Politechnika Gdańska Wydział Chemiczny Katedra Chemii Analitycznej / Katedra Chemii Fizycznej

Rozprawa doktorska

# NOWE ROZWIĄZANIA W ZAKRESIE TECHNIKI MIKROEKSTRAKCJI DO FAZY STACJONARNEJ (SPME)

mgr inż. Agata Spietelun

Promotorzy: prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik dr hab. inż. Michał Pilarczyk

Gdańsk 2014

Składam serdeczne podziękowania

#### Panu prof. dr hab. inż. Jackowi Namieśnikowi

za zaufanie i wiarę w moje możliwości, za pomoc i wyrozumiałość w trudnych chwilach, za wszelkie rady, naukę systematyczności i nieustanną mobilizację do pracy

#### Panu dr hab. inż. Michałowi Pilarczykowi

za wszelką pomoc, porady, sugestie oraz za okazaną życzliwość

Dziękuję także

#### Pracownikom i Doktorantom Katedry Chemii Analitycznej i Katedry Chemii Fizycznej

za miłą atmosferę pracy, wszelką pomoc, rady i wsparcie

Pracownikom Urzędu Marszałkowskiego Województwa Pomorskiego, Politechniki Gdańskiej, Narodowego Centrum Nauki oraz wszystkim osobom pozyskującym środki finansowe w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

za pomoc w pozyskaniu dodatkowego wsparcia finansowego i przyznane stypendia

Szczególnie dziękuję

dr n. med. Maciejowi Świerblewskiemu i pracownikom Kliniki Chirurgii Onkologicznej za uratowanie życia, wszelką pomoc i opiekę oraz poczucie humoru

## Fundacji Pokonaj Raka i pani Katarzynie Gulczyńskiej

za wsparcie duchowe, wiarę w moje możliwości i umożliwienie spełnienia marzeń

#### Rodzinie i przyjaciołom

za nieustanną wiarę we mnie, wyrozumiałość, wsparcie duchowe i wszelką pomoc

Wykaz skrótów i akronimów	6
Wstęp	8
I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	9
1. Zielona chemia analityczna	9
2. Bezrozpuszczalnikowe techniki przygotowania próbek	10
3. Podstawy teoretyczne techniki SPME	13
3.1. Termodynamika procesu ekstrakcji	
3.2. Wpływ temperatury na wartość liczbową współczynnika podziału	25
3.3. Wpływ dodatku czynnika wysalającego na wartość liczbową współczynnika podziału	26
3.4. Wpływ zmiany pH próbki na wartość liczbową współczynnika podziału oraz efekt matrycowy	27
3.5. Proces konwersji chemicznej analitów	28
3.6. Kinetyka procesu ekstrakcji	29
4. Sorbenty stosowane jako fazy ekstrakcyjne w technice SPME	32
4.1. Fazy ekstrakcyjne dostępne handlowo	33
4.2. Polimery przewodzące	
4.3. Polimery z nadrukiem cząsteczkowym	
4.4. Immunosorbenty	37
4.5. Polimery otrzymywane z wykorzystaniem techniki zol-żel	
4.6. Ciecze jonowe	41
4.7. Sorbenty węglowe, nanorurki węglowe i grafen	43
4.8. Porowate materiały krzemionkowe	45
4.9. Inne typy pokryć włókna ekstrakcyjnego	46

5. Nowe rozwiązania w zakresie techniki SPME	47
5.1. Automatyzacja toku postępowania procesu ekstrakcji	47
5.2. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki ekstrakcyjnej	48
5.3. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki	49
5.4. Mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe	51
5.5. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej wspomagana elektrochemicznie	52
5.6. Membranowa mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej	54
II. CEL I ZAKRES PRACY	56
III CZĘŚĆ DOSWIADCZALNA	58
1. Odczynniki chemiczne i materiały	58
2. Aparatura	60
3. Sorbenty stosowane jako fazy sorpcyjne w technice M-SPME	61
4. Opis procedur analitycznych	66
4. 1. Wyznaczenie temperatury topnienia polikaprolaktonu i glikolu polietylenowego	66
4.2. Określenie polarności polikaprolaktonu poprzez wyznaczenie wartości liczbowych stałych McReynoldsa	68
4.3. Przygotowanie włókien ekstrakcyjnych wg koncepcji membranowej wersji techniki SPME	71
4.4. Procedura procesu ekstrakcji i desorpcji termicznej analitów z wykorzystaniem techniki SPME	75
5. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PEG/PDMS do pobierania	
próbek lotnych związków organicznych	78
5.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów	79
5.2. Udział fazy membranowej włókna PEG/PDMS w procesie ekstrakcji analitów	84
5.2. Zakres liniowości, powtarzalność i granice wykrywalności opracowanej procedury analitycznej	85
5.3. Wpływ składników matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji lotnych związków organicznych z próbek wody	88

6. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PCL/PDMS do pobierania	
próbek triazyn	90
6.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów	91
6.2. Udział fazy membranowej włókna PCL/PDMS w procesie ekstrakcji analitów	99
6.3. Zakres liniowości, powtarzalność i granice wykrywalności stosowanej procedury analitycznej	100
6.4. Wpływ składników matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody	102
7. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PIL/PDMS do pobierania	
próbek fenoli	103

Podsumowanie i wnioski	113
Literatura	117
Streszczenie	124
Summary	126
Spis dorobku	127

7.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów -----104

AKRONIM	PEŁNA NAZWA			
/SKRÓT	termin w języku angielskim	termin w języku polskim		
ANOVA	analysis of variance	analiza wariancji		
APTES	3-Aminopropyltriethoxysilane	3-aminopropylotrietyloksysilan		
BTEX	benzene, toluene, ethylbenzene, xylanes	benzen, toluen, etylobenzen, ksyleny		
CAR	carboxen	carboxen		
СВ	chlorobenzene	chlorobenzen		
CCF-SPME	cooled hoated fiber solid-phase microextraction	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki		
CE	counter electrode	przeciwelektroda		
CLSA	closed loop stripping analysis	analiza przy wykorzystaniu zamkniętego obiegu strumienia gazu płuczącego		
СТ	chlorotoluene	chlorotoluen		
CW	carbowax	glikol polietylenowy		
DCB	dichlorobenzene	dichlorobenzen		
DI-SPME	direct immersion solid phase microextraction	technika ekstrakcji do fazy stacjonarnej poprzez zanurzenie włókna w próbce		
DHS	dynamic headspace analysis	analiza fazy nadpowierzchniowej w układzie dynamicznym		
DLLSME	dynamic liquid-liquid-solid microextraction	dynamiczna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe		
DSC	differential scanning calorimetry	skaningowa kalorymetria różnicowa		
DVB	divinylbenzene	diwinylobenzen		
EC-SPME	electrochemically controlled solid-phase microextraction	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej kontrolowana elektrochemicznie		
EE-SPME	electrochemically enhanced solid-phase microextraction	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej wspomagana elektrochemicznie		
EPA	Environmental Protection Agency	Agencja Ochrony Środowiska		
FID	flame ionization detector	detektor płomieniowo-jonizacyjny		
GAC	green analytical chemistry	zielona chemia analityczna		
GC	gas chromatography	chromatografia gazowa		
INCAT	inside needle capillary adsorption trap	technika mikroekstrakcji z wykorzystaniem pułapki adsorpcyjnej wewnątrz igły		
<sup>1</sup> HNMR	hydrogen-1 nuclear magnetic resonance	spektroskopia protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego		
HPLC	high performance liquid chromatography	wysokosprawna chromatografia cieczowa		
HS-SPME	headspace solid-phase microextraction	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej		
ICP	inductively coupled	jonizacja w plazmie indukcyjnie sprzężonej		
isoPB	isopropylbenzene	isopropylobenzen		
LOD	limit of detection	granica wykrywalności		

# Wykaz skrótów i akronimów

LLSME	liquid–liquid–solid microextraction	mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe	
MESI	membrane extraction with a sorbent interface	ekstrakcja membranowa połączona z zatrzymywaniem analitów na złożu sorbentu	
MIP	molecularly imprinted polymers	polimery z nadrukiem cząsteczkowym	
M-SPME	membrane solid-phase microextraction	membranowa mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej	
MWCNT	multiwalled carbon nanotubes	wielowarstwowe nanoruki węglowe	
n-PB	n-Propylbenzene	n-propylobenzen	
отт	open-tube trap/ open-tubular trap	otwarta pułapka kapilarna z filmem sorbentu	
o-X	o-Xylene	o-ksylen	
PA	polyacrylate	poliakryl	
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbons	policykliczne węglowodory aromatyczne	
PANI	polyaniline	polianilina	
PBDE	polybrominated diphenyl ethers	polibromowanw etery difenylowe	
РСВ	polychlorinated biphenyls	polichlorowane bifenyle	
PCL	polycaprolactone	polikaprolakton	
PDMS	polydimethylsiloxane	polidimetylosiloksan	
PEG	poly(ethylene glycol)	glikol polietylenowy	
PIL	polymeric ionic liquid	polimerowa ciecz jonowa	
PPY	polypyrrole	polipirol	
PT	purge and trap	technika jednoczesnego wypłukiwania i wychwytywania analitów na złożu	
p-X	p-Xylene	p-ksylen	
RE	reference electrode	elekroda odniesienia	
RSD	relative standard deviation	względne odchylenie standardowe	
SBSE	stir bar sorptive extraction	ekstrakcja z zastosowaniem ruchomego elementu sorpcyjnego	
SPDE	solid phase dynamic extraction	dynamiczna ekstrakcja do fazy stacjonarnej	
s-BB	sec-Butylbenzene	sec-butylobenzen	
SPE-DT	solid phase extraction with thermal desorption	ekstrakcja do fazy stałej z desorpcją termiczną	
SPME	solid-phase microextraction	mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej	
SWCNT	singlewalled carbon nanotubes	jednowarstwowe nanorurki węglowe	
S-HS	static headspace analysis	analiza fazy nadpowierzchniowej w układzie statycznym	
t-BB	tert-Butylbenzene	t-butylobenzen	
WE	Working electrode	elektroda robocza	

# Wstęp

Wiele związków z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska podejrzewanych jest o działanie mutagenne, teratogenne, rakotwórcze czy alergogenne, a także wiele innych negatywnych skutków odczuwanych przez organizmy żywe, dlatego też emisja oraz dopuszczalna zwartość zwiazków mających niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka, przyrode ożywioną, klimat, glebę i wodę ograniczona jest przez normy prawne. Monitorowanie zawartości związków występujących w próbkach środowiskowych na niskich poziomach stężeń wymaga procedur analitycznych ze wstępnym etapem izolacji/wzbogacania analitów, gdyż większość technik analitycznych jest niedostatecznie czuła aby zapewnić możliwość bezpośredniego oznaczania śladowych ilości składników. Ponadto koniecznością stało się również, aby zasada pracy wprowadzanych do praktyki analitycznej nowych rozwiązań metodycznych była zgodna z założeniami zrównoważonego ekorozwoju i wynikajacymi z nich zasadami zielonej chemii. W świetle tych wyzwań szczególnym zainteresowaniem cieszą się bezrozpuszczalnikowe techniki przygotowania próbki do oznaczania zawartych w niej związków organicznych, takie jak technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Technika ta jest szeroko wykorzystywana w praktyce analitycznej do izolacji/wzbogacania i pobierania próbek analitów z mediów charakteryzujących się złożonym składem matrycy. Osiągnięcie wysokiej selektywności i wydajności procesu ekstrakcji analitów w dużym stopniu zależy od rodzaju zastosowanego materiału sorpcyjnego, jednakże włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME dostępne handlowo posiadają szereg ograniczeń i charakteryzują się niskim powinowactwem do polarnych związków organicznych.

Głównym celem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej jest opracowanie nowych układów sorpcyjnych do pobierania próbek i/lub izolacji/wzbogacania analitów z grupy podstawowych zanieczyszczeń środowiska z wykorzystaniem membranowej wersji techniki SPME oraz oznaczania związków z wykorzystaniem chromatografii gazowej. W prowadzonych badaniach jako medium ekstrakcyjne wykorzystywane są sorbenty występujące w formie pseudocieczy (ciała stałego o właściwościach cieczy) oraz ciecze jonowe, fizycznie oddzielone od badanej próbki za pomocą hydrofobowej membrany. Zastosowanie sorbentów o właściwościach reologicznych cieczy jako czynników ekstrakcyjnych eliminuje wady związane z mechanizmem procesu ekstrakcji opartym na specyficznych oddziaływaniach analit-adsorbent. W przypadku zastosowania polarnych sorbentów obecność hydrofobowej membrany eliminuje dodatkowo ryzyko częściowego rozpuszczenia czynnika ekstrakcyjnego w próbce o charakterze polarnym i gwarantuje uzyskanie znaczącego efektu wzbogacenia matrycy wtórnej w polarne anality. Zaleta ta stwarza możliwość wykorzystania nowych klas materiałów sorpcyjnych, które ze względu na ich rozpuszczalność w wodzie, czy niskie temperatury topnienia nie mogły być wykorzystane jako czynniki ekstrakcyjne w technice SPME.

# I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

### 1. Zielona chemia analityczna

Do podstawowych narzędzi realizacji międzynarodowej polityki proekologicznej należą m.in. narzędzia ekonomiczne (subwencje i opłaty), systemy kontroli i monitoringu środowiska, badania naukowe, edukacja ekologiczna oraz narzędzia prawne i administracyjne regulujące właściwą ochronę, umiejętne kształtowanie oraz racjonalne korzystanie z zasobów i walorów środowiska przyrodniczego m.in. poprzez propagowanie zasad zrównoważonego rozwoju [1]. Idea zrównoważonego ekorozwoju została po raz pierwszy przedstawiona w roku 1987 w raporcie "Nasza Wspólna Przyszłość" Światowej Komisji ds. Środowiska i Rozwoju [2]. W raporcie tym stwierdzono po raz pierwszy, że rozwój poziomu cywilizacyjnego i zaspokojenie potrzeb społeczno-ekonomicznych obecnych i przyszłych pokoleń jest możliwe tylko pod warunkiem odpowiedniego gospodarowania zasobami naturalnymi a także świadomego kształtowania relacji między wzrostem gospodarczym a dbałością o środowisko i ludzkie zdrowie, jednocześnie uwzględniając dalekosiężne skutki działalności przemysłowej.

