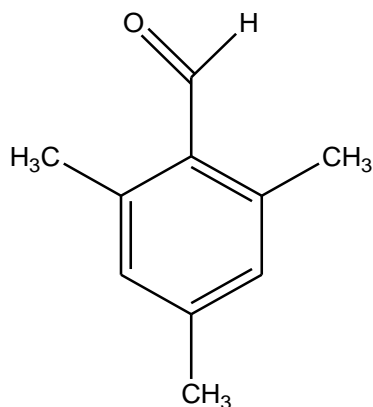
Rysunek 43. Wzór strukturalny cząsteczki 2-fenoksyetanolu

2-fenoksyetanolu o wzorze strukturalnym przedstawionym na rysunku 43:

- u zwierząt laboratoryjnych wywołuje liczne zmiany w układzie pokarmowym, nerkach, pęcherzu, układzie oddechowym, płucach. Powoduje ostre bóle w klatce piersiowej, trudności z oddychaniem, obrzęk płuc;
- przy długotrwałym i wielokrotnym wdychaniu oparów substancji możliwe jest podrażnienie układu oddechowego;
- działa drażniąco na błony śluzowe oczu, nosa, jamy ustnej;

- substancja niebezpieczna w przypadku połknięcia;
- wykazuje działanie znieczulające.

IV.4.1.3. Toksyczność 2,4,6 – trimetylobenzaldehydu

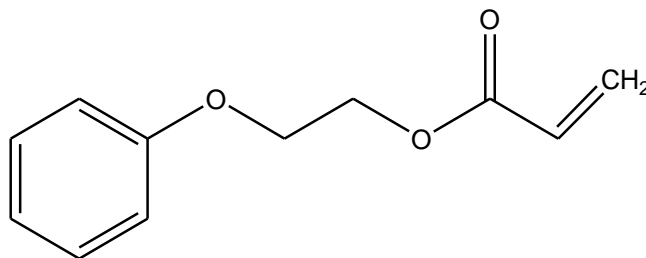


Rysunek 44. Wzór strukturalny cząsteczki 2,4,6-trimetylobenzaldehydu

Związek o strukturze przedstawionej na rysunku 44:

- powoduje podrażnienie skóry, oczu i błon śluzowych układu oddechowego;
- jest niebezpieczny w razie spożycia oraz absorpcji przez skórę;
- wykazuje stwierdzone działanie mutagenne w przypadku przewlekłego narażenia na jego działanie.

IV.4.1.4. Toksyczność akrylanu fenyloвого glikolu etylowego



Rysunek 45. Wzór strukturalny cząsteczki akrylanu fenyloвого glikolu etylowego

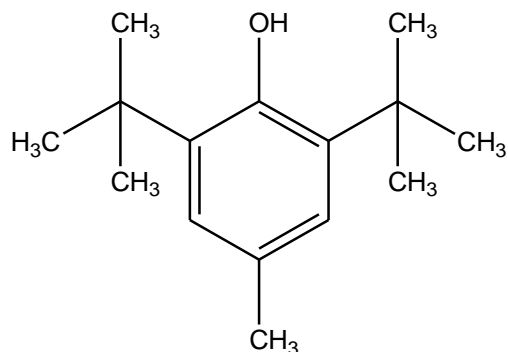
Akrylan fenyloвого glikolu etylowego o wzorze strukturalnym przedstawionym na rysunku 45;

- u zwierząt laboratoryjnych wystawionych na jego działanie powoduje: senność, splątanie i obniżenie aktywności;
- długotrwała ekspozycja na działanie tego związku wywołuje kaszel, bóle klatki piersiowej, trudności w oddychaniu i zawroty głowy;
- działa drażniąco na skórę, błony śluzowe i górne drogi oddechowe;

- wykazuje szkodliwe działanie w przypadku absorpcji przez skórę, spożycia oraz wdychania oparów;
- jest substancją o bardzo ostrym, drażniącym i nieprzyjemnym zapachu. Podobnie jak MEHQ wchodzi w skład farb drukarskich.

IV.4.1.5. Toksyczność 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu (BHT)

Wzór strukturalny 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu (BHT) przedstawiono na rysunku 46.



Rysunek 46. Wzór strukturalny cząsteczki 2,6-di-tert-butylo-4-metylofenolu (BHT)

Związek chemiczny przedstawiony na rysunku 46:

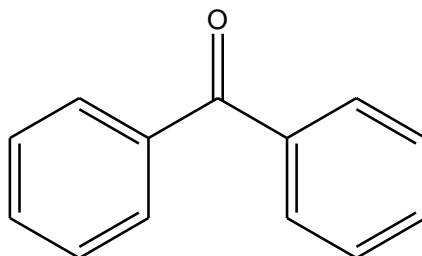
- może powodować podrażnienie górnych dróg oddechowych i oczu, w przypadku długotrwałej ekspozycji na jego działanie;
- w przypadku bezpośredniego kontaktu ze skórą powoduje reakcje uczuleniowe organizmu m.in. pokrzywkę, wysypkę, świąd i duszności;
- wykazuje szkodliwe działanie na nerki w przypadku spożycia substancji;
- u zwierząt laboratoryjnych, narażonych na długotrwałą i wielokrotną ekspozycję na jego działanie, stwierdzono zmiany nowotworowe na narządach wewnętrznych;
- zaliczony jest do antyoksydantów, stosowanych w przemyśle spożywczym, zapobiegających psuciu się produktów żywnościowych;
- został uznany przed wiele krajów europejskich jako niedozwolona substancja konserwująca produkty żywnościowe dla niemowląt i dzieci.

IV.4.1.6. Toksyczność benzofenonu

Benzofenon o wzorze strukturalnym przedstawionym na rysunku 47:

- został uznany jako substancja niebezpieczna, działająca toksycznie na organizmy wodne, powodująca długotrwałe i niekorzystne zmiany w środowisku wodnym;

- jest powszechnie stosowany do wyrobu leków, kosmetyków oraz środków owadobójczych;
- jest składnikiem lakieru drukarskiego, utrwalanego promieniowaniem ultrafioletowym;
- pochodne tego związku wykorzystywane są przy produkcji filtrów przeciwsłonecznych.



Rysunek 47. Wzór strukturalny cząsteczki benzofenonu

#### IV.4.1.7. Optymalizacja warunków procesu analizy związków organicznych wchodzących w skład tuszu światłoutwardzalnego

Kolejny etap pracy doświadczalnej polegał na ustaleniu optymalnych warunków analizy ilościowej lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonanej techniką mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną z grupami ketoiminowymi.

Optymalizacja warunków analizy obejmowała następujące parametry:

- czas ekspozycji włókna na działanie substancji;
- temperatura towarzysząca procesowi adsorpcji analitów na włókno SPME;
- czas desorpcji analitów zaadsorbowanych na włóknie SPME;
- temperatura desorpcji analitów.

Poddano również próbie wytrzymałość mechaniczną włókna oraz określono pojemność sorpcyjną fazy stacjonarnej immobilizowanej na włóknie. Przykładową optymalizację procesu analitycznego wykonano dla monomeru metylowego hydrochinonu (MEHQ). W celu wyznaczenia najkorzystniejszych warunków analizy składu tuszu światłoutwardzalnego wykonano serię pomiarów wzorca techniką HS-SPME-GC (*ang. HeadSpace-Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography*), gdzie zmianie ulegała wyłącznie wartość optymalizowanego parametru, przy stałych wartościach pozostałych modułów. Przy określaniu optymalnych warunków analizy kierowano się zależnością pomiędzy ilością zaadsorbowanego analitu tj. intensywnością sygnału na chromatogramie, a wartością optymalizowanego parametru.

