

TADEUSZ GÓRSKI, WALDEMAR BUDA

ZASTOSOWANIE KOLUMN O OTWARTYM PRZEKROJU W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW CHLOROORGANICZNYCH *

Z Zakładu Toksykologii Sanitarnej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. T. Syrowatka
oraz z Zakładu Fizyki Chemicznej Instytutu Chemii
Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Z. Suprynowicz

Omówiono niektóre aspekty zastosowania kolumn o otwartym przekroju w analizie pozostałości pestycydów chloroorganicznych. Stwierdzono, że kolumny z fazami polarnymi OV-17, OV-210 i Silar-10c naniesione na powierzchnię kapilar przygotowanych techniką węglanową nie są przydatne, ze względu na silną degradację większości pestycydów chloroorganicznych.

W praktyce analizy pozostałości pestycydów chloroorganicznych, często występują duże trudności w oznaczeniu niektórych interesujących nas związków, szczególnie sześciochlorobenzenu (HCB) i izomerów sześciochlorocykloheksanu (HCH), ze względu na silną interferencję innych elektronofilnych kontaminantów środowiska mających zbliżone właściwości chemikofizyczne do analizowanych związków i nie dających się usunąć w procesach ekstrakcji i oczyszczania próbek. Zmiana selektywności faz stosowanych kolumn rzadko pozwala usunąć tę trudność. W takim przypadku jedynym rozwiązaniem jest zwiększenie liczby pól teoretycznych w kolumnie. Oznaczać to musi zwiększenie długości kolumny, jednak związany z tym wzrost ciśnienia gazu nośnego na wejściu kolumny, praktycznie uniemożliwia stosowania dłuższych pakowanych kolumn niż 3—4 metrów.

Rozwiązanie tego problemu przynosi coraz częściej stosowana w chromatografii gazowej technika kolumn o przekroju otwartym zwanych potocznie kapilarnymi, które charakteryzuje wysoka zdolność rozdzielcza oraz lepsza czułość niż ta, którą uzyskuje się na kolumnach pakowanych. Wyższość techniki kolumn kapilarnych polega przede wszystkim na możliwości wytworzenia w nich dużej ilości pól teoretycznych, nawet rzędu miliona, przy niewielkim ciśnieniu gazu na wejściu kolumny.

Stosowane są kolumny typu WCOT (wall coated open tubular) z fazą ciekłą osadzoną bezpośrednio na wewnętrznej ściance kapilary oraz SCOT (support coated open tubular), gdzie wewnętrzna ścianka pokryta jest warstwą sorbenta na którym osadzona jest faza stacjonarna. Początkowo kolumny kapilarne wykonywane były z rurek metalowych, lecz ze względu na często ujawniające się działanie katalityczne w stosunku do analizowanych substancji, obecnie wytwarzane są ze szkła lub kwarcu. Zależnie od przeznaczenia mają najczęściej długość 25—100 m i średnicę 0,2—0,5 mm. Kolumny typu WCOT charakteryzują się prze-

* Praca wykonana w ramach problemu MR-12

ciężnie 2-krotnie wyższą sprawnością niż typu SCOT, tym nie mniej te ostatnie wykazują znaczną pojemność w stosunku do wprowadzanej próbki (możliwość nastrzykiwania próbek bez stosowania dzielnika strumienia), większą stabilność termiczną fazy oraz oporność na próbki żle oczyszczone, co jest szczególnie ważną zaletą przy analizie pozostałości pestycydów.

MATERIAŁY I METODY

Przeprowadzone badania pozostałości pestycydów chloroorganicznych dotyczyły próbek krwi, mleka i tkanki tłuszczowej ludzi oraz super-toksycznych zanieczyszczeń, polichlorowanych dwubenzeno-p-dwuoksyn (PCDD) i polichlorowanych dwubenzofuranów (PCDF) zawartych w chlorofenolach i niektórych herbicydach produkcji krajowej.

Stosowano chromatograf gazowy Pye-104 z detektorem wychwytu elektronów ($EC^{63}Ni$), przystosowany do pracy z kolumnami kapilarnymi, z komorą nastrzykową typu Grob (split/splitless) z wkładką szklaną. Warunki pracy i właściwości stosowanych kolumn przedstawiono w tabeli I. Dozowanie próbek przeprowadzono stosując dzielnik strumienia gazu ustawiony w zależności od potrzeb w granicach 1 : 50—1 : 200.