Idea zrównoważonego rozwoju dała początek wielu programom proekologicznym propagującym tzw. "czyste technologie" lub "zielone technologie", a także programom dotyczącym edukacji jak i różnych przejawów działalności człowieka wywołujących antropopresję. Szczególne istotne znaczenie nabrało wprowadzenie przesłanek zrównoważonego rozwoju do działalności laboratoriów chemicznych, czego przejawem było opracowanie zasad zielonej chemii [3], będących bezpośrednią odpowiedzią na uchwaloną w Stanach Zjednoczonych, w roku 1990, ustawę o zapobieganiu zanieczyszczeniom u źródła i odejściu od działania "nakazowo-kontrolnego" w ochronie środowiska [4]. Ogólnie rzecz biorąc odpowiednie akty prawne stanowiły podstawę do zmiany filozofii działania- zamiast kontroli i utylizacji zanieczyszczeń po ich wytworzeniu należy zapobiegać powstawaniu zanieczyszczeń (kontrola u źródła). Pojęcie "zielona chemia" zostało użyte po raz pierwszy przez P. Anastasa w 1991 roku, w programie Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (US EPA) [5], czego konsekwencją było powstanie w 1993 roku kompleksowego Programu Zielonej Chemii obejmującego współpracę wielu instytucji rządowych, placówek badawczych oraz międzynarodowej współpracy naukowej, a także działalność edukacyjną i informacyjną na całym świecie. W 1997 roku powołano pierwszy Instytut Zielonej Chemii posiadający swoje oddziały w 20 krajach, powstały także specjalistyczne czasopisma naukowe i monografie poświęcone tematyce zielonych technologii, co roku odbywają się liczne konferencje i sympozja oraz przyznawane są nagrody w zakresie promowania najnowszych osiągnięć

w tej dziedzinie [6]. Obecnie zasady zielonej chemii są już powszechnie znane i wdrażane w pracy w laboratoriach chemicznych jak i w działalności przemysłu chemicznego. Coraz większego znaczenia nabiera także holistyczne podejście do zagadnienia oceny szkodliwego oddziaływania danego produktu, usługi czy też specyficznej działalności człowieka.

W tym samym czasie, gdy zespół P. Anastasa pracował nad ideami zielonej chemii, w Paryżu w 1987 roku, podczas VI konferencji *Euroanalysis* przedstawiono pierwsze paradygmaty zielonej chemii analitycznej [7], kolejne ukazały się dziesięć lat później w specjalnym numerze czasopisma *The Analyst*, w którym zaznaczono, że w zintegrowanym podejściu do chemii analitycznej należy rozważyć również środowiskowe aspekty jej oddziaływania [8]. W kolejnych latach idee i zasady zielonej chemii zostały wdrożone w chemii analitycznej zarówno w fazie projektowania na poziomie molekularnym, jak i procedur inżynieryjnych, a termin "zielona chemia analityczna" (GAC) wprowadzony w roku 1999 [9] na stałe wpisał się w terminologię chemiczną, czego przejawem było pojawienie się licznych prac przeglądowych [10-16] oraz prac oryginalnych poświęconych różnym aspektom zielonej chemii analitycznej.

# 2. Bezrozpuszczalnikowe techniki przygotowania próbek

Nawet pobieżny przegląd danych literaturowych prowadzi do wniosku, że najważniejsze wyzwania współczesnej chemii analitycznej to:

- badania ekotoksykologiczne,
- dokładne monitorowanie i ocena stanu środowiska oraz procesów w nim zachodzących,
- pomiary i oszacowanie emisji zanieczyszczeń,
- oznaczanie szerokiej gamy związków organicznych obecnych w próbkach w ilościach śladowych i ultraśladowych, w mediach charakteryzujących się złożonym i zmiennym składem.

Koniecznością stało się również wprowadzenie do praktyki analitycznej nowych rozwiązań metodycznych i aparaturowych, których zasada pracy jest zgodna z założeniami zrównoważonego ekorozwoju i zasadami zielonej chemii, charakteryzujących się mniejszą czaso- i pracochłonnością niż wieloetapowe procedury analityczne (Tabela 1.) [17]:. Zasady te jako główne priorytety zakładają eliminację lub znaczne zmniejszenie ilości zużywanych odczynników (w szczególności rozpuszczalników organicznych, związków toksycznych, mutagennych i rakotwórczych), odpadów stałych i ciekłych oraz redukcję emisji oparów i gazów. Takie nowe, "zielone" podejście chemików analityków określane jest w literaturze mianem trzech "R", czyli zastąpienie toksycznych rozpuszczalników zielonymi rozpuszczalnikami, redukcja użycia rozpuszczalników i produkcji odpadów oraz recykling używanych rozpuszczalników (ang. "*replace, reduce, recycle- replacement of toxic solvents with green solvents, reduction of solvent consumption and waste production, solvent recycling*")[18].

Tabela 1. '	Wykorzystanie zasad	zielonej chen	nii w poszczeg	ólnych operacjac	h i czynnościach	wchodzących
	w skład różnych etap	ów procedury	y analitycznej	i i i i i i i i i i i i i i i i i i i		

Etapy procedury analitycznej	Opis	Literatura
	wprowadzenie zminiaturyzowanych systemów in-line i on-line	
Pobieranie próbki	<ul> <li>bezpośrednie połączenie urządzeń do pobierania próbek z instrumentami pomiarowymi prowadzenie bodoś i pobieranie englitów w układzie in citu erzz in vitre</li> </ul>	
	prowadzenie badan i pobleranie analitow w układzie in sku oraz in vivo	[10.20]
	Zastosowanie dozymetrow pasywnych	[19,20]
	zastosowanie "zielonych rozpuszczannikow.	[2]]
	- przegrzanej wody	
	- wody w stanie nadkrytycznym	[23]
	<ul> <li>ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym</li> </ul>	[24]
Przygotowanie	- cieczy jonowych	[25]
próbki do analizy	<ul> <li>rozpuszczalników supramolekularnych</li> </ul>	[26]
p. co co c	zastosowanie odczynników nietoksycznych i łatwych do utylizacji	
	wprowadzenie bezrozpuszczalnikowych technik przygotowania próbek	[27,28,29]
	automatyzacja toku postępowania analitycznego	
	<ul> <li>zastosowanie czynników wspomagających efektywność operacji:</li> </ul>	
	- promieniowania mikrofalowego	[30,31,32]
	- ultradźwięków	[33]
	- promieniowania UV	[34]
	<ul> <li>wprowadzenie instrumentów pomiarowych wykorzystujących "zielone" fazy ruchome takie jak:</li> </ul>	
	- etanol	[18,35,36]
	- przegrzana woda	[22]
	<ul> <li>ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym</li> </ul>	[37,38]
	<ul> <li>miniaturyzacja urządzeń kontrolno-pomiarowych (lab-on-a-chip)</li> </ul>	[39,40]
	<ul> <li>recyrkulacja fazy ruchomej, redukcja zużycia fazy ruchomej</li> </ul>	[41,18]
Pomiar	<ul> <li>zastosowanie szybkich testów na obecność analitów w próbce</li> </ul>	
	wprowadzenie mikrosystemów do całkowitej analizy chemicznej	[42,43,44]
	używanie na możliwie szeroką skalę tzw. bezpośrednich technik analitycznych	
	zastosowanie technik czujnikowych do bezpośredniego oznaczania związków	[45,46,47]
	wprowadzenie detektorów, charakteryzujących się wysoką czułością	
	uzyskiwanie wyników w czasie rzeczywistym	

Etap przygotowania próbek przed przeprowadzeniem oznaczeń chromatograficznych zawartych w niej analitów jest etapem o zasadniczym znaczeniu dla poprawności i wiarygodności wyników badań, gdyż błędów popełnionych na tym etapie nie można skorygować w dalszym toku analizy. Z tego powodu reprezentatywność próbek i powtarzalność techniki jest w znacznym stopniu funkcją starannego i właściwego wykonania wszystkich czynności. Niestety większość znanych technik analitycznych jest niedostatecznie czuła do bezpośredniego oznaczania związków obecnych w próbkach w ilościach śladowych, w konsekwencji czego monitorowanie zawartości składników

śladowych wymaga procedur analitycznych ze wstępnym etapem izolacji/wzbogacania analitów. Ponadto próbki stałe nie mogą być poddawane bezpośrednio oznaczeniom chromatograficznym w swoim naturalnym stanie skupienia, w tym wypadku należy oddzielić anality od matrycy przed przystąpieniem do właściwej analizy. W świetle idei zielonej chemii analitycznej szczególne znaczenie zyskują bezrozpuszczalnikowe techniki przygotowania próbki, w których jako medium ekstrakcyjne wykorzystuje się:

- gazy obojętne,
- nietoksyczne "zielone" rozpuszczalniki,
- selektywne sorbenty w połączeniu z desorpcją termiczną zaadsorbowanych analitów.

Zadaniem ekstrakcyjnych technik przygotowania próbki do oznaczeń chromatograficznych zawartych w niej analitów jest m.in.:

- izolacja analitów z pierwotnej matrycy próbki,
- wzbogacenie analitu do stężenia powyżej granicy oznaczalności, umożliwiające zastosowanie odpowiedniej techniki instrumentalnej w analizie ilościowej,
- zapewnienie stabilności próbki na etapie transportu i przechowywania,
- usunięcie substancji interferujących w trakcie pomiaru, szczególnie składników silnie adsorbowanych w kolumnie chromatograficznej oraz substancji eluujących powoli,
- ograniczenie użycia toksycznych rozpuszczalników, produkcji odpadów,
- redukcja emisji oparów i gazów
- zmniejszenie niekorzystnego oddziaływania metodyk analitycznych stosowanych w chemii na środowisko i zdrowie organizmów żywych.

Za wprowadzeniem technik bezrozpuszczalnikowych poza oczywistym aspektem ekologicznym przemawiają również względy ekonomiczne- brak konieczności zakupu drogich rozpuszczalników o wysokiej czystości oraz brak kosztów zorganizowania systemu zbierania i utylizacji zlewek rozpuszczalnikowych [27,28,48,49]. Do grupy bezrozpuszczalnikowych technik przygotowania próbki do oznaczeń chromatograficznych zawartych w niej analitów można zaliczyć następujące techniki:

- techniki ekstrakcji analitów za pomocą strumienia gazu nośnego takie jak: technika jednoczesnego wypłukiwania i wychwytywania analitów na złożu (PT) i technika zatrzymania analitów na złożu stałego sorbentu przy wykorzystaniu zamkniętego obiegu strumienia gazu płuczącego (CLSA),
- techniki analizy fazy nadpowierzchniowej- w układzie dynamicznym (DHS) i statycznym (S-HS),
- techniki ekstrakcji do fazy stałej w połączeniu z desorpcją termiczną analitów takie jak: technika ekstrakcji do fazy stałej z desorpcją termiczną (SPE-DT), technika ekstrakcji z zastosowaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (SBSE), technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME), technika dynamicznej ekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPDE), technika ekstrakcji membranowej połączona z zatrzymywaniem analitów na złożu sorbentu (MESI) oraz techniki wykorzystujące otwarte pułapki kapilarne z filmem sorbentu (OTT) i pułapki adsorpcyjne wewnątrz igły (INCAT).

# 3. Podstawy teoretyczne techniki SPME

Jedną z najpopularniejszych, ekstrakcyjnych technik przygotowania próbek do oznaczania zawartych w nich związków organicznych jest technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) opracowana i wprowadzona do praktyki analitycznej przez zespół prof. Janusza Pawliszyna [50]. Zestaw do techniki SPME został wprowadzony do użytku handlowego w roku 1993. Obecnie technika ta jest szeroko stosowana w praktyce analitycznej do pobierania próbek szerokiego spektrum analitów z mediów o różnych stanach skupienia, charakteryzujących się złożonym składem matrycy, takich jak próbki środowiskowe, biologiczne czy próbki żywności [51-55]. Spośród szerokiej gamy technik ekstrakcyjnych, technikę SPME wyróżniają następujące zalety:

- prostota operacji,
- mały rozmiar urządzenia,
- uniwersalność,
- stosunkowo niskie koszty aparatury,
- krótki czas etapu ekstrakcji analitów,
- całkowita eliminacja rozpuszczalników organicznych z toku postępowania analitycznego,
- możliwość pobierania próbek w układach in-situ i in-vivo [56-59],
- możliwość automatyzacji procedury analitycznej [60],
- możliwość desorpcji analitów bezpośrednio w dozowniku urządzenia kontrolno-pomiarowego.

Podstawowy zestaw do techniki SPME zbudowany jest z włókna kwarcowego (lub rdzenia wykonanego z metalu) pokrytego cienką warstwą medium ekstrakcyjnego, włókno zamocowane jest w igle urządzenia o konstrukcji strzykawki (Rysunek 1.). Jako rdzenie włókien ekstrakcyjnych wykorzystuje się również fragmenty drutu wykonanego ze specjalnego stopu o nazwie *NiTinol* charakteryzującego się bardzo dużą elastycznością, odpornością na rozciąganie, korozję i wysokie temperatury a także doskonałą biozgodnością [61,62], rdzenie włókna ekstrakcyjnego wykonane z tego stopu wyróżniają się dużą wytrzymałością na uszkodzenia mechaniczne [63].