#### *IV.4.1.8. Parametry pracy chromatografu gazowego*

Wyznaczono następujące parametry pracy chromatografu gazowego wyposażonego w detektor płomieniowo jonizacyjny:

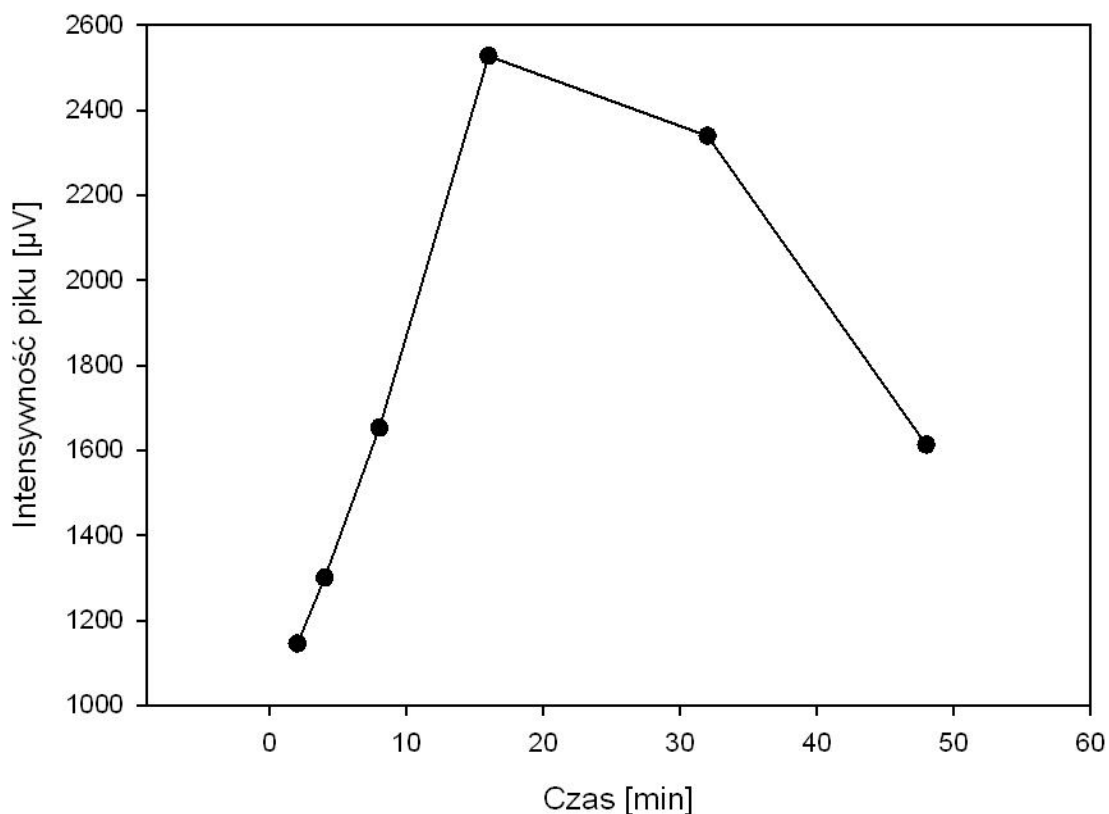
- temperatura pracy dozownika: 180°C;
- temperatura pracy kolumny kapilarnej – początkowo 140°C przez 1 minutę, kolejno wzrost do temperatury 220°C z prędkością 10°C/minutę, ostatecznie temperaturę 220°C utrzymywano przez 3 minuty;
- temperatura pracy detektora: 250°C.

#### *IV.4.2. Przygotowanie roztworu wzorcowego*

W celu przygotowania roztworu wzorcowego MEHQ, naważkę substancji równą 1mg rozpuszczono w 15ml wody i umieszczono w szklanej fiołce, zaopatrzonej w szczelne zamknięcie.

#### *IV.4.3. Proces optymalizacji czasu ekspozycji włókna*

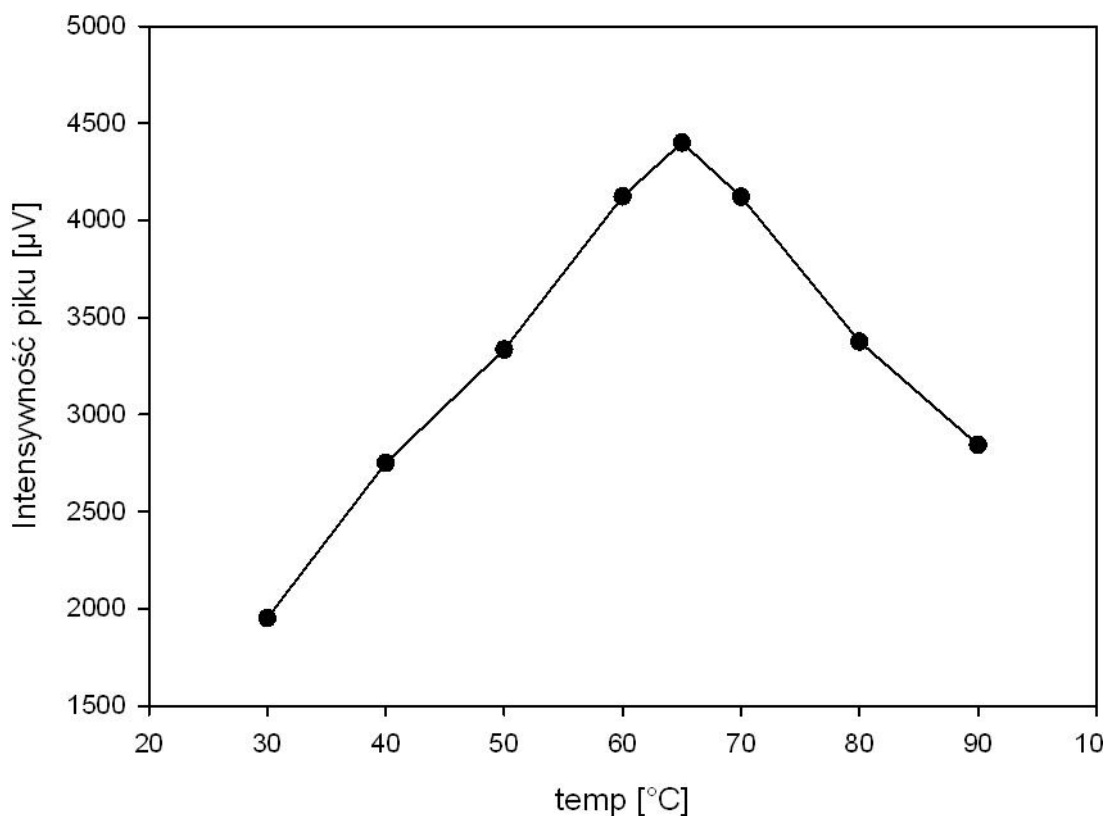
W celu wyznaczenia najkorzystniejszych warunków prowadzenia mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej wykonano serię pomiarów wzorca MEHQ. Uzyskane w ten sposób chromatogramy pozwoliły na odczytanie wysokości piku związku, a tym samym ilości analitu zaadsorbowanego na włóknie SPME. Przeprowadzono szereg analiz wzorca substancji, ze zmienną wartością czasu ekspozycji włókna, rosnącą kolejno do: 1, 2, 4, 8, 16, 32 i 42 minut. Temperatura próbki wzorca pozostała niezmienną i wynosiła 60°C. Czas termicznej desorpcji był stały i równy 1 minucie. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki pomiarów, sporządzono wykres zależności wysokości piku wzorca, od czasu prowadzenia mikroekstrakcji. Otrzymana krzywa pozwoliła na odczytanie wartości optymalnej czasu ekstrakcji, dla której ilość zaadsorbowanego analitu była największa, przy uwzględnieniu najkorzystniejszego kształtu piku na chromatogramie. Na rysunku 48 przedstawiono wykres zależności intensywności piku od czasu adsorpcji analitu na włóknie SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi. Na jego podstawie wyznaczono optymalny czas adsorpcji, który wynosił 16minut.



Rysunek 48. Wykres zależności intensywności pików od czasu adsorpcji analitu na włóknie SPME