Kolumny kapilarne typu WCOT wykonane zostały w Zakładzie Fizyki Chemicznej UMCS w Lublinie:

1. Kolumny z fazami niepolarnymi OV-101 i SE-52.

Fazę stacjonarną nanoszono metodą dynamiczną na uprzednio wytrawione HCl i silanizowane szkło zgodnie z metodyką opracowaną w Zakładzie Fizyki Chemicznej UMCS w Lublinie.

2. Kolumny z fazami polarnymi OV-17, OV-210 i Silar-10c.

Ponieważ każda polarna faza stacjonarna wymaga doprowadzenia powierzchni do pewnego stopnia chropowatości, dlatego też w wytrawionych HCl kolumnach wykryszalowano $BaCO_3$, a następnie przeprowadzono nanoszenie fazy metodą dynamiczną zgodnie z metodyką opracowaną przez Groba [1]. Dla średnio polarniej fazy OV-17 przed naniesieniem jej tworzącej warstwę $BaCO_3$ w takich warunkach aby uzyskiwać niezbyt rozwiniętą powierzchnię wewnętrzną węglanu, a następnie dezaktywowano ją 1% roztworem Carbowaxu 1000 w CH_2Cl_2 .

Dla polarnych faz OV-210 i Silar-10c tworzącej warstwę $BaCO_3$ i nie stosowano dezaktywacji Carbowaxem przed naniesieniem ich metodą dynamiczną.

W obliczeniach stosowano następujące wzory i oznaczenia:

$$n = 5,54 \left(\frac{t_r}{w_h} \right)^2, \quad k' = \frac{t_r - t_0}{t_0}, \quad WRPT = \frac{L}{n}, \quad SN = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_{h1} + w_{h2}} - 1,$$

$$\bar{u} = \frac{L}{t_0}$$

w których:

n = liczba pól teoretycznych; t_r , t_{r1} , t_{r2} = czas retencji, czas retencji składnika 1,2 ($t_{r2} > t_{r1}$); t_0 = czas retencji składnika niesorbowanego (dla EC pik powietrza); w_h = szerokość pik w połowie wysokości; L = długość kolumny; φ = średnica kolumny; d_f = grubość filmu fazy stacjonarnej; \bar{u} = średnia liniowa prędkość przepływu gazu nośnego; k' = liczba podziału; WRPT = wysokość równoważna półce teoretycznej; SN (Separation Number) = liczba rozdzielu.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tabeli I przedstawiono warunki pracy oraz właściwości stosowanych kolumn kapilarnych, które wykorzystane były przede wszystkim w procedurach potwierdzających. W pracach rutynowych wykorzystano krótką 5 m kolumnę kapilarną z SE-52, stosując argon jako gaz nośny o prędkości przepływu 8 cm/sek. W temperaturze 190°C otrzymano

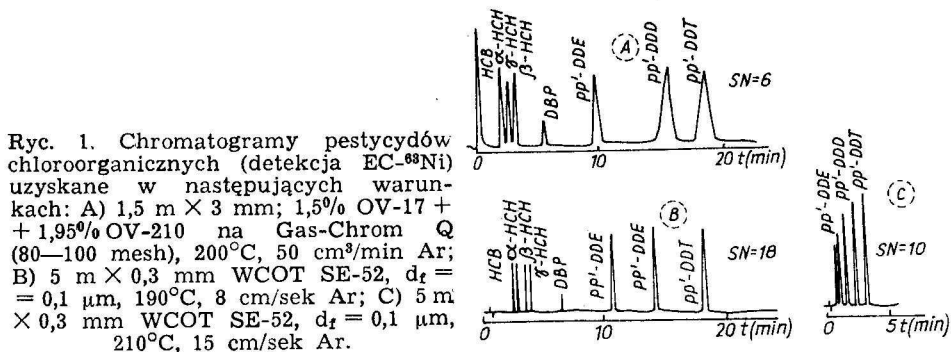
całkowite rozdziały analizowanych związków, na mało selektywnej fazie SE-52 w czasie zbliżonym do tego jaki uzyskuje się na 2 m pakowanej kolumnie z jedną z najbardziej selektywnych faz (1,5% OV-17 + 1,95% OV-210) stosowanych w analizie pozostałości pestycydów chloroorganicznych (ryc. 1). Liczba rozdziału wyliczona dla pików DDE i DDT była 3-krotnie wyższa ($SN = 18$) niż ta którą można uzyskać na