Proces ekstrakcji analitów za pomocą techniki SPME wykonuje się poprzez zanurzenie włókna ekstrakcyjnego w badanym medium gazowym lub stosunkowo czystym medium ciekłym (DI-SPME) lub anality pobiera się z fazy nadpowierzchniowej (HS-SPME) nad badanym medium [64].W przypadku procesu ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej badaną próbkę umieszcza się w gazoszczelnym pojemniku a pozostałą wolną przestrzeń wypełnia się gazem obojętnym, następnie włókno urządzenia do SPME umieszczane jest w pojemniku w fazie nadpowierzchniowej nad badaną próbką a proces ekstrakcji prowadzony jest zazwyczaj do ustalenia się stanu równowagi w układzie. Po zakończeniu etapu ekstrakcji włókno umieszcza się w dozowniku przyrządu kontrolno-pomiarowego, najczęściej jest to urządzenie do chromatografii gazowej (GC), wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) [65,66,67] lub elektroforezy kapilarnej [68,69,70], gdzie następuje desorpcja analitów zaabsorbowanych na włóknie ekstrakcyjnym.



Rysunek 1. Schemat budowy urządzenia do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki ekstrakcyjnej (1- tłok, 2- cylinder ochronny, 3- igła, 4- rurka stalowa, 5-włókno ekstrakcyjne).

W przypadku techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej, proces ekstrakcji analitów polega na zjawisku podziału analitu pomiędzy próbkę badanego medium a fazę sorpcyjną (ekstrahent) umieszczoną na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME. Ilość analitu w układzie jest stała i równa ilości analitu wprowadzonej do układu z próbką pierwotną (pp), tak więc w stanie równowagi w procesie ekstrakcji polegającym na mechanizmie podziałowym rozkład analitu między próbkę (p) i ekstrahent (e) można przedstawić za pomocą następującego równania:

$$C_{pp}V_p = C_{p,eq}V_p + C_{e,eq}V_e \tag{1}$$

Gdzie: C<sub>pp</sub> - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

 $C_{p,eq}$  - stężenie analitu w próbce w stanie równowagi,

 $C_{e,eq}$  - stężenie analitu w ekstrahencie w stanie równowagi,

 $V_p$  - objętość próbki,

Ve - objętość ekstrahenta.

Proces ekstrakcji analitów w układzie dwufazowym w stanie równowagi, można opisać za pomocą dwóch wielkości- stosunku objętości próbki i ekstrahenta ( $\beta_{p/e}$ ) oraz wartości liczbowej współczynnika podziału analitu między obie fazy ( $K_{e-p}$ ):

$$\beta_{p/e} = \frac{V_p}{V_e} \tag{2}$$

$$K_{e-p} = \frac{C_{e,eq}}{C_{p,eq}} \tag{3}$$

Gdzie:  $\beta_{p/e}$  - objętościowy stosunek faz próbki i ekstrahenta,

 $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki,

 $C_{p,eq}$  - stężenie analitu w próbce w stanie równowagi,

 $C_{e,eq}$  - stężenie analitu w ekstrahencie w stanie równowagi,

 $V_p$  - objętość próbki,

V<sub>e</sub> - objętość ekstrahenta.

Stosunek stężeń analitu w dwóch niemieszających się, ale pozostających w kontakcie faz objętościowych jest stały, opisany wartością liczbową współczynnika podziału. Układy w których może zaistnieć równowaga podziałowa opisuje prawo Nernsta, które jest spełnione przy zachowaniu stałej temperatury i stałego ciśnienia, warunkiem koniecznym jest także:

- niskie stężenie analitu rozpuszczonego w obu fazach,
- zapewnienie niezmienności składu próbki pierwotnej na skutek przeprowadzonej ekstrakcji poprzez zapewnienie odpowiedniej objętość próbki badanego medium (co najmniej o pięć rzędów większą od objętości czynnika ekstrakcyjnego),
- brak oddziaływań analitu ze składnikami faz układu (dysocjacja, asocjacja, polimeryzacja i in.).

Przy spełnieniu wspomnianych założeń ilość analitu zatrzymana na włóknie ekstrakcyjnym jest proporcjonalna tylko do stężenia początkowego analitu w próbce pierwotnej, wartości liczbowej współczynnika podziału oraz objętości czynnika ekstrakcyjnego, co znacznie ułatwia dokonywanie obliczeń ilościowych.

Przekształcając równania (1) i (3) otrzymuje się zależność opisującą ilość wyekstrahowanego analitu (w stanie równowagi) ( $n_{e,eq}$ ):

$$n_{e,eq} = \frac{K_{e-p}V_{e}C_{pp}V_{p}}{K_{e-p}V_{e} + V_{p}}$$
(4)

Gdzie: n<sub>e,eq</sub> - ilość wyekstrahowanego analitu w stanie równowagi,

 $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki,

 $C_{pp}$  - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

V<sub>p</sub> - objętość próbki,

Ve - objętość ekstrahenta.

Z równania (4) jednoznacznie wynika, że ilość wyekstrahowanego analitu jest wprost proporcjonalna do stężenia początkowego analitu w próbce pierwotnej. Jednocześnie, przy zastosowaniu odpowiednio dużej objętości próbki można przyjąć założenie o niezmienności składu próbki podczas procesu ekstrakcji analitów ( $V_p >> K_{e-p}V_e$ ) i równanie (4) uprościć do następującej formy:

$$n_{e,eq} = K_{e-p} V_e C_{pp} \tag{5}$$

Gdzie:  $n_{e,eq}$  - ilość wyekstrahowanego analitu w stanie równowagi,

 $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki,

 $C_{pp}$  - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

 $V_e$  - objętość ekstrahenta.

Układ próbka-analit-ekstrahent i proces wzbogacania matrycy wtórnej w anality można opisać także za pomocą dwóch parametrów: odzysku analitu (wydajności procesu ekstrakcji) (R) oraz wartości liczbowej współczynnika wzbogacenia (E), które można opisać za pomocą następujących zależności:

$$R = \frac{n_{e}}{n_{pp}} = \frac{K_{e-p}V_{e}}{K_{e-p}V_{e} + V_{p}}$$
(6)

$$E = \frac{V_p}{V_e} R \tag{7}$$

Gdzie: R - odzysk analitu,

E - współczynnik wzbogacenia,

 $n_e$  - ilość analitu w ekstrahencie,

 $n_{pp}$  - ilość analitu w próbce pierwotnej,

 $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki,

 $V_p$  - objętość próbki,

V<sub>e</sub> - objętość ekstrahenta.

Proces ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej jest szczególnym przypadkiem ekstrakcji w układzie trójfazowym, gdzie ekstrahentem pośrednim (ep) jest gaz obojętny, proces ten opisuje się analogicznymi co wspomniane wcześniej wielkości: stosunkiem objętości próbki (p) i ekstrahenta pośredniego ( $\beta_{p/ep}$ ), stosunkiem objętości ekstrahenta pośredniego i ekstrahenta wtórnego (e) ( $\beta_{ep/e}$ ), oraz odpowiadającymi im współczynnikami podziału ( $K_{ep-p}$ ) i ( $K_{e-ep}$ ). Podczas procesu ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej analit ulega podziałowi pomiędzy trzy fazy, co można opisać za pomocą zależności:

$$C_{pp}V_{p} = C_{p,eq}V_{p} + C_{ep,eq}V_{ep} + C_{e,eq}V_{e}$$
(8)

Gdzie:  $C_{pp}$  - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

 $C_{p,eq}$  - stężenie analitu w próbce w stanie równowagi,

 $C_{ep,eq}$  - stężenie analitu w ekstrahencie pośrednim w stanie równowagi,

 $C_{e,eq}$  - stężenie analitu w ekstrahencie wtórnym w stanie równowagi,

 $V_p$  - objętość próbki,

Vep - objętość ekstrahentu pośredniego,

 $V_e$  - objętość ekstrahenta wtórnego.

W opisywanym układzie decydujące znaczenie ma zmiana stężenia analitu w próbce pierwotnej i ekstrahencie wtórnym, dlatego ze względów praktycznych wartości liczbowe współczynników podziału  $K_{ep-p}$  i  $K_{e-ep}$  pomija się, a pod uwagę bierze się jedynie współczynnik podziału analitu w układzie próbka pierwotna (p)- ekstrahent wtórny (e), który można opisać jest za pomocą zależności:

$$K_{e-p} = \frac{C_{e,eq}}{C_{p,eq}} = K_{ep-p} K_{e-ep}$$
<sup>(9)</sup>

Gdzie:  $K_{e-p}$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta wtórnego i próbki,  $K_{ep-p}$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta pośredniego i próbki,  $K_{e-ep}$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta wtórnego i pośredniego,  $C_{e,eq}$ - stężenie analitu w ekstrahencie wtórnym w stanie równowagi,  $C_{p,eq}$ - stężenie analitu w próbce w stanie równowagi.

Przekształcając równania (8) i (9) otrzymuje się zależność pozwalającą obliczyć ilość analitu wyekstrahowaną w stanie równowagi  $(n_{e,eq})$  odzysku analitu (*R*) oraz wartość liczbową współczynnika wzbogacenia (*E*):

$$n_{e,eq} = \frac{K_{e-p}V_{e}C_{pp}V_{p}}{K_{e-p}V_{e} + K_{ep-p}V_{ep} + V_{p}}$$
(10)

$$R = \frac{K_{e-p}V_{e}}{K_{e-p}V_{e} + K_{ep-p}V_{ep} + V_{p}}$$
(11)

$$E = \frac{V_p}{V_e} R \tag{12}$$

Gdzie: R - odzysk analitu,

E - współczynnik wzbogacenia,

 $n_{e,eq}$  - ilość analitu w ekstrahencie wtórnym w stanie równowagi,

 $C_{pp}$  - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

 $K_{e-p}$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta wtórnego i próbki,

 $K_{ep-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta pośredniego i próbki,

Ve - objętość ekstrahenta wtórnego,

Vep - objętość ekstrahenta pośredniego,

V<sub>p</sub> - objętość próbki.

Pobieranie próbek analitów z fazy nadpowierzchniowej umożliwia zmniejszenie ryzyka zanieczyszczenia i uszkodzenia włókna ekstrakcyjnego, jakie może mieć miejsce w przypadku bezpośredniego kontaktu włókna z próbką badanego medium zawierającą interferenty w postaci związków nielotnych, związków o dużej masie cząsteczkowej czy związków humusowych. Z tego powodu pobieranie próbek analitów z fazy nadpowierzchniowej stosuje się najczęściej w przypadku izolacji i wzbogacania analitów z próbek stałych, próbek ciekłych charakteryzujących się złożonym składem matrycy oraz próbek zawierających cząsteczki ciał stałych lub olei (np. zawiesiny czy próbki petrochemiczne) [71]. Proces ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej przebiega z wyższą selektywnością niż w przypadku bezpośredniej ekstrakcji z badanego medium [72] oraz umożliwia wykonywanie dodatkowych operacji takich jak zmiana pH próbki czy konwersja chemiczna analitów, bez ryzyka uszkodzenia warstwy ekstrakcyjnej urządzenia do SPME. W przypadku techniki HS-SPME należy pamiętać jednak o pewnych ograniczeniach- konieczności zapewnienia możliwie jak najmniejszej objętości fazy pośredniej (by nie dopuścić do zbyt dużego rozproszenia analitów w tej fazie) oraz konieczności utrzymywania stałych parametrów wpływających na stan równowagi [73].

Przedstawione zależności (1-12) są słuszne dla każdego procesu ekstrakcji analitów polegającego na wykorzystaniu mechanizmu podziału analitu między próbkę i ekstrahent, zarówno w technikach ekstrakcji ciecz-ciecz, ciecz-gaz jak i w technikach ekstrakcji do fazy stałej, w których jako ekstrahent zastosowano polimer posiadający właściwości cieczy (pseudociecz). Absorbenty w formie unieruchomionej cieczy charakteryzują się dużo wyższą wartością liczbową współczynnika dyfuzji niż w ciałach stałych, dlatego też do opisu mechanizmu podziałowego w ekstrakcji z udziałem tych materiałów można zastosować prawo podziału Nernsta.

#### 3.1. Termodynamika procesu ekstrakcji

Procesowi ekstrakcji analitów związanym z przeniesieniem masy analitu z jednej fazy do drugiej towarzyszy stan stałej lub chwilowej równowagi termodynamicznej, którą można scharakteryzować za pomocą wartości liczbowej entalpii swobodnej (*G*) (zwaną energią Gibbsa), czyli funkcji termodynamicznej opisującej stany równowagowe i dostarczającej informacji o tym, czy określone procesy osiągną stan równowagi w danych warunkach stałego ciśnienia i temperatury. W warunkach stałego ciśnienia i stałej temperatury dyfuzja składników pomiędzy dwoma niemieszającymi się fazami zachodzi samorzutnie tak długo, dopóki maleje entalpia swobodna układu, co można zapisać następująco:

$$dG_{T,p} \le 0 \tag{13}$$

Gdzie: *dG* - zmiana entalpii swobodnej układu.

Jeżeli w warunkach stałej temperatury, stałego ciśnienia i stałej ilości składników, do układu wprowadzona zostanie pewna, bardzo mała ilość moli składnika ( $dn_i$ ), to spowoduje to zmianę entalpii swobodnej całej mieszaniny:

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{T,p,n_j} dn_i \tag{14}$$

Gdzie: dG - zmiana entalpii swobodnej układu,  $dn_i$  - zmiana ilości moli składnika *i*.

Wkład własnej entalpii swobodnej n moli składnika *i* do całkowitej entalpii swobodnej układu definiuje się jako potencjał chemiczny składnika *i* ( $\mu_i$ ):

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{T,p,n_j} \tag{15}$$

Po podstawieniu pochodnej cząstkowej ze wzoru (15) do równania (14), otrzymuje się zależność, która przyjmuje następującą postać:

$$dG = \mu_i dn_i \tag{16}$$

Gdzie: dG - zmiana entalpii swobodnej układu,

 $\mu_i$  - potencjał chemiczny składnika *i*,

*dn<sub>i</sub>* - zmiana ilości moli składnika *i*.