#### ***IV.4.4. Proces optymalizacji temperatury adsorpcji***

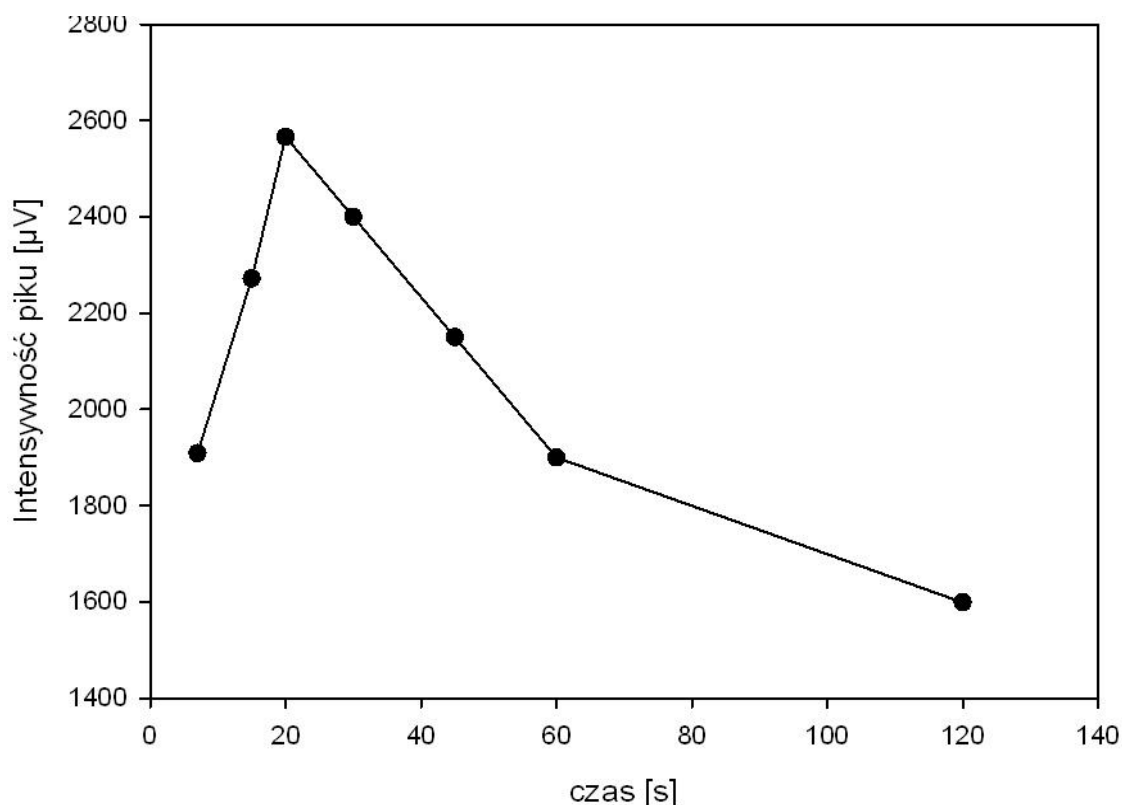
Przedmiotem tego eksperymentu było wyznaczenie optymalnej temperatury adsorpcji analitu na powierzchni włókna SPME. W tym celu wykonano szereg pomiarów przy rosnącej temperaturze adsorpcji, a stałych wartościach pozostałych parametrów procesu. Serię analiz rozpoczęła mikroekstrakcja w temperaturze równej 30°C, poprzez 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, a kończąc na 90°C przy wyznaczonym optymalnym czasie adsorpcji 16 minut i czasie desorpcji równym 1 minucie. Wyznaczony eksperymentalnie optymalny czas adsorpcji wynosił 16 minut, natomiast czas desorpcji przyjęto za równy 1 minucie. W oparciu o uzyskane chromatogramy, sporządzono wykres zależności wysokości pików wzorca MEHQ, od temperatury prowadzonej ekstrakcji (rys. 49). Na jego podstawie ustalono optymalną temperaturę przebiegu procesu mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej dla wzorca MEHQ, przy której ilość zaadsorbowanej na włóknie substancji była największa. Wyznaczona eksperymentalnie optymalna temperatura adsorpcji analitu na powierzchni włókna SPME wynosi 65°C.



Rysunek 49. Wykres zależności intensywności pików od temperatury adsorpcji

#### ***IV.4.5. Proces optymalizacji czasu desorpcji***

Celem tego doświadczenia było ustalenie optymalnego czasu desorpcji analitów zaadsorbowanych na powierzchni włókna SPME. Przeprowadzono pomiary intensywności sygnału wzorca MEHQ, przy zmiennych wartościach czasu termicznej desorpcji, rosnących odpowiednio do: 7, 15, 30, 45, 60 i 120 sekund. Czas ekstrakcji przyjęto za równy 16 minut, a temperaturę adsorpcji jako 65°C, zgodnie z wynikami poprzednich eksperymentów. Na podstawie otrzymanych w ten sposób chromatogramów wykreślono zależność intensywności pików wzorca MEHQ, od czasu desorpcji analitu z pokrycia włókna. Korzystając ze zgromadzonych danych wyznaczono optymalny czas desorpcji, przy którym ilość analitu uwolnionego z włókna była największa, jednocześnie pik na chromatogramie był ostry. Rysunek nr 50 przedstawia omawiany wykres.



Rysunek 50. Wykres zależności intensywności pików od czasu desorpcji

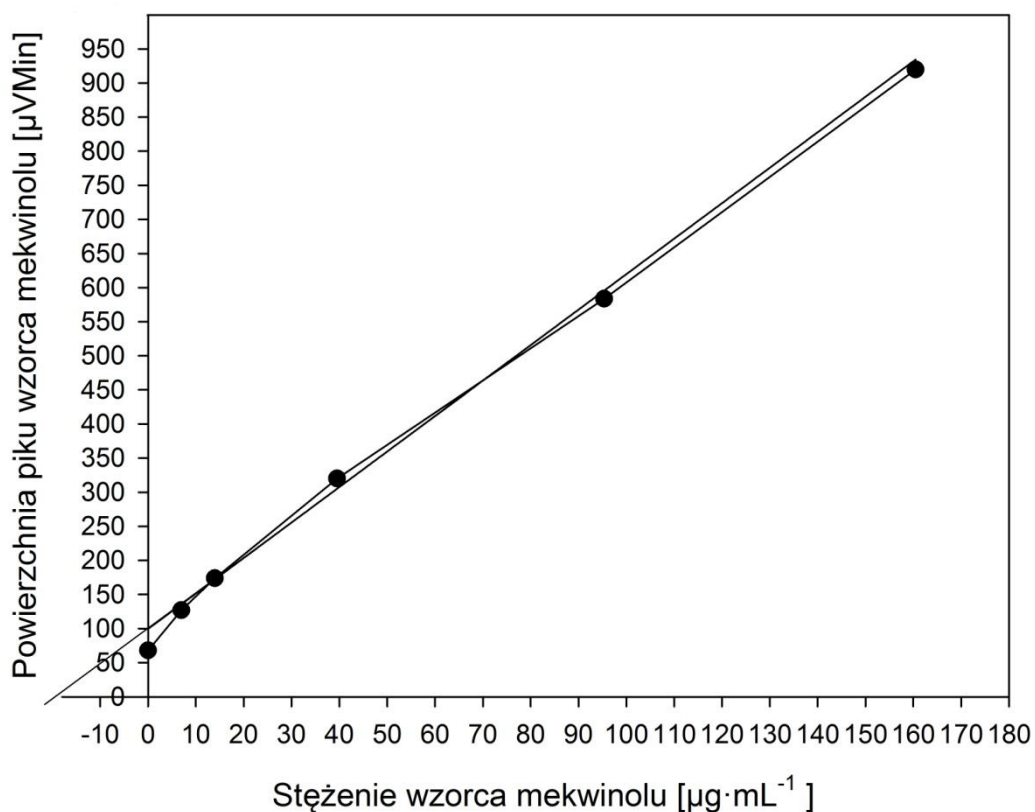
#### ***IV.4.6. Wytrzymałość włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi***

Poddano próbie wytrzymałość mechaniczną włókna SPME oraz zbadano niezmienną właściwość sorpcyjnych fazy stacjonarnej immobilizowanej na powierzchni włókna. W tym celu przeprowadzono serię stu analiz wzorca MEHQ wykonanych techniką mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej, z termiczną desorpcją zaadsorbowanych analitów w komorze dozownika chromatografu gazowego. Każdy z pomiarów wykonany został w stałych i jednakowych warunkach. Wartości wdrożonych parametrów adsorpcji i desorpcji analitów określono wcześniej w procesie optymalizacji. Dokonano porównania otrzymanych chromatogramów pod względem intensywności sygnałów wzorca, czasów retencji, rozkładu i kształtu pików. Biorąc pod uwagę fakt, że nie zaobserwowano znaczących różnic, wysnuto wniosek, że włókno SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi zachowuje właściwości sorpcyjne do 100 cykli analiz.

#### ***IV.5. Oznaczanie ilościowe zawartości MEHQ w próbce kolorowego nadruku na płycie DVD***

Analizę ilościową zaadsorbowanego na włóknie SPME MEHQ przeprowadzono w stałych, zoptymalizowanych wcześniej warunkach. Czas adsorpcji z fazy nadpowierzchniowej wynosił 16 minut, temperatura ekspozycji włókna SPME osiągała wartość 65°C, termiczna desorpcja zachodziła w temperaturze 250°C przez 1 minutę. Liniowość metody ilościowego oznaczania MEHQ wyznaczono na podstawie krzywej kalibracji. Krzywa kalibracji przedstawiona na rysunku 51 zachowywała liniowy przebieg w zakresie wartości

stężen od  $5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  do  $160 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Współczynnik korelacji krzywej dla MEHQ osiągał wartość 0,9969. Granica wykrywalności (*ang. Limit of Detection, LOD*) definiowana jako trzykrotność wysokości szumów, przyjmowała wartość  $88 \cdot 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Granica oznaczalności (*ang. Limit of Quantification, LOQ*) precyzowana jako dziesięciokrotność wysokości szumów była równa  $0,31 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Stężenie MEHQ w fazie gazowej znajdującej się bezpośrednio nad próbką płyty DVD opatrzonej kolorowym nadrukiem wyznaczono posługując się metodą wielokrotnego dodatku wzorca. Biorąc pod uwagę zgromadzone dane, obliczono stężenie MEHQ w próbce które wynosiło  $19,13 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1} \pm 0,35 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .



Rysunek 51. Krzywa kalibracji dla MEHQ

## V. DYSKUSJA WYNIKÓW

Pierwsza część mojej rozprawy doktorskiej związana była z preparatyką włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi oraz opracowaniem techniki nanoszenia sorbentu na uprzednio oczyszczone włókno szklane. Badania rozpoczęto od opracowania metody przygotowania szklanych włókien światłowodowych w celu zastosowania ich jako nośnika dla fazy stacjonarnej. Powodzenie całego procesu modyfikacji uzależnione było od uzyskania wolnej od zanieczyszczeń powierzchni włókna. Korzystając z licznych danych literaturowych opracowano metodykę chemicznego oczyszczania powierzchni włókna szklanego. Efektywna okazała się dwuetapowa procedura chemicznego oczyszczania włókna światłowodowego z wykorzystaniem acetonu. Włókno szklane o odpowiedniej długości zanurzono w acetonie na 3h, następnie w celu usunięcia pozostałości rozpuszczalnika organicznego i ewentualnych zanieczyszczeń trzykrotnie płukano wodą i suszono w temperaturze pokojowej. Przygotowane w ten sposób włókno poddawano procesowi aktywacji w celu przywrócenia grup hydroksylowych na jego powierzchni.

Skuteczność zaproponowanej procedury potwierdzają wyniki przeprowadzonej analizy elementarnej. Mając na uwadze ograniczony dostęp do światłowodów szklanych, ze względu na rosnącą popularność światłowodów polimerowych, w dalszych badaniach wykorzystano pręty szklane o średnicy 125  $\mu\text{m}$  wykonane na zlecenie przez firmę Optec z Białegostoku.

W pracy zaprezentowano również proces modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi, którą zastosowano jako fazę stacjonarną w technice SPME. Opracowano technikę statycznego nanoszenia cienkiego filmu siloksanu na włókno szklane celem immobilizacji modyfikowanego uprzednio sorbentu. Przygotowano roztwory kilku faz, o różnym stężeniu, w kilku rozpuszczalnikach organicznych, w celu określenia optymalnego stężenia i rodzaju fazy, umożliwiającego uzyskanie monowarstwy pokrywającego włókno sorbentu. Najlepsze rezultaty uzyskano dla 3% roztworu fazy OV1 w chloroformie, ze względu na odpowiednią homogeniczność, klarowność, gęstość i stabilność mieszaniny. Zdjęcia wykonane Mikroskopem Elektronowym Skaningowym w Wydziałowej Pracowni Mikroskopii Elektronowej i Konfokalnej, na Wydziale Biologii UAM potwierdzają otrzymanie monowarstwy sorbentu z wykorzystaniem 3% roztworu OV1.

Następnie, optymalne 3% stężenie fazy OV1 w chloroformie wykorzystano do opracowania procedury nanoszenia sorbentu na włókno. Pokryte sorbentem włókno kondycjonowano w temperaturze 200°C przez 3h, celem immobilizacji krzemionki.

W kolejnym etapie badań skupiono się na wykonaniu holderu, używając do tego celu strzykawki mikrolitrowej z serii 7000 firmy Hamilton. Usunięto z niej drut umocowany w tłoku, w jego miejsce umieszczono włókno szklane z naniesionym sorbentem. Przygotowana w ten sposób strzykawka została użyta podczas próbnej analizy węglowodorów aromatycznych techniką SPME. Jednakże w momencie desorpcji analitów z pokrycia włókna, zaobserwowano znaczny spadek ciśnienia gazu w układzie chromatograficznym, co uniemożliwiło prowadzenie dalszych eksperymentów.

Pozytywne efekty uzyskano dopiero, gdy włókno szklane umieszczono w oryginalnym holderze SPME firmy Supleco. W tym celu usunięto z niego stalową rurkę, a na jej miejsce umieszczono szklane włókno pokryte sorbentem. Zaadaptowany w ten sposób holder firmy Supelco został z powodzeniem wykorzystany podczas

testowej analizy węglowodorów aromatycznych techniką SPME. Podczas desorpcji analitów z pokrycia włókna ciśnienie w układzie chromatograficznym było stabilne.

Ze względu na wydzielanie się charakterystycznego zapachu podczas normalnego użytkowania płyt DVD, zdecydowano się poddać analizie jakościowej skład światłoutwardzalnych tuszy użytych do produkcji kolorowego nadruku na płycie DVD. Druga część moich zadań badawczych skoncentrowana była, w związku z tym, na optymalizacji procedur eksperymentalnych pozwalających na analizę jakościową lotnych związków zawartych w tuszach drukarskich techniką mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej z wykorzystaniem chromatografu gazowego.

W celu zateżenia lotnych frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykorzystano technikę HS-SPME-GC (*ang. HeadSpace-Solid-Phase-Microextraction- Gas Chromatography*) z zastosowaniem włókna szklanego pokrytego krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi. Proces Solid-Phase Microextraction, czyli mikroekstrakcji do fazy stałej prowadzony był w dwóch etapach. Pierwszy to adsorpcja analitów z fazy gazowej na powierzchnię sorbentu – ciała stałego. Drugi etap składał się z desorpcji analitów pod wpływem wysokiej temperatury w komorze dozownika chromatografu gazowego. Poprzez zastosowanie techniki adsorpcji z fazy nadpowierzchniowej (HS-SPME) uniknięto bezpośredniego kontaktu matrycy próbki z sorbentem.

Wstępnej identyfikacji składników lotnych frakcji tuszu światłoutwardzalnego (Tabela 13) dokonano z wykorzystaniem chromatografu gazowego ze sprzężonym spektrometrem mas (*ang. HeadSpace-Solid-Phase-Microextraction-Gas Chromatography – Mas Spectroscopy*, HS-SPME-GC-MS). Dalszą analizę jakościową przeprowadzono techniką HS-SPME-GC na podstawie parametrów retencyjnych związków zidentyfikowanych na podstawie widm masowych.

Tabela 13. Parametry retencyjne zidentyfikowanych związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, z którego wykonano kolorowy nadruk płyty DVD

L.p.	Nazwa związku organicznego	Czas retencji [min]	Intensywność pików na chromatogramie [ $\mu$ V]
1.	$\epsilon$ -kapolakton	7,85	1921,9
2.	Monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ)	9,37	6150,2
3.	2-fenoksyetanol	9,41	7529,9
4.	2,4,6-trimetylobenzaldehyd	10,80	2178,3
5.	Akrylan fenylowy glikolu etylowego	13,04	17014,2
6.	2,6-di-tert-butylo-4-metylofenol (BHT)	13,92	85153,5
7.	Benzofenon	15,18	11776,3

Następnie poddano badaniu wpływ parametrów adsorpcji i desorpcji na przebieg procesu oznaczania związków organicznych w lotnej frakcji tuszu drukarskiego. Zwrócono szczególną uwagę na dobór odpowiedniej temperatury i czasu adsorpcji analitu oraz dobór optymalnej temperatury i czasu desorpcji analitu pod wpływem temperatury dozownika chromatografu gazowego. Badania wykazały, że optymalna temperatura adsorpcji MEHQ na powierzchni włókna pokrytego sorbentem modyfikowanym grupami ketoiminowymi

wynosi 65°C. Wraz ze wzrostem temperatury ekspozycji próbki, malała ilość analitu adsorbowanego na powierzchni sorbentu.

Przeprowadzone eksperymenty dowiodły, że optymalny czas adsorpcji MEHQ na powierzchni sorbentu wynosi 16 minut. Wzrost temperatury czy wydłużenie czasu ekspozycji nie miało wpływu na polepszenie czy przyspieszenie procesu adsorpcji analitów do fazy stacjonarnej.

Czas desorpcji analitów z powierzchni włókna determinuje kształt piku na chromatogramie, powinien być wobec tego możliwie jak najkrótszy, aby nie miał wpływu na wynik rozdziału chromatograficznego. Przeprowadzono badania mające na celu wyznaczenie optymalnej temperatury i czasu desorpcji dla wybranego związku oznaczanego w lotnej frakcji pochodzącej z nadruku płyty DVD. Stwierdzono, że optymalny czas desorpcji to 20 sekund, a optymalna temperatura desorpcji wynosi 180°C. Wzrost temperatury desorpcji nie wpłynął znacząco na zwiększenie ilości analitu uwalnianego z powierzchni włókna pokrytego sorbentem. Wydłużenie czasu desorpcji o kolejne 10 sekund i 20 sekund zaowocowało jedynie poszerzeniem piku na chromatogramie, a nie zwiększeniem ilości substancji oznaczanej.