Tabela I. Warunki pracy oraz właściwości stosowanych kolumn kapilarnych typu WCOT

Parametr	Faza stacjonarna				
	SE-52	OV-101	OV-17	OV-210	Silar-100
L (m)	25	25	25	25	25
ϕ (mm)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
d_f (μm)	0,1	0,1	0,1	0,06	0,1
t ($^{\circ}\text{C}$)	185	190	195	175	185
t_r (min)*	11,2	9,4	10,1	9,7	9,3
n^*	48250	45250	17100	23675	30850
n/m^*	1930	1810	684	947	1234
WRPT*	0,52	0,55	1,46	1,05	0,81

* - dla p,p'-DDE przy prędkości przepływu wodoru $\bar{u} = 30$ cm/sek i danej temperatury ($^{\circ}\text{C}$)

kolumnie pakowanej ($SN = 6$). Oznacza to, że 18 dodatkowych pików można jeszcze zmieścić pomiędzy pikami DDE i DDT gdy stosujemy 5 m kolumnę kapilarną, a tylko 6 na kolumnie pakowanej. Na Ryc. 1 przedstawiono też chromatogram pestycydów uzyskany w bardzo krótkim czasie 3 minut, przy czym liczba rozdziału ($SN = 10$) była również większa niż dla kolumny pakowanej. Jednak, nie otrzymano przy tak dobranych warunkach pracy (210°C , $\bar{u} = 15$ cm/sek) całkowitych rozdziałów dla pierwszych „szybkich” pików HCB, alfa-HCH, gamma-HCH i beta-HCH.



Ryc. 1. Chromatogramy pestycydów chloroorganicznych (detekcja $\text{EC-}^{63}\text{Ni}$) uzyskane w następujących warunkach: A) $1,5 \text{ m} \times 3 \text{ mm}$; 1,5% OV-17 + 1,95% OV-210 na Gas-Chrom Q (80–100 mesh), 200°C , $50 \text{ cm}^3/\text{min}$ Ar; B) $5 \text{ m} \times 0,3 \text{ mm}$ WCOT SE-52, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$, 190°C , $8 \text{ cm}/\text{sek}$ Ar; C) $5 \text{ m} \times 0,3 \text{ mm}$ WCOT SE-52, $d_f = 0,1 \mu\text{m}$, 210°C , $15 \text{ cm}/\text{sek}$ Ar.

Można więc sądzić, że przy zastosowaniu bardziej selektywnej fazy (OV-17 lub OV-210) otrzyma się całkowite rozdziały wszystkich analizowanych związków w czasie prawie 10-krotnie krótszym niż na kolumnie pakowanej utrzymując przy tym prawie dwukrotnie większą liczbę rozdziału ($SN = 10$). Co prawda, dla 25 m kolumn kapilarnych selektywność fazy w chromatografii pestycydów chloroorganicznych nie

jest parametrem krytycznym, bowiem bez względu na rodzaj zastosowanej fazy otrzymano całkowite rozdziąły analizowanych związków. Tym nie mniej, fazy polarne (OV-17, OV-210 i Silar-10c) powodując większe różnice w czasach retencji szczególnie dla pików o krótkich retencjach (HCB, alfa-HCH, gamma-HCH i beta-HCH), niż fazy niepolarne (OV-101 i SE-52), są optymalne w analizie pozostałości.

Tabela II. Degradacja pestycydów chloroorganicznych wyrażona procentowym zanikiem wysokości pików analizowanych związków na pięciu różnych kolumnach kapilarnych typu WCOT (wartości przybliżone)

Analizowany związek	SE-52	OV-101	OV-17*	OV-210*	Silar-10c*
HCB	0	0	0	0	0
alfa-HCH	0	0	50	95	95
gamma-HCH	0	0	50	95	95
beta-HCH	0	0	0	0	0
p,p'-DDE	0	0	0	0	0
p,p'-DDD	0	0	20	60	60
p,p'-DDT	0	0	30	75	75
p,p'-DDT ¹⁾	0	0	35	80	80
DBP ²⁾	0	0	0	0	0
DEHP ³⁾	0	0	0	0	0
PCB	0	0	0	0	0
PCDD	0	0	0	0	0
PCDF	0	0	0	0	0