Zmiana ilości każdego z pozostałych składników mieszaniny (np. składnika *j*) ma wpływ na całkowitą entalpię swobodną mieszaniny, co można przedstawić za pomocą analogicznej zależności:

$$dG = \mu_j dn_j \tag{17}$$

Dlatego też, przeniesienie dowolnej liczby składników z jednej fazy do drugiej jest sumą wkładów cząstkowych wszystkich składników wchodzących i opuszczających układ:

$$dG = \Sigma \mu_i dn_i \tag{18}$$

W większości technik ekstrakcyjnych proces podziału analitu zachodzi w układzie dwufazowym, składającym się z dwóch niemieszających się faz ( $\alpha$  i  $\beta$ ), stanowiących układ zamknięty, który po upływie dostatecznie długiego czasu osiąga stan równowagi termodynamicznej w wyniku przemieszczania się składników pomiędzy fazami. W stanie równowagi anality przemieszczają się równomiernie pomiędzy fazami zachowując określone, równowagowe, stężenia w tych fazach, wówczas zmiany entalpii swobodnych faz mają taką samą wartość, stąd wypadkowa zmiana entalpii swobodnej wynosi zero, zgodnie z równaniem:

$$dG = dG^{\beta} + dG^{\alpha} = (\mu_i^{\beta} + \mu_i^{\alpha})dn_i = 0$$
(19)

Gdzie: dG - zmiana entalpii swobodnej układu,

 $dG^{\beta}$  - zmiana entalpii swobodnej w fazie  $\beta$ ,

 $dG^{\alpha}$  - zmiana entalpii swobodnej w fazie  $\alpha$ ,

 $\mu_i^{\beta}$  - potencjał chemiczny składnika *i* w fazie  $\beta$ ,

 $\mu_i^{\alpha}$  - potencjał chemiczny składnika *i* w fazie  $\alpha$ ,

*dn<sub>i</sub>* - zmiana ilości moli składnika *i*.

Wielkość potencjału chemicznego zależy od stopnia rozcieńczenia (entropii rozcieńczenia) czyli stężenia analitu, oraz od termodynamicznego powinowactwa analitu do danej fazy, czyli intensywności oddziaływań analitu z tą fazą, co można opisać za pomocą wartości liczbowej standardowego potencjału chemicznego analitu *i* ( $\mu_i^0$ ). Wielkość potencjału chemicznego analitu *i* można wiec przedstawić za pomocą następującej zależności:

$$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln C_i \tag{20}$$

Gdzie:  $\mu_i$  - potencjał chemiczny analitu *i*,

 $\mu_i^0$  - standardowy potencjał chemiczny analitu *i*,

R - stała gazowa,

T-temperatura,

 $C_i$  - stężenie analitu *i*.

W układzie dwufazowym składającym się z faz  $\alpha$  i  $\beta$  siłą napędową procesu przenoszenia masy (przejścia analitu z jednej fazy do drugiej), jest zatem różnica potencjałów chemicznych analitu w fazie  $\alpha$  i w fazie  $\beta$ , spowodowana różną siłą oddziaływań chemicznych analitu z tymi fazami jak i różnym stopniem rozcieńczenia (stężenia) analitu w obydwu fazach. W warunkach stałej temperatury i stałego ciśnienia osiągnięcie stanu równowagi oznacza więc zrównanie potencjałów chemicznych analitu *i* w fazie  $\alpha$  i fazie  $\beta$  ( $\mu_i^{\beta} = \mu_i^{\alpha}$ ), co można opisać równaniem umożliwiającym obliczenie wartości liczbowej współczynnika podziału analitu *i* między obie fazy ( $K_{\beta-\alpha}$ ):

$$\left(\frac{C_i^{\beta}}{C_i^{\alpha}}\right)_{eq} = \exp\left(\frac{-\Delta\mu_i^0}{RT}\right) = K_{\beta-\alpha}$$
<sup>(21)</sup>

Gdzie:  $C_i^{\beta}$  - stężenie analitu *i* w fazie  $\beta$ ,

 $C_i^{\alpha}$  - stężenie analitu *i* w fazie  $\alpha$ ,

 $\Delta \mu_i^0$  - różnica standardowych potencjałów chemicznych analitu *i* w obydwu fazach

$$\Delta \mu_i^0 = \mu_i^{0\beta} - \mu_i^{0\alpha}$$

R - stała gazowa,

T - temperatura,

 $K_{\beta-\alpha}$  - współczynnik podziału analitu *i* między fazy  $\alpha$  i  $\beta$ .

Jeżeli założy się, że całkowitą zmianę entalpii swobodnej układu reprezentuje różnica standardowych potencjałów chemicznych w układzie, to:

$$K = \exp\left(\frac{-\Delta G^0}{RT}\right) \tag{22}$$

Gdzie: K - współczynnik podziału analitu,

 $\Delta G^0$  - całkowita zmiana entalpii swobodnej układu,

*R* - stała gazowa,

*T* - temperatura.

Przekształcając równanie (22) uzyskuje się zależność:

$$-\Delta G^0 = RT\ln K \tag{23}$$

Gdzie:  $\Delta G^0$  - całkowita zmiana entalpii swobodnej układu,

- *R* stała gazowa,
- T temperatura
- K współczynnik podziału analitu.

Zgodnie z II zasadą termodynamiki, na entalpię swobodną układu ( $\Delta G^0$ ) składa się zmiana entalpii układu ( $\Delta H^0$ ), stanowiąca wkład energetyczny do entalpii swobodnej, jak i zmiana entropii układu ( $\Delta S^0$ ):

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 \tag{24}$$

Gdzie:  $\Delta G^0$  - całkowita zmiana entalpii swobodnej układu,

 ${\it T}$  - temperatura

- $\Delta H^0$  zmiana entalpii układu,
- $\Delta S^0$  zmiana entropii układu.

Po podstawieniu zależności (24) do równania (23) otrzymuje się ogólne równanie wiążące równowagowy współczynnik podziału (*K*), z entalpią i entropią procesu:

$$\ln K = -\left(\frac{\Delta H^0}{RT} - \frac{\Delta S^0}{R}\right) \tag{25}$$

- Gdzie: K współczynnik podziału analitu,
  - $\Delta H^0$  zmiana entalpii układu,
  - $\Delta S^0$  zmiana entropii układu
  - *R* stała gazowa,
  - *T* temperatura.

Równowagowy współczynnik podziału (*K*), jest zatem wypadkową dwóch udziałów: entalpowego i entropowego. Przy małym udziale czynnika entropowego ( $\Delta S/R$ ), wraz ze zmianą temperatury następuje wyraźna zmiana entalpii układu- taki przypadek ma miejsce podczas procesów ekstrakcji analitów z wykorzystaniem technik opartych o podział analitu między fazy układu, gdzie energia oddziaływań fizykochemicznych analitu z fazą odgrywa decydującą rolę w procesie ekstrakcji analitu. W przypadku, gdy udział czynnika entropowego ( $\Delta S/R$ ) jest zdecydowanie większy, wpływ zmian temperatury na czynnik entalpowy jest mniej wyraźny, efekt ten dostrzegalny jest m.in. w procesach ekstrakcji analitów opartych o zjawisko adsorpcji, gdzie dochodzi do gwałtownych zmian w strukturze uporządkowania układu.

W przypadku techniki SPME mechanizm sorpcji analitów na włóknie ekstrakcyjnym jest różny w zależności od budowy molekularnej medium ekstrakcyjnego, określającej rodzaj oddziaływań międzycząsteczkowych decydujących o selektywności wobec konkretnych analitów. Istotne znaczenie ma również budowa mikro- i makroskopowa medium ekstrakcyjnego określająca mechaniczne parametry separacji (opory, wymianę masy i in.). Różnica pomiędzy adsorpcją a podziałem związana jest też z miejscem, w którym dochodzi do zmiany stężenia ekstrahowanego analitu. Dla sorbentów ciekłych lub psuedociekłych (unieruchomionych cieczy o dużej gęstości przypominających sprężyste ciała stałe i woski) proces ekstrakcji analitów odbywa się według mechanizmu podziałowego, anality rozpuszczają się w całej objętości czynnika ekstrakcyjnego. Natomiast w przypadku zastosowania adsorbentów, proces zatrzymania analitów na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME oparty jest na oddziaływaniach specyficznych i odbywa się według mechanizmu adsorpcji, sorpcja analitów zachodzi tylko na powierzchni adsorbentu- w jego porach lub na miejscach aktywnych.

Ze względu na dużą objętość próbki w stosunku do ilości analitu, oraz ze względu na duże powinowactwo składników matrycy do adsorbentu osadzonego na włóknie urządzenia do SPME można spodziewać się istotnego wpływu matrycy na przebieg procesu izolacji analitów, a tym samym na wynik oznaczeń końcowych [74,75]. Możliwe staje się też niekorzystne zjawisko konkurowania

analitów i składników matrycy o miejsca aktywne adsorbentu a także nieodwracalna adsorpcja związków o dużej masie cząsteczkowej [76]. Ponadto silne związanie analitów z materiałem ekstrakcyjnym może skutkować niekompletną desorpcją analitów z włókna ekstrakcyjnego, czego skutkiem jest konieczność zastosowania wysokich temperatur przy desorpcji mniej lotnych związków, co może prowadzić do ich rozkładu lub powstawania artefaktów na skutek katalitycznego działania adsorbentu, co może utrudnić czy nawet uniemożliwić otrzymywanie rzetelnych wyników oznaczania związków obecnych w próbce. W celu wyeliminowania problemów wynikających ze stosowania adsorbentów posiadających centra aktywne, jako fazy ekstrakcyjne w technice SPME wprowadzono sorbenty polimerowe posiadające właściwości cieczy oraz polimerowe ciecze jonowe. W przypadku zastosowania tych materiałów proces ekstrakcji analitów za pomocą techniki SPME opiera się na wykorzystaniu mechanizmu podziału analitu między próbkę i fazę ekstrakcyjną.

#### 3.2. Wpływ temperatury na wartość liczbową współczynnika podziału

Temperatura układu i czas prowadzenia procesu ekstrakcji są podstawowymi parametrami, które umożliwiają sterowanie wydajnością procesu ekstrakcji analitów za pomocą techniki SPME, ponieważ zależy ona bezpośrednio od tych dwóch czynników. Podwyższanie temperatury ekstrakcji skutkuje zwiększeniem transportu analitów z roztworu bądź ciała stałego do fazy nadpowierzchniowej, jednakże zbyt wysoka temperatura może powodować desorpcję analitów z włókna ekstrakcyjnego. Ekstrakcja jest procesem egzotermicznym, z tego też powodu podwyższanie temperatury będzie powodowało zmniejszenie wartości liczbowej współczynnika podziału, skutkując mniejszą ilością analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME [77]. Zależność wartości liczbowej współczynnika podziału od zmiany temperatury (z  $T_0$  do T) można opisać za pomocą następującego równania:

$$K_{e-p} = K_0 \exp\left[-\frac{\Delta H}{R}\left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0}\right)\right]$$
<sup>(26)</sup>

Gdzie:  $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki dla temperatury T,  $K_0$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki dla temperatury  $T_0$ ,  $\Delta H$  - zmiana entalpii molowej układu, R - stała gazowa. Pamiętając o powyższej zależności, temperaturę ekstrakcji analitów dobiera się mając na uwadze również skład badanego medium, lotność ekstrahowanych analitów i ich powinowactwo do składników matrycy próbki. Ogrzewanie próbki badanego medium stosuje się najczęściej w celu podwyższenia szybkości uwalniania analitów do fazy nadpowierzchniowej z próbek stałych, oraz w celu podwyższenia prężności par lotnych analitów nad roztworem badanego medium, ponieważ czas potrzebny do osiągnięcia stanu równowagi jest zwykle krótszy dla analitów pobieranych z fazy nadpowierzchniowej niż bezpośrednio z próbki, co związane jest związane z łatwiejszą dyfuzją analitów w środowisku gazowym [78].

# 3.3. Wpływ dodatku czynnika wysalającego na wartość liczbową współczynnika podziału

Na wydajność procesu ekstrakcji analitów z próbek wodnych za pomocą urządzenia do SPME wpływa również dodatek czynników wysalających. Dodanie niewielkiej ilości czynnika wysalającego do próbki badanego medium (do tego celu najczęściej wykorzystywany jest chlorek sodu lub siarczan sodu) wpływa na podniesienie siły jonowej roztworu, dzięki czemu składniki organiczne stają się mniej rozpuszczalne, rosną wartości liczbowe współczynnika podziału, co skutkuje większą ilością analitu zatrzymaną na włóknie ekstrakcyjnym. Dodatek czynnika wysalającego prowadzi do hydratacji jonów soli nieorganicznej, przez co cząsteczki wody stają się mniej dostępne dla związków organicznych, ruch cząsteczek związków organicznych zostaje utrudniony, co prowadzi do zmniejszenia ich rozpuszczalności. Dodatek czynnika wysalającego może jednak przyczynić się do zwiększenia ryzyka zanieczyszczenia próbki badanego medium i obniżenia selektywności procesu ekstrakcji analitów, konieczne jest również dokładne przemywanie włókna urządzenia do SPME każdorazowo po przeprowadzonej ekstrakcji, gdyż staje się ono dużo bardziej wrażliwe na uszkodzenia mechaniczne [78,79]. Efekt wysalania analitów został opisany dla procesu ekstrakcji analitów w układzie ciecz-ciecz za pomocą równania Setchenowa:

$$K_{e-p} = K_0 e^{k_s C_s} = K_0 \left[ 1 + k_s C_s + \frac{(k_s C_s)^2}{2!} + \frac{(k_s C_s)^3}{3!} + \dots \right]$$
(27)

Gdzie:  $K_{e-p}$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki przy dodatku soli,  $K_0$ - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki bez dodatku soli,  $k_s$ - stała Setchenowa,

 $C_s$  - stężenie czynnika wysalającego.