*Tabela 14. Optymalizowane warunki procesu analizy składników tuszu światłoutwardzalnego dla wybranego związku organicznego*

Czas desorpcji	20 sek
Temperatura desorpcji	180 °C
Czas adsorpcji	16 min
Temperatura adsorpcji	65 °C
Warunki analizy chromatograficznej	<p>Temperatura dozownika: 180 °C</p> <p>Temperatura pracy kolumny: 60°C utrzymywana przez 2minuty, następnie wzrost do temperatury 220°C ze stałą prędkością 10°C/minutę, ostatecznie utrzymywanie temperatury 220°C przez 10minut.</p> <p>Temperatura detektora: 250°C</p>

Przeprowadzone doświadczenia dowiodły, że włókno SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi można zastosować 100-krotnie bez znaczącej utraty właściwości adsorpcyjnych sorbentu. W celu przywrócenia właściwości adsorpcyjnych włókna należy przeprowadzić proces kondycjonowania w odpowiednich warunkach temperaturowych.

Korzystając z uzyskanych danych wyznaczono granicę wykrywalności (*ang. Limit Of Detection*, LOD), granicę oznaczalności (*ang. Limit Of Quantification*, LOQ) oraz liniowość metody oznaczania ilościowego MEHQ w lotnej frakcji związków organicznych wchodzących w skład nadruku na płycie DVD. Liniowość metody określono na podstawie krzywej kalibracji dla wybranego związku organicznego. Krzywa kalibracji zachowuje zakres liniowości w zakresie 5 µg·mL<sup>-1</sup> do 160 µg·mL<sup>-1</sup>, a współczynnik korelacji wynosi 0,9996.

Granica wykrywalności (LOD), definiowana jako trzykrotność wysokości szumów, dla MEHQ osiąga wartość  $88 \times 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Granica oznaczalności (LOQ) natomiast, określana jako 10-krotność wysokości szumów, dla badanego związku jest równa  $31 \times 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Stężenie badanego związku w fazie gazowej wyznaczono metodą wielokrotnego dodatku wzorca, a jego wartość wynosi  $19,13 \pm 0,35 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

*Tabela 15. Analiza ilościowa zawartości MEHQ w lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego z wykorzystaniem techniki HS-SPME-GC*

Parametr	Wartość
Granica wykrywalności (LOD)	$88 \times 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
Granica oznaczalności (LOQ)	$31 \times 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
Współczynnik korelacji	0,9996
Stężenie związku organicznego	$19,13 \pm 0,35 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

Włókno kwarcowe pokryte krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi zastosowałam jako włókno SPME w ilościowej i jakościowej analizie lotnej frakcji związków organicznych wchodzących w skład kolorowego nadruku na płycie DVD. Przeprowadzone przeze mnie eksperymenty dowiodły, że włókno SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi można zastosować 100-krotnie bez znaczącej utraty właściwości adsorpcyjnych sorbentu. Wykonanie w odpowiednich warunkach temperaturowych, procesu kondycjonowania umożliwi przywrócenie właściwości adsorpcyjnych włókna.

## VI. PODSUMOWANIE

Prezentowana praca poświęcona jest preparatyce włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi, opracowaniu techniki nanoszenia sorbentu na uprzednio oczyszczone włókno szklane oraz optymalizacji warunków analizy jakościowej i ilościowej związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji pochodzącej z kolorowych nadruków na płytach DVD.

W pierwszym etapie badań opracowano technikę oczyszczania włókna kwarcowego, której skuteczność potwierdzono wykonując analizę elementarną na obecność ewentualnych pozostałości związków organicznych.

W pracy zaprezentowano również proces modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi, którą zastosowano jako fazę stacjonarną w technice SPME. Opracowano technikę statycznego nanoszenia cienkiego filmu silksnu na włókno szklane celem immobilizacji modyfikowanego uprzednio sorbentu, z wykorzystaniem 3% roztworu fazy OV1 w chloroformie.

Kolejna część eksperymentów poświęcono była opracowaniu techniki montażu włókna kwarcowego z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi. Zaadaptowany do tego celu holder firmy Supelco został z powodzeniem wykorzystany podczas testowej analizy węglowodorów aromatycznych techniką SPME. Podczas desorpcji analitów z pokrycia włókna ciśnienie w układzie chromatograficznym było stabilne.

W przedstawionej pracy ustalono także optymalne warunki dla przeprowadzenia procedur eksperymentalnych pozwalających na analizę jakościową lotnych związków zawartych w tuszach drukarskich techniką mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej z wykorzystaniem chromatografu gazowego. Wstępnej identyfikacji składników lotnych frakcji tuszu światłoutwardzalnego dokonano z wykorzystaniem chromatografu gazowego ze sprzężonym spektrometrem mas (HS-SPME-GC-MS). Dalszą analizę jakościową przeprowadzono techniką HS-SPME-GC na podstawie parametrów retencyjnych związków zidentyfikowanych na podstawie widm masowych.

Przeprowadzone doświadczenia dowiodły, że włókno SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi można zastosować 100-krotnie bez znaczącej utraty właściwości adsorpcyjnych sorbentu. W celu przywrócenia właściwości adsorpcyjnych włókna należy przeprowadzić proces kondycjonowania w odpowiednich warunkach temperaturowych.

Z dużej grupy związków zidentyfikowanej jakościowo do ilościowego oznaczania wybrano monoeter metylowy hydrochinonu (MEHQ), że względu na jego właściwości fizykochemiczne, łatwość przygotowania próbki oraz odpowiedni kształt sygnału tego związku na chromatogramie.

Korzystając ze zgromadzonych danych wyznaczono granicę wykrywalności (LOD), granicę oznaczalności (LOQ) oraz liniowość metody oznaczania ilościowego MEHQ w lotnej frakcji związków organicznych wchodzących w skład nadruku na płycie DVD. Stężenie badanego związku w fazie gazowej wyznaczono metodą wielokrotnego dodatku wzorca, a jego wartość wyniosła  $19,13 \pm 0,35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Włókno kwarcowe z powodzeniem zastosowano jako nośnik fazy stacjonarnej w technice SPME. Włókno to można wykorzystać do analizy jakościowej lotnych frakcji tuszy światłoutwardzalnych pochodzących z płyt DVD. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów ustalono, że w skład frakcji z tuszy

światłoutwardzalnych z płyt DVD wchodzi związek mogący wywoływać nieprzyjemne doznania tj: charakterystyczny, drażniący zapach wywołujący ból głowy, rozdrażnienie, niepokój, podenerwowanie.

## VII. SUMMARY

Solid Phase Microextraction (SPME) is a new, simple and efficient method to prepare samples for chromatographic analysis. Such advantages as speed of execution, simplicity, high efficiency and low consumption of organic solvents made the SPME is more likely to be used in chemical analysis. This method also proved to be an effective tool for trace analysis of volatile and nonvolatile organic compounds, with the possibility of combining it with other analytical techniques, ie. HPLC or GC.

Preparation of SPME fibers coated with silica modified ketoiminowymi groups and the development of sorbent application technique on previously cleaned glass fiber was the purpose of my work in recent years.

My research tasks were focused on developing methods for the preparation of quartz fibers as carrier of SPME for identification of the volatile fraction of printing-inks, and then to optimize the experimental procedures permitting a qualitative analysis of volatile compounds found in printing inks using Solid Phase Microextraction.

The subject of my research in the following years was the optimize conditions for a quantitative analysis, selected volatile organic compounds, forming a part of the fraction derived from the color print DVD. When selecting the analyte, guided by its physicochemical properties.

Silica fiber coated with silica modified groups ketoiminowymi SPME fiber was used as a quantitative and qualitative analysis of the volatile fraction of organic compounds included in the color printing on the DVD.