* — fazy naniesione na BaCO₃

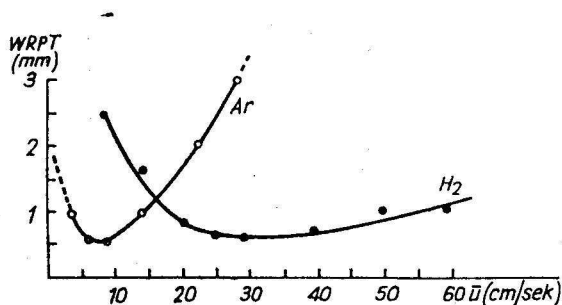
¹⁾ — metoksychlor; ²⁾ — ftalan dwubutyłowy; ³⁾ — ftalan dwu-(2-etyloheksyłowy)

Jednak, jak przedstawiono w tabeli II kolumny kapilarne z fazami polarnymi, które naniesione zostały na powierzchnię z osadzoną warstwą BaCO₃ wykazują silną degradację większości pestycydów chloroorganicznych. Na kolumnie z OV-17 otrzymano mniejsze zaniki pików niż z OV-210 i Silar-10c. Trudno wykazać, czy jest to wynikiem mniej rozwiniętej powierzchni BaCO₃, czy też wstępną dezaktywacją Carbowaxem warstwy węglanowej przed naniesieniem fazy OV-17.

Kolumny z fazami polarnymi wykazywały dobrą dezaktywację powierzchni wewnętrznej fazą stacjonarną (100% pików oktanolu, aniliny i fenolu). Uzyskano na nich dobre rozdziąły mieszanin trójmetylosilikonowych eterów hormonów sterydowych i estrów metylowych wyższych kwasów tłuszczowych bez jakichkolwiek objawów katalitycznego oddziaływania węgla baru. Można więc sądzić, że warstwa BaCO₃ działa wybitnie specyficznie, bowiem degradacji ulegały pestycydy podatne na odchlorowodorowanie (alfa-HCH, gamma-HCH, DDD, DDT i metoksychlor), natomiast w pełni aromatyczne związki chloroorganiczne (PCDD, PCDF, HCB i polichlorowane dwufenyle) lub odporne na odchlorowodorowanie (beta-HCH i DDE) jak i estry kwasu ftalowego nie ulegały degradacji.

Tak więc pomimo, że preparatyka kolumn kapilarnych z fazami polarnymi wykonywanych techniką węglanową jest metodą o dużym stopniu powtarzalności, to z wyżej wymienionych względów, kolumny kapilarne wytworzone tą techniką nie są przydatne w analizie pozostałości pestycydów chloroorganicznych.

Na ryc. 2 przedstawiono zależność wysokości półki teoretycznej (WRPT) jako funkcji przepływu dwóch gazów nośnych. Zarówno dla Ar jak i H_2 uzyskano taką samą sprawność (minimum WRPT) przy prędkościach przepływu odpowiednio 6—8 cm/sek (Ar) i 25—30 cm/sek (H_2). Jednakże czasy retencji analizowanych związków ze względu na 4-krotnie wolniejszy przepływ Ar niż H_2 są czterokrotnie większe. Dla 25 m kolumny z OV-101 w temperaturze $195^\circ C$, czas retencji metoksychloru dla przepływu optymalnego H_2 ($\bar{u} = 30$ cm/sek) wynosi 37 min., natomiast dla Ar ($\bar{u} = 8$ cm/sek) aż ponad 2 godziny. Jak wynika z ryc. 2 zwiększenie prędkości przepływu Ar powoduje gwałtowny spadek sprawności kolumny (zwiększenie WRPT), co jest mniej widoczne w przypadku H_2 .



Ryc. 2. Zależność wysokości równoważnej półki teoretycznej (WRPT) jako funkcji prędkości przepływu (\bar{u}) argonu i wodoru. Pomiarów dokonano dla p,p'-DDE ($k' = 6,71$) na 25 m \times 0,3 mm kolumnie kapilarnej typu WCOT z fazą OV-101 ($d_f = 0,1 \mu m$) w temperaturze $190^\circ C$.