## 3.4. Wpływ zmiany pH próbki na wartość liczbową współczynnika podziału oraz efekt matrycowy

Również kwasowość/zasadowość badanego medium ma wpływ na wydajność procesu ekstrakcji analitów za pomocą urządzenia do SPME [80,81]. Wartość pH badanej próbki jest szczególnie istotna w przypadku słabo kwasowych i słabo zasadowych związków, ponieważ powinny być one utrzymane w niezdysocjowanej formie [73]. Wpływ pH próbki na zmianę wartości liczbowej współczynnika podziału dla analitów zdolnych do dysocjacji można opisać za pomocą następującej zależności:

$$K_{e-p} = K_0 \frac{[\mathrm{H}^+]}{K_a + [\mathrm{H}^+]}$$
<sup>(28)</sup>

Gdzie: K<sub>e-p</sub> - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki,

 $K_0$ - współczynnik podziału formy niezdysocjowanej analitu pomiędzy fazę ekstrahenta i próbki  $K_a$ - stała kwasowości analitu zdolnego do dysocjacji.

Dla analitów kwasowych pH badanej próbki powinno mieć wartość co najmniej o dwie jednostki mniejszą niż pK<sub>a</sub> analitu, natomiast dla zasadowych analitów- pH próbki powinno mieć wartość o dwie jednostki większą niż pK<sub>b</sub> analitu. Kwasowość badanego medium jest również istotnym parametrem w kontekście wytrzymałości powłoki ekstrakcyjnej, ponieważ niektóre materiały sorpcyjne w środowiskach silnie zasadowych lub silnie kwasowych mogą ulegać uszkodzeniu.

W doniesieniach literaturowych można odnaleźć także informacje o tym, że obecność niektórych związków w próbce badanego medium może niekorzystnie wpływać na wydajność procesu ekstrakcji analitów. Obniżenie wydajności ekstrakcji obserwowano w przypadku obecności:

- hydrofobowych związków o dobrych właściwościach sorpcyjnych [78],
- organicznych rozpuszczalników w badanych próbkach wody,
- wody w mediach organicznych (w tym kontekście również wilgoć zawarta w powietrzu może interferować w procesie ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej).

Z drugiej jednak strony dodatek hydrofobowego rozpuszczalnika skutkuje zwiększeniem dyfuzji analitu z próbki do powłoki ekstrakcyjnej, jednakże efekt ten obserwowano tylko w przypadku próbek stałych jakich jak próbki osadów i szlamów [51].

Na wydajność procesu ekstrakcji analitów za pomocą urządzenia do SPME mają wpływ również inne składniki, które mogą być obecne w próbce badanego medium. Przykładem takich związków mogą być kwasy humusowe (huminowe i fulwowe), które obecne w próbkach wody i gleby w wyniku reakcji z rozpuszczoną materią organiczną mogą prowadzić do zmniejszenia ilości analitu zatrzymanego na włóknie ekstrakcyjnym [73].

#### 3.5. Proces konwersji chemicznej analitów

Wysoka wydajność procesu ekstrakcji analitów wykonywanej z wykorzystaniem urządzenia do SPME jest szczególnie pożądana w przypadku izolacji/wzbogacania analitów obecnych w próbkach w ilościach śladowych, oraz w przypadku ekstrakcji analitów z próbek charakteryzujących się złożonym składem matrycy. W przypadku takich zastosowań pomocne może okazać się przeprowadzenie procesu chemicznej konwersji analitów w ich pochodne o innej strukturze chemicznej i właściwościach [77,82]. Proces derywatyzacji analitów czyli ich konwersji chemicznej przeprowadza się na różnych etapach techniki ekstrakcyjnej- przed procesem ekstrakcji, w czasie jej trwania lub w trakcie procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego [83,84] (Rysunek 2).



Rysunek 2. Możliwości prowadzenia procesów derywatyzacji przeprowadzanych na różnych etapach procesu ekstrakcji analitów za pomocą techniki SPME.

Największe możliwości stwarza proces konwersji chemicznej analitów przeprowadzany bezpośrednio na włóknie ekstrakcyjnym, ponieważ unika się w ten sposób reakcji ubocznych, które mogą nastąpić przy obróbce chemicznej analitów w roztworze. W tym przypadku czynnik derywatyzujący wprowadzany jest na włókno urządzenia do SPME poprzez umieszczenie włókna w oparach lub zanurzenie w roztworze czynnika derywatyzującego. Proces konwersji chemicznej analitów przeprowadza się po procesie ekstrakcji, gdy anality są zaadsorbowane na włóknie lub czynnik derywatyzujący wprowadzany jest na włókno przed procesem ekstrakcji, w tym przypadku konwersja analitów odbywa się równocześnie z procesem ekstrakcji. Konwersję chemiczną analitów z równoczesnym procesem zatrzymywania analitów na włóknie urządzenia do SPME wykorzystuje się w badaniu składu próbek środowiskowych [85-87], żywności [88], oraz próbek materiałów biologicznych [89-93]. Najczęściej konwersji chemicznej poddaje się polarne i niestabilne termicznie anality, w celu polepszenia ich właściwości, istotnych z punktu widzenia powodzenia procesu rozdzielania chromatograficznego.

W procesach konwersji chemicznej analitów najczęściej wykorzystuje się następujące reakcje:

- estryfikacje mocno kwasowych związków [94,95],
- przekształcenie amin i amfetamin w mniej polarne i bardziej lotne pochodne [96,97],
- konwersje chemiczne aldehydów i ketonów w bardziej stabilne oksymy [98,99],
- przekształcenie fenoli w octany [100],
- konwersje związków metaloorganicznych w bardziej lotne pochodne [101,102].

Proces konwersji chemicznej analitów zapewnienia także możliwość przekształcenia analitów w ich pochodne łatwiejsze do ekstrakcji, np. pochodne bardziej lotne czy o większej stabilności termicznej, co skutkuje podwyższeniem selektywności i wydajności procesu ekstrakcji analitów.

#### 3.6. Kinetyka procesu ekstrakcji

Zagadnienie kinetyki procesu ekstrakcji analitów ściśle związane jest z szybkością procesu przenoszenia wybranych składników z próbki do fazy ekstrakcyjnej, czyli ilością analitu zaabsorbowaną przez daną objętość czynnika ekstrakcyjnego w funkcji czasu. Przebieg procesu sorpcji analitu w czynniku ekstrakcyjnym można przedstawić za pomocą wykresu zależności ilości wyekstrahowanego analitu w funkcji czasu (Rysunek 3.).

Przedstawiony profil sorpcji analitu w funkcji czasu w przypadku zastosowania ciekłych ekstrahentów lub czynników ekstrakcyjnych w formie pseudocieczy przebiega w taki sam sposób dla każdego stężenia analitu i dowolnej wartości liczbowej współczynnika podziału, przy założeniach:

- stałe stężenie analitu w próbce, równe stężeniu początkowemu (zapewnione dzięki zastosowaniu odpowiednio dużej objętości próbki),
- idealne mieszanie próbki.

W takich warunkach szybkość absorpcji określona jest przez szybkość dyfuzji analitu w czynniku ekstrakcyjnym (strumień molowy składnika przepływający przez jednostkowy przekrój warstwy dyfuzyjnej w jednostce czasu), którą można opisać za pomocą równania dyfuzji Ficka dotyczącego transportu masy podczas dyfuzji składnika, wywołanej różnicą jego stężeń w fazach układu. W równaniu tym współczynnik dyfuzji (D) charakteryzuje wielkość strumienia molowego dla jednostkowego gradientu stężenia i zależy od temperatury, stężenia roztworu, właściwości składnika i czynnika ekstrakcyjnego.

$$J = -D\frac{\Delta C}{r} \tag{29}$$

Gdzie: J - szybkość dyfuzji składnika,

 $\Delta C$  - różnica stężeń składnika,

r - grubość warstwy dyfuzyjnej,

D - współczynnik dyfuzji analitu.



Rysunek 3. Zależność ilości wyekstrahowanego analitu w danej objętości czynnika ekstrakcyjnego w funkcji czasu. A- liniowy przebieg zależności, B- nieliniowy przebieg równowagi, C-stan równowagi.

Przyrost masy analitu zaabsorbowanego na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME jest największy zaraz po zanurzeniu włókna w próbce (liniowy charakter zależności ilości wyekstrahowanego analitu w funkcji czasu) (Rysunek 3. A), następnie przyrost masy jest coraz wolniejszy, by w końcu osiągnąć warunki równowagowe (Rysunek 3. C). Zazwyczaj ekstrakcję uważa się ilościową, jeżeli wydajność procesu czyli stosunek ilości wyekstrahowanego analitu do ilości analitu w próbce pierwotnej przekracza 95%, w tym przypadku czas prowadzenia procesu ekstrakcji można opisać, korzystając z następującego wzoru:

$$t_{95\%} = \frac{2r^2}{D_e}$$
(30)

Gdzie: t<sub>5%</sub> - czas procesu ekstrakcji przy wydajności procesu na poziomie 95%,

r - promień powłoki ekstrakcyjnej na włóknie SPME (grubość pokrycia ekstrakcyjnego),

D<sub>e</sub> - współczynnik dyfuzji analitu w czynniku ekstrakcyjnym.

Jednakże w warunkach rzeczywistych utrzymanie idealnego mieszania możliwe jest tylko w strumieniu przepływającej próbki, natomiast mieszanie próbki za pomocą mieszadła magnetycznego powoduje powstawanie wokół włókna ekstrakcyjnego cienkiej, nieruchomej warstewki próbki, w której nie zachodzi konwekcja próbki wywołana mieszaniem. Warstwa ta tworzy barierę dyfuzyjną dla ekstrahowanych analitów i nazywana jest warstwą graniczną *Prandtl'a*.

Warstwa graniczna charakteryzuje się określoną grubością ( $\delta$ ), zależną od lepkości próbki i warunków mieszania (szybkości konwekcji), warstwę graniczną charakteryzuje także współczynnik dyfuzji analitu, dlatego w tym samym procesie ekstrakcji grubość warstwy dyfuzyjnej będzie inna dla każdego analitu. Przyjmuje się, że strumień analitu w próbce (poza warstwą graniczną) jest kontrolowany przez konwekcję, natomiast wewnątrz warstwy granicznej jest on kontrolowany przez dyfuzję. Warstwa graniczna jest zatem obszarem, w którym strumień analitu jest bardziej zależny od dyfuzji analitu niż od konwekcji.

Strumień analitu przez warstwę graniczną do fazy ekstrakcyjnej jest równy strumieniowi analitu z próbki do warstwy granicznej. Powstanie warstwy granicznej wokół włókna ekstrakcyjnego skutkuje niższym gradientem stężeń i mniejszym transportem masy na powierzchni fazy ekstrakcyjnej, z upływem czasu anality dyfundują w głąb fazy ekstrakcyjnej, by w końcu osiągnąć stan równowagi. W przypadku, kiedy w obliczeniach uwzględni się występowanie warstwy granicznej, równie (30), przyjmuje postać:

$$t_{95\%} = \frac{3\delta K_{e-p}r}{D_p} \tag{31}$$

Gdzie: t95% - czas procesu ekstrakcji przy wydajności procesu na poziomie 95%,

δ - grubość warstwy granicznej,

 $K_{e-p}$  - współczynnik podziału analitu pomiędzy fazę ekstrakcyjną i próbkę,

r - promień powłoki ekstrakcyjnej na włóknie SPME (grubość pokrycia ekstrakcyjnego),

*D*<sub>p</sub> - współczynnik dyfuzji analitu w próbce.

Grubość warstwy granicznej zależy od umiejscowienia włókna w próbce, dlatego zalecane jest umieszczenie włókna urządzenia do SPME w strefie idealnego mieszania, grubość warstwy granicznej jest również ściśle związana z szybkością i sposobem mieszania próbki. Zastosowanie intensywnego mieszania skutkuje zmniejszeniem grubości warstwy granicznej a także zwiększeniem szybkości transportu masy w układzie, co znacznie wpływa na skrócenie czasu potrzebnego do osiągnięcia stanu równowagi. Mieszanie próbki można przeprowadzić za pomocą następujących sposobów:

- mieszanie z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego,
- wytrząsanie badanej próbki,
- zastosowanie systemu zapewniającego wibrację igły urządzenia do SPME [78,103],
- mieszanie za pomocą ultradźwięków [104].

Ostatni sposób mieszania wydaje się być najbardziej efektywny, jednakże mieszanie za pomocą ultradźwięków nie może być zastosowane w przypadku ekstrakcji analitów bardzo wrażliwych na podwyższone temperatury, ponieważ w wyniku tego sposobu mieszana próbka ulega podgrzaniu [105,106].

# 4. Sorbenty stosowane jako fazy ekstrakcyjne w technice SPME

Dobór właściwego czynnika ekstrakcyjnego stosowanego do pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME jest niezmiernie ważny, ponieważ rodzaj i ilość zastosowanej fazy stacjonarnej wpływa na selektywność i wydajność procesu ekstrakcji analitów. Wybór materiału ekstrakcyjnego opiera się na zasadzie, że sorbenty polarne o dużej stałej dielektrycznej wykazują wysokie powinowactwo do związków hydrofilowych, zawierających w swej budowie polarne grupy (hydroksylowe, aminowe, karboksylowe), natomiast sorbenty niepolarne wykazują powinowactwo do analitów niepolarnych (hydrofobowych związków organicznych), których cząsteczki zbudowane są głównie z łańcuchów czy pierścieni węglowodorowych. Biorąc pod uwagę fakt, że liczba handlowo dostępnych pokryć ekstrakcyjnych jest ograniczona, powstała potrzeba syntezy nowych materiałów sorpcyjnych, które mogą być zastosowane jako czynniki ekstrakcyjne w technice SPME.