**VIII. LITERATURA**

- [1] W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, Warszawa 2005
- [2] S. Mitra, *Sample preparation Techniques In Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, New Jersey, 2003
- [3] Z. Witkiewicz, J. Hetper, *Chromatografia Gazowa*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2009
- [4] A. Zalacain, G.L. Alonso, C. Lorenzo, M. Iniguez, M.R. Salinas, *Journal of Chromatography A*, 1033 (2004) 173
- [5] K.D. Bucholz, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 66 (1994) 160
- [6] A. Razungles, E. H. Tarhi, R. Baumes, Z. Gunnata, C. Tapiero, C. Bayonove, *Sci. Aliments*, 14 (1994) 725
- [7] D. H. Vila, F. J. H. Mira, R. B. Lucena, H.F. Recamales, *Talanta*, 50 (1999) 413
- [8] P. Karasek, J. Planeta, E.V. Ostra, M. Mikesova, J. Golias, M. Roth, J. Vejrosta, *Journal of Chromatography A*, 1002 (2003) 13
- [9] C. Brunelli, T. Górecki, Y. Zhao, P. Sandra, *Analytical Chemistry*, 79 (2007) 2472
- [10] J.P. Perez-Trujillo, S. Frias, J. E. Conde, M.A. Rodriguez-Delgado, *Journal of Chromatography A*, 963 (2002) 95
- [11] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 62 (1990) 2145-2148
- [12] K. Sukola, J. Koziel, F. Augusto, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 13
- [13] F. Augusto, J. Koziel, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 481
- [14] T. Gorecki, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 68 (1996) 3008
- [15] H. Kataoka, H.L. Lord, J. Pawliszyn, *Journal of Chromatography A*, 880 (2000) 35-62
- [16] D. Michiels, L. Istasse, *Talanta*, 61 (2003) 529
- [17] M. Liu, Z. Zeng, Y. Tian, *Analytica Chimica Acta*, 540 (2005) 341
- [18] C.W. Ye, J. Gao, C. Yang, X.J. Liu, X.J. Li, S.Y. Pan, *Analytica Chmica Acta*, 641 (2009) 64
- [19] L. Cai, S. Gong, M. Chen, C. Wu, *Analytica Chmica Acta*, 559 (2006) 89
- [20] X. Yu, H. Yuan, T. Gorecki, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 71 (1999) 2998
- [21] M. Cooke, C.F. Poole, I.D. Wildson, E.R. Adland, *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press.
- [22] S.A. Barker, *Journal of Chromatography A*, 880 (2000) 63-68
- [23] C. Ross, J. Pawliszyn, *Encyclopedia of Analytical Science/Extraction/Solid Phase Microextraction* (2005) 608-616

- [24] M.A. Farajzadeh, A.A. Matin, *Chromatographia*, 68 (2008) 443
- [25] A. Banel, B. Zygmunt, *Ecological Chemistry and Engineering S.* 15 (2008) 1
- [26] J. Pawliszyn, "Solid Phase Microextraction. Theory and Practice" Wiley – VCH. Inc. (1997)
- [27] T.F. Tsai, D.J. Miller, S.B. Hawthorne, *Journal of Chromatography A*, 800 (1998) 257-266
- [28] X. Li, M. Zhong, S. Xu, Ch. Sun, *Journal of Chromatography A*, 1135 (2006) 101-108
- [29] H. Bagheri, A. Mir, E. Babanezhad, *Analytica Chmica Acta*, 523 (2005) 89-95
- [30] S.L. Chong, D. Wang, J. D. Hayes, W.W. Brian, A. Malik, *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 3889
- [31] D. Wang, S.L. Chong, J.D. Hayes, A. Malik, *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 4566
- [32] S. Bigham, J. Medlar, A. Kabir, C. Shende, A. Alli, A. Malik, *Analytical Chemistry*, 74 (2002) 752
- [33] Zeng, W. Qiu, M. Yang, X. Wei, Z. Huang, F. Li, *Journal of Chromatography A*, 934 (2001) 51
- [34] J. Yu, C. Wu, J. Xing, *Journal of Chromatography A*, 1036 (2004) 101
- [35] L. Yun, *Analytica Chmica Acta*, 486 (2003) 63
- [36] T.P. Gbatu, K.L. Sutton, J.A. Caruso, *Analytica Chimica Acta*, 402 (1999) 67
- [37] J. Yu, L. Dong, C. Wu, L. Wu, J. Xing, *Journal of Chromatography A*, 978 (2002) 37
- [38] Z. Wang, C. Xiao, C. Wu, H. Jan, *Journal of Chromatography A*, 893 (2000) 157
- [39] R. Gomes da Costa Silva, F. Augusto, *Journal of Chromatography A*, 1072 (2005) 7
- [40] J. Wu, J. Pawliszyn, *Journal of Chromatography A*, 909 (2001) 37
- [41] Dj. Djozan, M.H. Pournaghi-Azar, S. Bahar, *Chromatographia*, 59 (2004) 595
- [42] Dj. Djozan, S. Bahar, *Chromatographia*, 59 (2004) 95
- [43] Dj. Djozan, S. Bahar, *Chromatographia*, 58 (2003) 637
- [44] Dj. Djozan, Y. Assadi, S.H. Haddadi, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 4054
- [45] Dj. Djozan, L. Abdollahi, *Chromatographia*, 57 (2003) 799
- [46] Dj. Djozan, Y. Assadi, G. Karim-Nezhad, *Chromatographia*, 56 (2002) 611
- [47] Dj. Djozan, M. Amir-Zehni, *Chromatographia*, 58 (2003) 221
- [48] Mani, V. Properties of Commercial SPME Coatings. In Applications of Solid Phase Microextracion, Pawliszyn, J., Ed.; RSC.; Cornwall, UK, 1999; Chapter 7, pp 92-108
- [49] F. Augusto, A.L.P. Valente, S. E. Tada, R. S. Rivellino, *Journal of Chromatography A*, 873 (2000) 117
- [50] D.B. Page, G. Lacroix, *Journal of Chromatography A*, 873 (2000) 79
- [51] R.T. Marsilli, *Journal of Chromatography A*, 37 (1999) 17
- [52] G. Theodoridis, E.H.M. Koster, G.J. de Jong, *Journal of Chromatography B*, 745 (2000) 49

- [53] S. Hamm, E. Lesellier, J. Bleton, A. Tchapla, *Journal of Chromatography A*, 1018 (2003) 78-83
- [54] A.R. Ghaisvand, S. Hosseinzadeh, J. Pawliszyn, *Journal of Chromatography A*, 1124 (2006) 35-42
- [55] K. Jinno, T. Muramatsu, Y. Saito, Y. Kiso, S. Magdic, J. Pawliszyn, *Journal of Chromatography A*, 754 (1996) 137
- [56] B.L. Wittkamp, D.C. Tillota, *Analytical Chemistry*, 67 (1995) 600
- [57] C.W. Whang, J. Pawliszyn, *Analytical Communications*, 35 (1998) 353
- [58] D.L. Heglund, D.C. Tilotta, *Environmental Science Technology*, 30 (1996) 1212
- [59] T. Gorecki, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 67 (1995) 3265
- [60] K. Sukola, J. Koziel, F. Augusto, J. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 13
- [61] D.W. Potter, J. Pawliszyn, *Environmental Science Technology*, 28 (1994) 298
- [62] T. Clark, B. Jeffreyand, J.E. Bunch, *Journal Chromatography of Science*, 34 (1996) 272
- [63] N. Fidalgo-Used, G. Centineo, E. Blanco-Gonzalez, A. Sanz-Madel, *Journal of Chromatography A*, 1017 (2003) 35-44
- [64] H.P. Li, G.C. Li, J.F. Jen, *Journal of Chromatography A*, 1012 (2003) 129-137
- [65] R. Boussahel, S. Bouland, K.M. Moussaoui, M. Baudu, A. Montiel, *Water Research*, 36 (2002) 1909-1911
- [66] C.C. Camarasu, M. Mezei-Szuts, G.B. Varga, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18 (1998) 623-638
- [67] B. Jaillais, V. Bertrand, J. Auger, *Talanta*, 48 (1999) 747-753
- [68] S.S. Yang, C.B. Huang, I. Smetena, *Journal of Chromatography A*, 942 (2002) 33-39
- [69] T.F. Tsai, M.R. Lee, *Chromatographia*, 67 (2008) 425-431
- [70] N.H. Snow, *Journal of Chromatography A*, 885 (2000) 445-455
- [71] L. Juntinga, Ch. Peng, O. Suzuki, *Forensic Science International*, 97 (1998) 93-100
- [72] H. Fang, M. Liu, Z. Zeng, *Talanta*, 68 (2006) 979-986
- [73] J.K. Schubert, W. Miekisch, P. Fuchs, N. Scherzer, H. Lord, J. Pawliszyn, R.G. Mundkowski, *Clinica Chmica Acta*, 386 (2007) 57-62
- [74] Z.R. Zeng, W.L. Qiu, Z.F. Huang, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 2429
- [75] A. Świtaj et al, *Journal of Separation Science*, 26 (2003) 1057-1062
- [76] A. Fernandes de Oliviera et al, *Talanta*, 66 (2005) 74-79
- [77] Sau L. Chong, Dongxin Wang et al, *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 3889-3898
- [78] R. Gomes da Costa, F Augusto, *Journal of Chromatography A*, 1072 (2005) 7-12