Przy stosowaniu długich kolumn i analizowaniu związków wysokowrzących należy stosować jako gaz nośny H_2 lub zbliżony do niego właściwościami He.

Natomiast w przypadku kolumn krótkich (5—10 m) zastosowanie Ar czy zbliżonego do niego właściwościami N_2 jest całkowicie możliwe, co wykazano w tej pracy.

Minimalne ciśnienie wlotowe gazu przy krótkich kolumnach kapilarnych wynoszące w przeprowadzonych badaniach 0,05 atmosfery pozwoliło na wykonanie około 100 analiz bez zmiany membrany komory nastrzykowej.

Jedyną wadą stosowania kolumn kapilarnych w chromatografii gazowej pozostałości pestycydów chloroorganicznych jest to, że nastrzykiwane próbki muszą być bardzo dobrze oczyszczone. Jeden nastrzyk, źle oczyszczonej próbki, którą całkowicie toleruje kolumna pakowana, powoduje nieodwracalne zniszczenie kolumny kapilarnej. Dlatego też, w przypadku próbek o dużej zawartości tłuszczu należy zawsze stosować oczyszczanie przez ekstrakcję podziałową (heksan/acetonitryl), następnie wytrząśnięcie dwukrotne z H_2SO_4 i chromatografię kolumnową na Florisilu.

Podsumowując, można stwierdzić, że zastosowanie 25 m kolumn o otwartym przekroju typu WCOT w procedurach potwierdzających pozostałości pestycydów chloroorganicznych jest techniką niezwykle korzystną ze względu na wartość analityczną uzyskanych wyników. Na-

tomiast, nie wydaje się potrzebne stosowanie ich w pracach rutynowych, bowiem jak wykazano, krótka 5 m kolumna kapilarna z argonem jako gazem nośnym zapewnia znacznie lepsze rozdzielanie niż te, które można uzyskać na kolumnie pakowanej, przy czym nie narażamy znacznie kosztowniejszej długiej kolumny kapilarnej na ryzyko zniszczenia w razie nastryknięcia źle oczyszczonej próbki.

Preparatyka wydajnych, trwałych i nieaktywnych kolumn z fazami polarnymi, które można by zastosować w analizie pozostałości pestycydów chloroorganicznych jest w dalszym ciągu problemem otwartym.

T. Гурски, В. Буда

ПРИМЕНЕНИЕ КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНОК ТИПА ГРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ

Резюме

Обсуждаются некоторые аспекты применения капиллярных колонок типа Гроб (OV-101, OV-17, OV-210 и Силар-10с) для анализа остаточных количеств хлороорганических пестицидов. Было установлено, что колонки со стационарными фазами нанесёнными на поверхность капилляров приготовленных техникой BaCO₃ непригодны из-за сильной деградации большинства хлороорганических пестицидов. Деградации подвергались пестициды легко поддающиеся отщеплению хлороводорода (альфа-НСН, гамма-НСН, ДДД, ДДТ, ДМДТ), в то время как полностью ароматические хлороорганические соединения (РСВ, PCDD, PCDF, HCB) и устойчивые к отщеплению хлороводорода (бета-НСН, ДДЕ) не подвергались деградации.

T. Górski, W. Buda

USE OF A THIN-FILM, GROB-TYPE GLASS CAPILLARY COLUMN FOR THE DETERMINATION OF ORGANIC CHLORINE PESTICIDE RESIDUES

Summary

Certain aspects of using a thin-film, Grob-type glass capillary column (OV-101, OV-17, OV-210 and Silar-10c) for the determination of organic chlorine pesticides present in residual amounts. It was found that columns with stationary phases overlaid on the surface of the capillaries prepared by the BaCO₃ technique were unsuitable because of strong degradation of most organic chlorine pesticides. Degradation was particularly evident in the case of pesticides prone to splitting-off of the HCl group (alpha-HCH, gamma-HCH, DDD, DDT, DMDT) while fully aromatic organic chlorine compounds (PCB, PCDD, PCDF, HCB) and those resistant to splitting-off of this group (beta-HCH, DDE) were not degraded.

PIŚMIENICTWO

1. Grob K., Grob G.: A new, generally applicable procedure for the preparation of glass capillary columns. J. Chromatogr., 1976, 125, 471.

Dn. 19.III.1981 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.