Nowe rozwiązania metodyczne oraz osiągnięcia w zakresie chemii polimerów i inżynierii materiałowej przyczyniły się wprowadzenia nowych klas sorbentów polimerowych szeroko wykorzystywanych do pokrycia włókna urządzenia do SPME. Adsorbenty polimerowe, będące najczęściej usieciowanymi kopolimerami charakteryzującymi się rozwiniętą powierzchną wewnętrzną zostały wprowadzone w celu wyeliminowania problemów wynikających ze stosowania adsorbentów węglowych i adsorbentów, które wykazują właściwości katalityczne. Sorbenty polimerowe mogą wykorzystywać oddziaływania niespecyficzne (głównie dyspersyjne), oraz różnego rodzaju oddziaływania specyficzne, wynikające z obecności grup funkcyjnych, umożliwiających tworzenie wiązań wodorowych czy jonowych. Mimo że opisywane w literaturze procedury otrzymywania nowych sorbentów są skomplikowane i trudne do odtworzenia, wzrasta liczba publikacji poświęconych nowym metodom przygotowania włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME i możliwościom ich zastosowania [107-109].

Nowe sorbenty wytwarzane na potrzeby techniki SPME charakteryzują się:

- wysokim powinowactwem do analitów,
- niską ceną,
- rozwiniętą powierzchnią wewnętrzną,
- szerokimi możliwościami modyfikacji struktury wewnętrznej lub powierzchni,
- dobrymi właściwościami mechanicznymi, dużą odpornością termiczną i odpornością chemiczną.

Sposób osadzania powłoki ekstrakcyjnej na rdzeniu urządzenia do SPME różni się w zależności od rodzaju zastosowanego materiału sorpcyjnego i może wpływać na trwałość pokrycia włókna ekstrakcyjnego. Najprostszą techniką osadzania medium ekstrakcyjnego jest zanurzanie rdzenia w roztworze stopionego polimeru a następnie termicznej obróbce włókna wykonywaną w celu nadania stabilności powłoce. Metoda ta jest szybka i bardzo wygodna, jednakże powstające w taki sposób powłoki ekstrakcyjne charakteryzują się nieregularną strukturą i niejednolitą grubością filmu sorbentu.

#### 4.1. Fazy ekstrakcyjne dostępne handlowo

Osiągnięcie wysokiej wydajności ekstrakcji analitów za pomocą techniki SPME w dużym stopniu zależy od rodzaju zastosowanego materiału sorpcyjnego, jednakże liczba standardowych włókien ekstrakcyjnych dostępnych handlowo jest ograniczona, dostępne włókna ekstrakcyjne są kombinacją pięciu sorbentów:

- polidimetylosiloksanu (PDMS),
- diwinylobenzenu (DVB),
- poliakrylu (PA),
- *carboxenu* (CAR),
- glikolu polietylenowego (PEG/CW) [110].

Pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME, które są kombinacją wymienionych materiałów sorpcyjnych takie jak: PDMS/DVB, PDMS/CAR, CW/DVB dzięki połączeniu polarnych i niepolarnych materiałów wykazują wysoką wydajność i selektywność procesu ekstrakcji analitów z próbek o złożonym składzie takich jak próbki środowiskowe, biologiczne czy próbki żywności [111], jednakże standardowe włókna ekstrakcyjne nie zawsze spełniają oczekiwania w przypadku specyficznych zastosowań takich jak ekstrakcja polarnych analitów z mediów o polarnym charakterze. Włókna ekstrakcyjne dostępne handlowo charakteryzują się również niską wytrzymałością mechaniczną, niską wytrzymałością w rozpuszczalnikach organicznych i mediach o silnie zasadowym pH oraz dużą zawartością środków sieciujących i innych związków uwalnianych w trakcie desorpcji termicznej analitów przeszkadzających w dokonywaniu oznaczeń końcowych analitów zawartych w próbce. Informacje literaturowe o obszarze wykorzystania włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME dostępnych w handlu zestawiono w tabeli 2.

Analit	Pokrycie ekstrakcyjne	Technika oznaczeń końcowych	Odnośnik literaturowy
	PDMS	GC/HPLC	[112]
Lotne związki organiczne, węglowodory aromatyczne, chlorobenzeny	PDMS/DVB		[113,111]
	CAR/PDMS	GC	[114]
	CW/DVB		[111]
	PDMS	GC/HPLC	[115,116]
Pestycydy, triazyny, herbicydy	PA	00	[115,117,118]
	CW/DVB	90	[115,119]

Tabela 2. Informacje o zakresie zastosowania włókien ekstrakcyjnych dostępnych w handlu

Tabela 2. cd
--------------

	PDMS	GC/HPLC	[120,121]
Policykliczne węglowodory aromatyczne	PDMS/DVB	<u> </u>	[221]
	CAR/PDMS	GC	[121]
Polichlorowane bifenyle	PDMS	GC/HPLC	[122]
Fenole	PA	HPLC	[123,124]
	PDMS/DVB	<u> </u>	[125]
Węglowodory i aminy aromatyczne, ketony, alkohole, aldehydy, terpeny	CW/DVB	00	[126]
	CW	HPLC	[126]
Metale: arsen, selen, antymon, cyna	CAR/PDMS	ICP	[127]

#### 4.2. Polimery przewodzące

Materiały polimerowe przewodzące prąd elektryczny budzą zainteresowanie przede wszystkim elektrochemików, którzy wykorzystują je jako przewodniki elektryczne i materiały elektrochemicznych, czujników, diod polimerowych, do budowv ogniw wyświetlaczy elektrochromowych, pokryć antystatycznych itp., materiały te znalazły zastosowanie również jako sorbenty wykorzystywane do pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME. Polimery przewodzące można stosunkowo łatwo uzyskać na drodze syntezy chemicznej lub elektrochemicznej z monomerów dostępnych komercyjnie [128]. Najczęściej stosowanym polimerem przewodzącym, wykorzystywanym w technice SPME w roli sorbentu jest polipirol (PPY) i jego pochodne [129] oraz polianilina (PANI) [130]. Polimery należące do grupy polipiroli wykazują dużą adhezję do metalowego rdzenia włókna urządzenia do SPME wykonanego z platyny, złota lub stali nierdzewnej, dzięki czemu wytrzymałość mechaniczna przygotowanych włókien ekstrakcyjnych jest bardzo wysoka. Materiały te mają jednak istotne ograniczenie, są niestabilne powyżej 200°C [131].

Włókna urządzenia do SPME, w których jako fazę ekstrakcyjną zastosowano polimery przewodzące stosuje się do wydajnej ekstrakcji związków polarnych i aromatycznych [128,129,132], analitów z grupy lotnych związków organicznych [129], fenoli [129] oraz pochodnych amfetaminy [133]. Do grupy polimerów przewodzących wykorzystywanych do pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME należą również polimery o przewodnictwie opartym na mechanizmach utleniania i redukcji, zwierające grupy funkcyjne, które mogą być odwracalnie redukowane i utlenianie, włókna te wykorzystano do pobierania próbek jonów niklu(II) i kadmu (II) obecnych w badanych próbkach w ilościach śladowych [134,135].

Do osadzania warstwy filmu polimeru przewodzącego na powierzchni rdzenia urządzenia do SPME wykorzystywane są najczęściej metody elektrochemiczne- techniki woltamperometrii cyklicznej lub techniki potencjometryczne, zapewniające możliwość pokrycia cienką, jednorodną warstwą sorbenta dowolnego rdzenia urządzenia do SPME najczęściej wykonanego z metalu, ale także rdzeni o nieregularnej czy porowatej powierzchni. W doniesieniach literaturowych można odnaleźć informacje o wykorzystaniu następujących materiałów do pokrycia włókna urządzenia do SPME za pomocą technik elektrochemicznych:

- polipirol i jego pochodne [137,136],
- politiofen [137,138],
- polianilina [136,139].

Włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME, których pokrycia uzyskano za pomocą technik elektrochemicznych charakteryzują się dużą regularnością powierzchni i umożliwiają przeprowadzenie procesu ekstrakcji analitów nieaktywnych w reakcjach elektrochemicznych [137].

#### 4.3. Polimery z nadrukiem cząsteczkowym

Jako fazy sorpcyjne do pokrycia włókna urządzenia do SPME zastosowanie znalazły również materiały ekstrakcyjne charakteryzujące się dużą selektywnością w stosunku do określonych grup analitów i powinowactwem do jednego rodzaju struktury. Materiały te znane są pod nazwą polimery z nadrukiem cząsteczkowym (MIP) i otrzymane zostały po raz pierwszy już w roku 1972 [140]. Sorbenty te to stabilne termicznie, usieciowane polimery, które zawdzięczają swoje specyficzne właściwości i charakterystyczną budowę sposobowi ich otrzymywania. Polimery typu MIP otrzymuje się w wyniku oddziaływań między grupami funkcyjnymi monomerów z cząsteczkami wzorca w mieszaninie reakcyjnej. Wskutek tego oddziaływania monomery zajmują określone miejsca wokół cząsteczki wzorca tworząc kompleksy [monomery-cząsteczka wzorca], unieruchomione w sieci polimerowej w wyniku sieciowania wokół tych kompleksów. Po zakończeniu polimeryzacji cząsteczki wzorca wymywa się z wykorzystaniem odpowiednich rozpuszczalników, czego konsekwencją jest obecność charakterystycznych ugrupowań oraz pozostawienie w strukturze polimeru nadruków o określonym kształcie i rozmiarze. Dzięki obecności nadruku cząsteczkowego materiał posiada selektywność i właściwości sorpcyjne tylko dla zwiazków o takiej samej lub analogicznej budowie do budowy cząsteczki wzorca. Schemat syntezy polimerów z nadrukiem cząsteczkowym przedstawiono na Rysunku 4.



Rysunek 4. Schemat syntezy polimerów z nadrukiem molekularnym.

Do syntezy polimerów z nadrukiem cząsteczkowym wykorzystuje się następujące komponenty:

- monomery funkcyjne- najczęściej stosowane są monomery kwasu metakrylowego,
- rozpuszczalniki- najczęściej wykorzystywane do tego celu są rozpuszczalniki o niskiej stałej dielektrycznej sprzyjające stabilizacji wiązań wodorowych między monomerami i cząsteczkami wzorca, które dodatkowo spełniają funkcję środka porogennego [141],
- czynnik sieciujący- najczęściej stosowany czynnik sieciujący to dimetakrylan glikolu etylenowego, który dostarcza syntezowanemu polimerowi mechanicznej i termicznej stabilności, trwałości kształtu odcisków molekularnych oraz odpowiedniej elastyczności [142].

Związanie cząsteczek wzorca z monomerami funkcyjnymi może mieć dwojaki charakter-

kowalencyjny (nieodwracalny) lub niekowalencyjny (odwracalny), parametry charakteryzujące obie techniki otrzymywania materiałów polimerowych z nadrukiem molekularnym zestawiono w tabeli 3.

	RODZAJ WIĄZAŃ MIĘDZY CZĄSTECZKAMI WZORCA I MONOMERAMI FUNKCYJNYMI	
	kowalencyjne	niekowalencyjne
Synteza kompleksu monomery-cząsteczka wzorca	niezbędna	niekonieczna
Wybór warunków polimeryzacji	swobodny	ściśle określony
Szybkość wiązania wzorca z grupami funkcyjnymi	wolno	szybko
Usunięcie cząsteczek wzorca po polimeryzacji	trudne	łatwe
Struktura grup funkcyjnych w polimerze	uporządkowana	mniej uporządkowana
Materiały polimerowe z odwzorowaniem cząsteczkowym otrzymuje się z wykorzystaniem różnych technik sieciowania polimeru (polimeryzacji w masie [143,144], polimeryzacji zawiesinowej i emulsyjnej [143-146] czy procesów dwu-stopniowego spęczniania [144,147]), które umożliwiają otrzymanie polimerów w formie nieregularnego ziarna sorbentu, porowatej membrany czy struktury monolitycznej [148,149]. Największą zaletą materiałów polimerowych typu MIP jest ich wysoka selektywność do określonych grup związków [150], stabilność w całym zakresie pH [151,152], niska cena a także możliwość wpływania na właściwości polimeru poprzez zmianę składu mieszaniny reakcyjnej i warunków przeprowadzania polimeryzacji. Ograniczeniem jest natomiast możliwość wydzielania monomerów w czasie desorpcji termicznej analitów zaabsorbowanych na włóknie oraz możliwość deformacji wewnętrznej struktury polimeru w wyniku przegrupowania łańcuchów polimerowych w kontakcie włókna ekstrakcyjnego z niektórymi mediami organicznymi [142].

W pierwszych doniesieniach literaturowych dotyczących otrzymywania materiałów z nadrukiem cząsteczkowym wskazywano na możliwość ich zastosowania jako sorbentów w technice SPE [141-151], obecnie materiały te syntezowane są także w celu pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME i wykorzystywane do pobierania próbek pestycydów [153], triazyn [154,155], fenoli i farmaceutyków [156,157] i wielu innych grup związków z próbek o złożonym składzie matrycy, takich jak próbki środowiskowe [155,158,159], próbki krwi [160,161,162], moczu [163], czy próbki żywności [164].

#### 4.4. Immunosorbenty

W celu poniesienia wydajności ekstrakcji analitów z próbek biologicznych charakteryzujących się złożonym składem matrycy jako materiały sorpcyjne w technikach ekstrakcyjnych (najczęściej w technice SPE [165-168]) wykorzystuje się również materiały zwane immunosorbentami, które otrzymuje się w wyniku związania naturalnych przeciwciał ze stałym podłożem. Materiały te wykazują powinowactwo immunologiczne dzięki obecności przeciwciał, które z wysoką selektywnością rozpoznają swoje dopełniające antygeny, nawet w obecności związków o bardzo podobnej strukturze. Przeciwciała osadza się na hydrofilowych podłożach o odpowiedniej porowatości (np. na polimerach krzemowych, agarozowych czy celulozowych), które zawierają reaktywne grupy epoksydowe lub aldehydowe, które wiążą się z grupami funkcyjnymi przeciwciał. Podłoże poddaje się najczęściej wstępnej reakcji z 3-aminopropylotrietyloksysilanem (APTES), a następnie aktywuje za pomocą aldehydu glutarowego. Na tak przygotowanym podłożu unieruchamia się przeciwciała [169]. Schemat procesu unieruchomienia przeciwciała na podłożu krzemionkowym został przedstawiony na Rysunku 5. Do osadzania przeciwciał na podłożu wykorzystywane są także wiązania niekowalencyjne [170], techniki nadruku cząsteczkowego i techniki zol-żel [171].