- [79] L. Mingming, Z. Zhaorui, Bo Xiong, *Journal of Chromatography A*, 1065 (2005) 287-299
- [80] Lei Yun, *Analytica Chimica Acta*, 486 (2003) 63-72
- [81] Zhaonu Zeng, Wenli Qiu, Min Yang, Xuan Wei et all, *Journal of Chromatography A*, 934 (2001) 51-57
- [82] K. Farhadi, M. Mamaghanian, R. Maleki, *Journal of Hazardus Materials*, 152 (2008) 677-682
- [83] Xin-Rui Xia, Ross B. Leidy, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 2041-2047
- [84] Emile H. M. Koster, Carlo Crescenzi, Widia Den Hoedt, Kess Ensing, Gerrhardus J. de Jong, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 3140-3145
- [85] W. Wasiak, I. Rykowska, A. Voelkel, *Journal of Chromatography A*, 969 (2002) 133-141
- [86] H. Hemetsberger, M. Kellerman, H. Ricken, *Chromatographia*, 10 (1997) 726
- [87] G.E. Berendsen, L. de Galan, *Journal Liquid Chromatography*, 1 (1987) 561
- [88] R. Wawrzyniak, W. Wasiak, *Journal of Separation Science*, 26 (2003) 1219-1224
- [89] M,M. Liu, Z.R. Zeng, C.L. Wang, Y.J. Tan, H. Liu, *Chromatographia*, 58 (2003) 597-605

## IX. SPIS TABEL

<i>Tabela 1. Właściwości i zastosowanie włókien o różnej polarności fazy stacjonarnej [2,25] .....</i>	22
<i>Tabela 2. Substancje wzorcowe stosowane w procesie identyfikacji lotnej frakcji tuszu.....</i>	30
<i>Tabela 3. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna.....</i>	32
<i>Tabela 4. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna oczyszczanego w aparacie Soxhleta .....</i>	32
<i>Tabela 5. Wyniki Analizy Elementarnej próbek włókna światłowodowego oczyszczanego w płomieniu palnika .....</i>	33
<i>Tabela 6. Charakterystyka wypełnienia Nucleosil 50-3.....</i>	34
<i>Tabela 7. Charakterystyka fizykochemiczna krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi .....</i>	36
<i>Tabela 8. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu .....</i>	40
<i>Tabela 9. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem dichlorometanu.....</i>	41
<i>Tabela 10. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu i heksanu .....</i>	41
<i>Tabela 11. Metodyka przygotowania fazy z wykorzystaniem acetonu i dichlorometanu .....</i>	42
<i>Tabela 12. Metodyka przygotowania roztworu fazy OVI .....</i>	42
<i>Tabela 13. Parametry retencyjne zidentyfikowanych związków organicznych wchodzących w skład lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego, z którego wykonano kolorowy nadruk płyty DVD .....</i>	86
<i>Tabela 14. Optymalizowane warunki procesu analizy składników tuszu światłoutwardzalnego dla wybranego związku organicznego.....</i>	87
<i>Tabela 15. Analiza ilościowa zawartości MEHQ w lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego z wykorzystaniem techniki HS-SPME-GC .....</i>	88

**X. SPIS RYSUNKÓW**

Rysunek 1. Schemat budowy aparatu Soxhleta [2].....	15
Rysunek 2. Typy ekstrakcji techniką SPME. (A) Ekstrakcja bezpośrednia, (B) ekstrakcja z fazy nadpowierzchniowej, (C) ekstrakcja z membraną ochronną.....	20
Rysunek 3. Schemat budowy aparatu SPME.....	21
Rysunek 4. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego, po przeprowadzeniu procesu oczyszczania i aktywacji powierzchni .....	33
Rysunek 5. Schemat modyfikacji powierzchni krzemionki grupami ketoiminowymi.....	35
Rysunek 6. Widma <sup>29</sup> Si CP MAS NMR wyjściowej krzemionki (A) oraz sorbentu uzyskanego w wyniku procesu modyfikacji (B) .....	37
Rysunek 7. Widmo FTIR wyjściowej krzemionki (A) i krzemionki modyfikowanej (B).....	38
Rysunek 8 Pełny profil izotermy sorpcji krzemionki modyfikowanej grupami ketoiminowymi .....	39
Rysunek 9. Procedura immobilizacji sorbentu na powierzchni włókna kwarcowego .....	43
Rysunek 10. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem fazy metylowodoropolisiloksanowej .....	44
Rysunek 11(A-B). Zdjęcia mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem 3% roztworu fazy OV1 .....	45
Rysunek 12. Zdjęcie mikroskopowe włókna kwarcowego pokrytego sorbentem z wykorzystaniem 5% roztworu fazy OV1 .....	46
Rysunek 13(A-C). Włókno SPME umieszczone w polimerowej strzykawce.....	47
Rysunek 14. Schemat budowy mikrostrzykawki Hamilton 7000 .....	47
Rysunek 15. Holder SPME firmy Supleco .....	48
Rysunek 16. Chromatogram SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego z wykorzystaniem włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi.....	50
Rysunek 17. Chromatogram lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonany za przy użyciu włókna PDMS .....	51
Rysunek 18. Porównanie chromatogramów lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego wykonanych za przy użyciu włókna PDMS (kolor czarny) oraz włókna SPME z immobilizowaną krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminonowymi (kolor czerwony).....	52
Rysunek 19. Chromatogram GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego.....	53
Rysunek 20. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca –ε-kaprolaktonu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne) .....	54
Rysunek 21. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca monoeteru metyloвого hydrochinonu (MEHQ) pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne) .....	55
Rysunek 22. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2-fenoksyetanolu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne).....	56
Rysunek 23. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne).....	57

Rysunek 24. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca akrylanu fenylowego glikolu etylenowego pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne).....	58
Rysunek 25. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca 2,6-di-tert-butyl-4-metylofenolu (BHT) pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne).....	59
Rysunek 26. Widmo MS jednej z identyfikowanych substancji (widmo górne) i widmo wzorca benzofenonu pochodzące z bazy widm MS (widmo dolne).....	60
Rysunek 27. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca $\epsilon$ -kapolaktonu.....	62
Rysunek 28. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca $\epsilon$ -kapolaktonu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego zaadsorbowanej na włóknie SPME z krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi .....	63
Rysunek 29. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca MEHQ.....	64
Rysunek 30. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca MEHQ z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego.....	65
Rysunek 31. Chromatogram SPME- GC/FID wzorca 2-fenoksyetanolu.....	66
Rysunek 32. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2-fenoksyetanolu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego .....	67
Rysunek 33. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca 2,4,6 – trimetylobenzaldehydu.....	68
Rysunek 34. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2,4,6-trimetylobenzaldehydu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego .....	69
Rysunek 35. Chromatogram GC/FID wzorca akrylanu fenylowego glikolu etyloвого.....	70
Rysunek 36. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca akrylanu fenylowego glikolu etylenowego z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tuszu światłoutwardzalnego .....	71
Rysunek 37. Chromatogram GC/FID wzorca 2,6-di-tert-butyl-4-metylofenolu.....	72
Rysunek 38. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca 2,6-di-tert-butylometylofenolu (BHT) z chromatogramem SPME-GC/FID frakcji tuszu światłoutwardzalnego .....	73
Rysunek 39. Chromatogram SPME-GC/FID wzorca benzofenonu.....	74
Rysunek 40. Porównanie chromatogramu SPME-GC/FID wzorca benzofenonu z chromatogramem SPME-GC/FID lotnej frakcji tusz światłoutwardzalnego .....	75
Rysunek 41. Wzór strukturalny $\epsilon$ -kapolaktonu.....	75
Rysunek 42. Wzór strukturalny monoeteru metyloвого hydrochinonu .....	76
Rysunek 43. Wzór strukturalny cząsteczki 2-fenoksyetanolu.....	76
Rysunek 44. Wzór strukturalny cząsteczki 2,4,6-trimetylobenzaldehydu .....	77
Rysunek 45. Wzór strukturalny cząsteczki akrylanu fenylowego glikolu etyloвого.....	77
Rysunek 46. Wzór strukturalny cząsteczki 2,6-di-tert-butyl-4-metylofenolu (BHT) .....	78
Rysunek 47. Wzór strukturalny cząsteczki benzofenonu.....	79
Rysunek 48. Wykres zależności intensywności piku od czasu adsorpcji analitu na włóknie SPME .....	81
Rysunek 49. Wykres zależności intensywności piku od temperatury adsorpcji .....	82
Rysunek 50. Wykres zależności intensywności piku od czasu desorpcji.....	83
Rysunek 51. Krzywa kalibracji dla MEHQ .....	84