Immunosorbety wykorzystywane są również do pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME [169,172]. Włókna w których jako fazę ekstrakcyjną zastosowano immunosorbenty charakteryzują się wysokim powinowactwem immunologicznym zapewniając wysoką wydajność i selektywność ekstrakcji analitów z próbek biologicznych. Ze względu na brak toksyczności i biokompatybilność immunosorbentów z tkankami żywych organizmów, włókna te umożliwiają pobieranie próbek w układach *in-vivo*. Włókna urządzenia do SPME, w których jako fazę ekstrakcyjną zastosowano materiały charakteryzujące się powinowactwem immunologicznym stosuje się głównie do izolacji/wzbogacania analitów z grupy farmaceutyków obecnych w próbkach charakteryzujących się zróżnicowanym składem matrycy takie jak płyny biologiczne [169,173-175]. Badania i procesy syntezy immunosorbentów są jednak bardzo czasochłonne i kosztowne ze względu na złożony proces produkcji przeciwciał, mimo tego materiały charakteryzujące się powinowactwem immunologicznym są coraz częściej wykorzystywane w technikach ekstrakcyjnych oraz jako wypełnienia kolumn chromatograficznych [176,177].



Rysunek 5. Schemat procesu unieruchomienia przeciwciała na podłożu krzemionkowym.

### 4.5. Polimery otrzymywane z wykorzystaniem techniki zol-żel

Technika zol-żel jest uniwersalną, mało kosztowną techniką umożliwiającą otrzymanie polimerów o wysokiej czystości i homogeniczności, zarówno nieorganicznych jak i hybrydowych organiczno- nieorganicznych. Poprzez zmianę składu mieszaniny reakcyjnej i warunków prowadzenia syntezy możliwe staje się nadanie produktom wyjściowym pożądanych właściwości, takich jak:

- odpowiednia struktura wewnętrzna (np. porowatość),
- elastyczność,
- duża odporność chemiczna i fotochemiczna [178,179],
- podwyższona stabilność termiczna [179],
- stabilność w szerokim zakresie pH [180,181].

Proces żelowania przeprowadza się w łagodnych warunkach, w niskiej temperaturze (często pokojowej) i polega on na hydrolizie organicznego prekursora- zwyczaj alkilotlenku metalu M(OR)<sub>x</sub> i następnie alkoholowej lub wodnej kondensacji prekursora. W czasie tych reakcji zachodzi podstawienie grup alkoksylowych grupami hydroksylowymi i częściowa hydroliza powstałych alkoholanów. Podczas kondensacji lepkość mieszaniny wzrasta ponieważ cząsteczki zolu ulegają agregacji, która spowodowana jest formowaniem się wiązań między łańcuchami, czego konsekwencją jest zmiana fizycznej struktury zolu na trójwymiarową sieć - sztywny żel.

Podstawowe składniki mieszaniny reakcyjnej w przypadku stosowania techniki zol-żel to:

- prekursor (najczęściej tetraalkiloksysilany ponieważ łatwo reagują z wodą),
- alkoholowy rozpuszczalnik (czynnik homogenizujący),
- katalizator,
- woda,

W reakcjach syntezy stosuje się też dodatki innych związków, które poddaje się reakcji z grupami hydroksylowymi prekursora lub dodaje się je w czasie formowania żelu [180,181,182]. Proces otrzymywania materiałów polimerowych z wykorzystaniem techniki zol-żel przebiega według schematu przedstawionego na Rysunku 6.

Przy zastosowaniu katalizatorów kwasowych (takich jak kwas triflourooctowy) następuje przyspieszenie etapu hydrolizy lub alkoholizy prekursora, w tych warunkach konwersja cząsteczki prekursora do trialkoksysilanu następuje szybko, co skutkuje otrzymaniem długich, liniowych, słabo usieciowanych polimerów w formie homogenicznego, gęstego żelu z małymi porami. Natomiast zastosowanie katalizatorów zasadowych (takich jak wodorotlenek amonu czy wodorotlenek sodu) powoduje usuwanie grup –OR, co skutkuje niemal zupełną hydrolizą polimeru i przyspieszeniem etapu kondensacji między grupami Si–OH a grupami Si–OR skutkując otrzymaniem polimeru o mocno skondensowanej strukturze i wysokim stopniu usieciowania. Konsekwencją bardzo szybkiego żelowania i zagęszczania jest obecność w strukturze dużej ilości monomerów, które są

usuwane w procesie suszenia, tym nie mniej gotowy polimer posiada ostatecznie bardzo luźną, porowatą strukturę [183]. Podsumowując można stwierdzić, że pomimo złożonego charakteru i czasochłonności procedur opisywanych w literaturze można spodziewać się dalszego rozwoju w tej dziedzinie, szczególnie w zakresie syntezy nowych materiałów i komercjalizacji technik zol-żel.



Rysunek 6. Schemat przebiegu procesu zol-żel.

Materiały polimerowe otrzymywanie z wykorzystaniem techniki zol-żel ze względu na swoją rozwiniętą strukturę wewnętrzną mogą być także wykorzystywane jako wysoko selektywne materiały do pokrycia włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME. Sorbenty uzyskane z wykorzystaniem techniki zol-żel można zastosować do pobierania próbek analitów takich jak: związki polarne [180], polichlorowane bifenyle (PCB) [184], fenole [185,186], aminy aromatyczne [187], związki metaloorganiczne [188], anality z grupy policyklicznych węglowodorów aromatycznych (PAH) [180,189], grupy benzen, toluen, etylobenzen i ksyleny (BTEX), chlorobenzeny [190,191,192], czy pestycydy fosforoorganiczne [193] z próbek wody [194], powietrza, żywności, płynów biologicznych i innych próbek charakteryzujących się złożonym składem matrycy.

Korzystając z techniki zol-żel uzyskano również pokrycia ekstrakcyjne zawierające dodatki:

- alkoholu poliwinylowego (stosowane w ekstrakcji związków PCB [184] i pestycydów [195]),
- fenylotrimetoksysilanu (wykorzystane do pobierania próbek związków niepolarnych [196]),
- związków hydroksyfullerenowych (stosowane do oznaczania związków z grupy PCB, PAH i amin aromatycznych [197]),
- związków oktylotrietyloksysilanowych (wykorzystane do pobierania próbek rtęci i cyny [188]),
- związków kaliks[4]arenowych i eterów koronowych.

W tabeli 4. zestawiono informacje literaturowe o możliwościach wykorzystania włókien ekstrakcyjnych z filmem wykonanym z dodatkiem związków kaliks[4]arenowych i eterów koronowych do pobierania próbek analitów z wykorzystaniem techniki SPME.

Tabela 4. Informacje literaturowe o możliwościach wykorzystania włókien z filmem wykonanym z dodatkiem związków kaliks[4]arenowych i eterów koronowych do pobierania próbek analitów z wykorzystaniem urządzenia do SPME

	RODZAJ POKRYCIA EKSTRAKCYJNEGO		
ANALITY	dodatek związków kaliks[4]arenowych	dodatek eterów koronowych	
fenole	[198] (chlorofenole), [199,200]	[185,190,200]	
aminy aromatyczne	[201,202,203]	[187,190]	
втех	[202]	[190,191]	
pestycydy	[204] (chloroorganiczne)	[193,191,205] (fosforoorganiczne)	
kwasy tłuszczowe	[200]	[200]	

## 4.6. Ciecze jonowe

W ostatnich latach jednym z najchętniej podejmowanych tematów w chemii analitycznej jest wykorzystanie unikalnych właściwości cieczy jonowych w technikach analitycznych, podjęto także próbę zastosowania cieczy jonowych jako uniwersalnych rozpuszczalników w technikach chromatograficznych, elektrochemicznych oraz technikach ekstrakcyjnych [206,207,208]. Właściwościami wyróżniającymi ciecze jonowe wśród szerokiej gamy rozpuszczalników są ich następujące cechy [209,210]:

- bardzo mała prężność par,
- duża lepkość,
- wysoka stabilność termiczna,
- niepalność,
- zdolność rozpuszczania szerokiej gamy organicznych i nieorganicznych związków.

Zdolność do rozpuszczania różnych grup związków organicznych w cieczach jonowych, sprawia że stają się one realną alternatywą dla konwencjonalnych rozpuszczalników stosowanych w technikach ekstrakcji typu ciecz-ciecz. [211]. Ponadto stosując odpowiednią kombinację anionu i kationu, z których zbudowane są ciecze jonowe można uzyskać setki kombinacji struktury cieczy jonowych, charakteryzujących się odmiennymi właściwościami solwatacyjnymi, inną polarnością i właściwościami fizykochemicznymi [212].

Ciecze jonowe wykorzystywane są również jako fazy ekstrakcyjne do pokrycia włókna urządzenia do SPME [213]. Pierwsze próby osadzenia cieczy jonowych na powierzchni włókna ekstrakcyjnego podjęto w 2005 roku [214], jednakże przygotowane włókna nadawały się do jednorazowego użytku, po ekstrakcji rdzeń włókna ekstrakcyjnego należało ponownie pokryć cieczą jonową. Dodatkowo niska wydajność procesu ekstrakcji analitów wynikająca z niewielkiej grubości warstwy sorpcyjnej przemawia na niekorzyść tego rozwiązania. Problem ten udało się częściowo rozwiązać przez naniesienie na powierzchnię rdzenia cienkiej warstwy polimeru o nazwie handlowej *Nafion* a następnie pokrycie go cieczą jonową. Zastosowanie warstwy polimeru umożliwia zwiększenie zwilżalności powierzchni, co skutkuje utworzeniem grubszej warstwy filmu cieczy jonowej, niestety znaczącą wadą tego rozwiązania była konieczność zmywania warstwy sorbentu po analizie i nanoszenie nowej, co ograniczało praktyczną użyteczność takiego rozwiązania [215].

Problemy związane z nietrwałością włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME, w których jako fazy sorpcyjne wykorzystano ciecze jonowe wyeliminowano wprowadzając do użytku polimerowe ciecze jonowe [216], charakteryzujące się wysoką trwałością termiczną i umożliwiające długi czas użytkowania włókien ekstrakcyjnych (do ok.150 ekstrakcji). Dodatkowym atutem przy zastosowaniu polimerowych cieczy jonowych w technikach ekstrakcyjnych jest fakt, że dobierając odpowiednią parę kation-anion lub odpowiednią mieszaninę kilku cieczy jonowych [217] można uzyskać bardzo wysoką selektywność ekstrakcji analitów. W doniesieniach literaturowych można odnaleźć następujące sposoby osadzania polimerowych cieczy jonowych na włóknach ekstrakcyjnych urządzenia do SPME:

- sieciowanie na cząsteczkach krzemionki osadzonych na rdzeniu włókna [218],
- impregnacja elastomerów silikonowych osadzonych na powierzchni rdzenia włókna [219],
- sieciowanie z wykorzystaniem technik zol-żel [220-223],
- sieciowanie in-situ na stalowych rdzeniach włókna pokrytych warstwą srebra [224,225].

Opisywane procedury przygotowania pokryć ekstrakcyjnych z zastosowaniem cieczy jonowych są jednakże skomplikowane i w praktyce trudne do odtworzenia.

W pierwszych doniesieniach literaturowych dotyczących zastosowania cieczy jonowych jako czynników ekstrakcyjnych w technice SPME wykazano możliwość zastosowania przygotowanych włókien do pobierania próbek analitów z grupy BTEX [206], PAH [221,226,227], fenoli [221], alkoholi [217], amin aromatycznych [218,220,228], estrów [216,229], włókna te znalazły zastosowanie również w analityce próbek płynów biologicznych [219,230].

### 4.7. Sorbenty węglowe, nanorurki węglowe i grafen

Sorbenty węglowe to materiały oparte na różnych postaciach węgla, charakteryzujące się dużą powierzchnią właściwą i dużą porowatością, niezwykłą wytrzymałością na rozciąganie i działanie wysokich temperatur, unikalnymi własnościami elektrycznymi, oraz bardzo wysokim powinowactwem do związków organicznych, co zapewnia dobre właściwości retencyjne tych materiałów i umożliwia wykorzystanie ich w procesach adsorpcji szerokiej gamy związków organicznych. Sorbenty węglowe wykorzystywane są również do przygotowania nowych włókien ekstrakcyjnych w technice SPME [231]. Na rdzeniu włókna ekstrakcyjnego osadza się m. in. nanorurki węglowe (wielowarstwowe nanoruki węglowe (MWCNTs) oraz jednowarstwowe nanorurki węglowe (SWCNTs)), które dzięki swojej budowie i bardzo dużej powierzchni właściwej wykazują zdolność do silnej adsorpcji fizycznej hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych (Rysunek 7.).



Rysunek 7. Obraz włókna ekstrakcyjnego SPME pokrytego warstwą nanorurek węglowych uzyskany z wykorzystaniem techniki elektronowej mikroskopii skaningowej [237]. Powiększenie 127× (A), 80000× (B).

Pierwsza publikacja dotycząca tego zagadnienia ukazała się w 2006 roku [232], w kolejnych publikacjach opisano zastosowanie włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME pokrytych nanorurkami węglowymi do pobierania próbek eterów polibromowanych difenyli (PBDE) [232], pestycydów [233,234,235], fenoli [236,237], związków BTEX [238] oraz piretroidów [239]. Dostępne są również informacje o możliwości modyfikacji powierzchni nanorurkek węglowych m. in. poprzez wprowadzenie na ich powierzchnię grup karboksylowych, co powoduje zwiększenie polarności powłoki ekstrakcyjnej umożliwiając pobieranie próbek bardzo polarnych analitów [236].