## XI. DOROBEK NAUKOWY

- I.1. M. Palacz, I. Rykowska, W. Wasiak, „Wykorzystanie sorbentów z grupami ketoiminowymi do zateżania metali przejściowych”, XV Poznańskie Konwersatorium Analityczne, „Nowoczesne Metody Przygotowania Próbek i Oznaczania Śladowych Ilości Pierwiastków”, Poznań, 20-21 kwietnia, 2006
- I.2. M. Palacz, I. Rykowska, W. Wasiak, „Detection and Content determination of BPA in milk by the use of gas chromatography”, Proceeding 33<sup>rd</sup> International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Tatranske Matliare, Slovakia, May 22-26, 2006.
- I.3. M. Palacz, I. Rykowska, W. Wasiak, „Nowe sorbenty bazujące na krzemionce modyfikowanej grupami ketoiminowymi dla potrzeb SPE”, VIII Środowiskowa Konferencja Naukowa Chemików, „Chemia w zrównoważonym rozwoju”, Poznań, 5-7 czerwca, 2006
- I.4. M. Palacz, I. Rykowska, W. Wasiak, „Optimization of conditions for isolation and determination of bisphenol-A In milk”, The Jubilee XXX<sup>th</sup> Symposium “Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds”, Katowice-Szczyrk, June 12-14, 2006
- I.5. M. Palacz, W. Wasiak, „Przygotowanie włókien światłowodowych w celu zastosowania ich jako nośnika fazy w technice Solid-Phase Microextraction”, XVI Poznańskie Konwersatorium Analityczne, Poznań 12 - 13 kwietnia 2007
- I.6. M. Palacz, W. Wasiak, „Optical fiber as a carrier for SPME. Purification and preparation”, The XXXI<sup>st</sup> Symposium chromatographic methods of investigating the organic compounds. June 4<sup>th</sup> – 6<sup>th</sup> 2007, Katowice -Szczyrk
- I.7. M. Palacz, K. Olejniczak, W. Wasiak, „Preparatyka włókien SPME pokrytych krzemionką modyfikowaną grupami ketoiminowymi”, XVII Poznańskie Konwersatorium Analityczne, Poznań, 26-27 marzec 2008
- I.8. K. Olejniczak, M. Palacz, W. Wasiak, „Immobilizacja fazy stacjonarnej na włóknie światłowodowym, celem zastosowania w technice SPME”, VIII Konferencja Chromatograficzna, „Zastosowanie technik chromatograficznych w analizie środowiskowej i klinicznej”, Łódź 21-23 kwietnia, 2008 r.
- I.9. M. Palacz, R. Wawrzyniak, K. Matuszczak, „Komplementacyjna kapilarna chromatografia gazowa (CGC) aromatycznych związków cyklicznych”, VIII Konferencja Chromatograficzna, „Zastosowanie technik chromatograficznych w analizie środowiskowej i klinicznej”, Łódź, 21-23 kwiecień, 2008.
- I.10. „Odpady i opakowania - nowe regulacje i obowiązki. Praktyczny poradnik dla wytwórców i odbiorców odpadów i opakowań. Red. L. Wachowski. Rozdz. 7/2.4 „Postępowanie z olejami odpadowymi” str. 1-19. W. Wasiak, M. Palacz, J. Fall. Wyd. FORUM, 2008
- I.11. M. Palacz, K. Jarzembowska, W. Wasiak, „Analiza jakościowa lotnych związków zawartych w tuszach drukarskich za pomocą HS-SPME-GC”, XVIII Poznańskie Konwersatorium Analityczne –

Nowoczesne Metody Przygotowania i Oznaczania Śladowych Ilości Pierwiastków, Poznań 16-17 kwiecień 2009.

- I.12. M. Palacz, K. Jarzembowska, W. Wasiak, „Przygotowanie włókien kwarcowych jako nośnika SPME do identyfikacji lotnej frakcji tuszy światłoutwardzalnych”, IV Konferencja Chromatograficzna – Zastosowanie technik chromatograficznych w analizie środowiskowej i klinicznej, Łódź, 8-9 kwiecień 2009.
- I.13. M. Palacz, R. Wawrzyniak, K. Dominiak, W. Wasiak, „Analysis of light hydrocarbons on capillary columns coated with adsorbent of electron-donor-acceptor properties”, The XXXII Symposium “Chromatographic Methods of Investigating The Organic Compounds”, Katowice-Szczyrk, June 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> 2009
- I.14. M. Palacz, K. Jarzembowska, W. Wasiak, „New SPME fiber for qualitative analysis of volatile compounds in printing inks”, The XXXII Symposium – Chromatographic Methods Of Investigating The Organic Compounds, Katowice - Szczyrk, June 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup>, 2009.
- I.15. M. Palacz, W. Wasiak, „Nowe włókno SPME w analizie jakościowej i ilościowej lotnych związków organicznych”, XIX Poznańskie Konwersatorium Analityczne – Nowoczesne Metody Przygotowania i Oznaczania Śladowych Ilości Pierwiastków, Poznań 8-9 kwiecień 2010.
- I.16. M. Palacz, W. Wasiak, „New SPME fiber for qualitative and quantitative analysis of volatile compounds”, 37<sup>th</sup> International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Institute of Chemical and Environmental Engineering, Slovak University of Technology in Bratislava, Tatranske Matliare, Slovakia, May 24-28, 2010.
- I.17. M. Palacz, W. Wasiak, “New SPME fibre for analysis of mequinol emitted from DVDs”, Chemical Papers 65 (2) 113–118 (2011).
- I.18. I. Rykowska, M. Palacz, W. Wasiak, “New SPME fibre and new stirrer bar based on modified silica for the analysis of selected compounds emitted from DVDs”, 29 International Symposium on Chromatography & 18 International Symposium on separation Sciences " chromatography & separation Science- Past, Today, Future, 9.09-13.09.2012 Toruń

## XII. SPIS AKRONIMÓW

- SBSE (*ang. Stir Bar Sorptive Extraction*) - Ekstrakcja ruchomym elementem sorpcyjnym
- MAE (*ang. Microwave Assisted Extraction*) - Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym
- SFE (*ang. Supercritical Fluid Extraction*) – Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym
- ASE (*ang. Accelerated Solvent Extraction*) – Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
- MSPD (*ang. Matrix Solid-Phase Dispersion*) – Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem
- SPME (*ang. Solid Phase Microextraction*) – Mikroekstrakcja do fazy stałej
- PDMS – Polidimetylosiloksan
- PA – Poliakrylan
- PDMS/DVB – Polidimetylosiloksan/Diwinylobenzen
- PDMS/CARBOXEN – Polidimetylosiloksan/Carboxen
- MEHQ – Monoeter metylowy hydrochinonu
- BHT – 2,6-di-tert-butyl-4-metylofenol
- HS (*ang. HeadSpace*) – statyczna adsorpcja z fazy nadpowierzchniowej
- P (*ang. Purge*) – dynamiczna adsorpcja z fazy nadpowierzchniowej
- TLHS (*ang. Thin Layer HeadSpace*) – Adsorpcja z fazy nadpowierzchniowej nad cienkim filmem cieczy
- SPE (*ang. Solid Phase Extraction*) – Ekstrakcja do ciała stałego
- SDE (*ang. Single Drop Extraction*) – Ekstrakcja kroplą rozpuszczalnika
- SBSE (*ang. Stir Bar Sorptive Extraction*) – Ekstrakcja ruchomym elementem sorpcyjnym
- HPLC (*ang. High-Performance Liquid Chromatography*) – Wysokosprawna chromatografia cieczowa
- DI (*ang. Direct Immersion*) – Bezpośrednia mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej
- CG (*ang. Gas Chromatography*) – Chromatografia Gazowa
- BHA – Butylowany hydroksyanizol
- HMDS – Hekstametylodisilazan
- NMR (*ang. Nuclear Magnetic Resonance*) – Spektroskopia Magnetycznego Rezonansu Jądrowego
- IR (*ang. Infrared Spectroscopy*) – Spektroskopia w podczerwieni
- FTIR (*ang. Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) – Spectroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

FID (*ang. Flame Ionisation Detector*)- Detektor płomieniowo-jonizacyjny

MS (*ang. Mass Spectroscopy*) - Spectroskopia masowa

LOD (*ang. Limit Of Detection*) – Granica wykrywalności

LOQ (*ang. Limit Of Quantification*) – Granica oznaczalności