W publikacjach które ukazały się ostatnio, można też znaleźć informacje o możliwościach osadzania nanorurek węglowych na włóknie ekstrakcyjnym za pomocą technik zol-żel. W tym przypadku nanorurki wprowadzane są do odcinka polipropylenowej rurki (pustej w środku) i proces tworzenia żelu zostaje zainicjowany *in-situ*, tak przygotowane włókna ekstrakcyjne zastosowano do pobierania próbek fenobarbitalu w ściekach [240]. Technika zol-żel stosowana jest również do przygotowania włókien ekstrakcyjnych PEG-MWCNTs, które wykorzystywane są do pobierania

próbek niesteroidowych leków przeciwzapalnych [241] i analitów z grupy BTEX [242]. Nanokompozyty utlenionych nanorurek węglowych z polipirolem osadza się natomiast za pomocą technik elektrochemicznych [243], włókna ekstrakcyjne przygotowane w ten sposób charakteryzują się znacznie niższymi kosztami ich przygotowania, dłuższą żywotnością i wyższymi wydajnościami ekstrakcji analitów w porównaniu do wydajności ekstrakcji z wykorzystaniem włókien urządzenia do SPME dostępnych w obrocie handlowym.

Ze względu na wyjątkowe właściwości grafenu (sto razy twardszy niż stal a jednocześnie bardzo elastyczny, bardzo duża powierzchnia właściwa, niewielka rezystancja) podjęto również próbę wykorzystania tego materiału w technice SPME i innych technikach ekstrakcyjnych [244-246] (Rysunek 8.). Grafen osadza się na rdzeniach włókna urządzenia do SPME wykonanych ze stali nierdzewnej poprzez zanurzenie w roztworze grafenu [245], do tego celu wykorzystuje się również techniki polimeryzacji elektrochemicznej [247] lub techniki zol-żel [248]. W przypadku zastosowania rdzenia wykonanego ze szkła kwarcowego modyfikuje się je uprzednio NaOH i 3-aminopropylotrietyloksysilanem (APTES) a następnie osadza się na nim grafem [249]. Włókna ekstrakcyjne, w których jako fazę sorpcyjną zastosowano warstwą grafenu charakteryzują się:

- dużą powierzchnią właściwą,
- wyjątkowo wysoką odpornością termiczną (do ponad 300°C),
- wysoką odpornością chemiczną,
- bardzo dużą wytrzymałością mechaniczną.

Włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME, w których zastosowano film grafenu wykorzystuje się m.in. do pobierania próbek pestycydów pyretroidowych [245] i chlorowcooragnicznych [250], triazyn [251], fenoli [247], polibromowanych eterów difenylowych [248] oraz analitów z grupy PAH [249,252]. Mimo dużo mniejszej objętości fazy sorpcyjnej niż w włóknach urządzenia do SPME dostępnych handlowo uzyskuje się wyższą wydajność ekstrakcji analitów.



Rysunek 8. Obraz włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME pokrytego warstwą grafenu uzyskany z wykorzystaniem techniki elektronowej mikroskopii skaningowej [249]. Powiększenie 350× (A), 5000× (B), 3000× (C).

## 4.8. Porowate materialy krzemionkowe

Porowate materiały krzemionkowe to materiały posiadające uporządkowaną strukturę kanałów w postaci (Rysunek 9.):

- jednowymiarowego heksagonalnego układu porów (MCM-41, SBA-15),
- trójwymiarowej struktury wzajemnie przeplatających się, niepołączonych kanałów (MCM-48),
- struktury lamelarnej (warstwowej) (MCM-50).

Podczas syntezy porowatych materiałów krzemionkowych o powstaniu określonej struktury kanałów decyduje stosunek związku klatratującego (surfaktantu) do krzemu.



Rysunek 9. Struktury kanalów w mezoporowatych materiałach na przykładzie struktur materiałów dostępnych w handlu [253]: A) MCM-41, B) MCM-48, C) MCM-50.

Porowate materiały krzemionkowe zostały otrzymane po raz pierwszy w roku 1992 przez naukowców z korporacji *Mobil Oil* (obecnie *ExxonMobil*). Materiały te można scharakteryzować za pomocą następujących cech:

- duża powierzchnia właściwa (>1000m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>),
- wysoko uporządkowana struktura wewnętrzna,
- bardzo duża wytrzymałość mechaniczna,
- odporność na działanie mocnych kwasów,
- wysoka odporność termiczna (w atmosferze powietrza nawet do 900°C),
- rozwinięta struktura porowata,
- właściwości jonowymienne, katalityczne, sorpcyjne oraz molekularno-sitowe.

Porowate materiały krzemionkowe wykorzystywane są głównie w katalizie heterogenicznej, ale także w technikach adsorpcyjnych oraz technikach membranowych [254]. Materiały te stosowane są także jako medium sorpcyjne do pokrycia rdzenia włókna urządzenia do SPME, włókna te wykorzystywane do pobierania próbek węglowodorów aromatycznych i niektórych związków fenolowych z mediów wodnych [255,256]. W pracach, które ukazały się w ostatnim okresie czasie można także znaleźć informacje o możliwości pokrycia rdzenia włókna urządzenia do SPME nanokompozytem polipirolu i materiału *SBA-15* [257] oraz niezwykle wytrzymałym mechanicznie nanokompozytem aniliny i nanocząstek krzemionki [258].

W doniesieniach literaturowych można także odnaleźć informacje o wykorzystaniu do pokrycia włókna urządzenia do SPME nowego porowatego materiału krzemionkowego charakteryzującego się mikrostrukturą przypominającą kwiaty (Rysunek 10.). Włókna takie zastosowano do pobierania próbek organofosforowych pestycydów z mediów wodnych otrzymując wyższą wydajność procesu ekstrakcji analitów w porównaniu do wydajności procesu ekstrakcji przy zastosowaniu włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME dostępnych w obrocie handlowym [259].



## Rysunek 10. Obrazy włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME uzyskane z zastosowaniem techniki elektronowej mikroskopii skaningowej, na których przedstawiono:

a) mikrostrukturę materiału krzemionkowego przypominającą kwiaty,

b) powiększenie obrazu porowatej struktury

c) włókno ze stali nierdzewnej przed osadzeniem filmu fazy ekstrakcyjnej [259].

## 4.9. Inne typy pokryć włókna ekstrakcyjnego

W doniesieniach literaturowych można odnaleźć również informacje na temat wykorzystania innych materiałów jako faz sorpcyjnych w technice SPME, m. in:

- tanich i odpornych chemicznie sadz węglowych [260,261],
- nanoporowatego materiału węglowego CMK-3 [262],
- bardzo stabilnych termicznie i mechanicznie polisilikonowych fullerenów [263],
- perfluorowanej żywicy o handlowej nazwie Nafion [264],
- złota [265] i chlorku miedzi [266].

Z powodu małej wytrzymałości mechanicznej i termicznej włókien ekstrakcyjnych prowadzone są także badania mające na celu opracowywanie nowych rozwiązań konstrukcyjnych w zakresie tworzenia włókien urządzenia do SPME charakteryzujących się odpornością

na uszkodzenia mechaniczne i na działanie wysokich temperatur. Badanie te dotyczą m. in. wykorzystania do budowy rdzenia włókna ekstrakcyjnego bardziej wytrzymałych materiałów niż stopiona krzemionka. Do tego celu wykorzystuje się między innymi rdzenie wykonane ze srebra (stabilne do 300°C) [267], czy rdzenie ze stali nierdzewnej [255]. Niektóre materiały charakteryzujące się wysoką stabilnością termiczną i powinowactwem do pobieranych analitów mogą być zastosowane jako włókna urządzenia do SPME bezpośrednio do ekstrakcji analitów, bez konieczności osadzania dodatkowej warstwy ekstrakcyjnej na rdzeniu. W taki sposób wykorzystano m. in. włókno wykonane z cynku do ekstrakcji tioli z próbek gazowych i wodnych [268], włókno aluminiowe do izolacji i wzbogacania próbek alkoholi alifatycznych i związków z grupy BTEX z mediów gazowych [269], oraz włókno kwarcowe, które wykorzystano do ekstrakcji chromu [270].

## 5. Nowe rozwiązania w zakresie techniki SPME

Ze względu na zalety techniki SPME i duże możliwości zastosowania jej w praktyce analitycznej podjęto szereg badań mających na celu opracowanie nowych rozwiązań metodologicznych i aparaturowych w technice SPME. Badania dotyczą zarówno opracowania zupełnie nowych rozwiązań konstrukcyjnych jak i modyfikację dotychczas istniejących rozwiązań, w tym także ich miniaturyzację oraz automatyzację.

## 5.1. Automatyzacja toku postępowania procesu ekstrakcji

Opracowanie rozwiązania konstrukcyjnego urządzenia zapewniającego możliwość wykorzystania urządzenia do SPME z automatycznymi podajnikami próbek umożliwiło realizowanie wszystkich etapów procedury analitycznej (inkubacji próbek, ekstrakcji, procedury czyszczenia włókien, regulacji temperatury, czasu procesu ekstrakcji i desorpcji) za pomocą sterowanego komputerowo, zintegrowanego systemu do ekstrakcji i oznaczeń końcowych [271-274]. Wykorzystanie dostępnych w obrocie handlowym automatycznych podajników próbek takich jak: *TriPlus, Combi-PAL, MPS 2, Concept 96, multi-fibre SPME PAS* [275,276,277], zapewnia możliwość skrócenia czasu analizy i zwiększenie ilości próbek, które mogą być jednocześnie analizowane a także poprawę precyzji i powtarzalności procedury, co skutkuje znaczącym wzrostem liczby analiz o wysokiej przepustowości z wykorzystaniem techniki SPME [278,279,280]. W 2006 roku pojawiły się także pierwsze informacje o możliwości automatyzacji i miniaturyzacji zestawu do SPME wyposażonego w włókno z chłodzeniem wewnętrznym [281], taka modyfikacja zapewniła możliwość lepszej kontroli temperatury i zastosowanie urządzenia w badaniach rutynowych.

## 5.2. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki ekstrakcyjnej

Aby osiągnąć wyższą wydajność procesu ekstrakcji analitów i skrócić jego czas stosuje się ogrzewanie próbki badanego medium, co skutkuje także przyspieszeniem procesu dyfuzji analitów do fazy nadpowierzchniowej i przyspieszeniem procesu ekstrakcji. Jednakże podwyższenie temperatury ekstrakcji prowadzi jednocześnie do obniżenia wartości liczbowej współczynnika podziału analitów między fazę ekstrakcyjną i matrycę próbki. Nowym pomysłem na podniesienie wydajności procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem techniki SPME jest zastosowanie podgrzewania badanej próbki przy jednoczesnym chłodzeniu powłoki ekstrakcyjnej (CCF-SPME), co prowadzi do zwiększenia intensywności procesu transportu masy z jednoczesnym podwyższeniem wartości liczbowej współczynnika podziału. Temperatura powłoki ekstrakcyjnej włókna może być łatwo kontrolowana przez chłodzenie powłoki od wewnątrz czynnikiem chłodzącym (ciekłym CO<sub>2</sub> [282] lub alkoholem schłodzonym w kriostacie [283]) lub przez zmianę średnicy rdzenia urządzenia [281]. Schemat budowy urządzenia CCF-SPME przedstawiono na Rysunku 11.



Rysunek 11. Schemat budowy urządzenia do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki ekstrakcyjnej: 1- kapilara wewnętrzna, 2- kapilara zewnętrzna, 3- cylinder strzykawki, 4- igła, 5- pokrycie ekstrakcyjne, 6- element grzejny.

Technika CCF-SPME jest wykorzystywana szczególnie w przypadku ekstrakcji analitów z próbek charakteryzujących się dużą gęstością (takich jak kleje), gdzie mieszanie próbki może być dość kłopotliwe. Technikę mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z wykorzystaniem chłodzonej powłoki ekstrakcyjnej zastosowano między innymi do pobierania próbek:

- lotnych związków organicznych i analitów BTEX z próbek powietrza [282],
- lotnych związków z próbek owoców tropikalnych [284],
- substancji smakowych i zapachowych z próbek wodnych i kosmetyków [285],
- analitów z grupy PAH z próbek osadów [286],
- chloroanizoli obecnych w korkach butelek od wina [287],
- nanocząsteczek z areozoli zawieszonych w powietrzu [288].

Włókna ekstrakcyjne z chłodzeniem wewnętrznym można wprowadzić bezpośrednio do dozownika chromatografu, włókna te są ponadto stosunkowo wytrzymałe mechanicznie, co zapewnienia możliwość długiego czasu użytkowania zestawu. Zastosowanie techniki CCF-SPME umożliwia także otrzymanie wysokiej wydajności procesu ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej oraz z próbek ciekłych charakteryzujących się dużym stopniem zanieczyszczenia i złożonym składem matrycy [282-286].

# 5.3. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki

Aby przezwyciężyć trudności związane z połączeniem techniki SPME z chromatografem cieczowym HPLC oraz kłopoty z automatyzacją techniki, która podniosłaby jej powtarzalność opracowano nowe urządzenie, które jest połączeniem techniki SPME z techniką ekstrakcji do fazy stacjonarnej umieszczonej w rurce [77]. Technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki (ang. *In-tube SPME*) została opracowana i wprowadzona do praktyki analitycznej w 1997 roku [289] i od tamtego czasu jest szeroko stosowana do ekstrakcji analitów z próbek środowiskowych, biologicznych i żywności [290].

W rozwiązaniu tym fazę ekstrakcyjną umieszcza się jako wewnętrzną powłokę igły urządzenia do SPME, bądź też wykorzystuje się do tego celu odcinki kolumn chromatograficznych (Rysunek 12.). W drugim przypadku dodatkowym atutem jest fakt, że handlowo dostępne kolumny chromatograficzne charakteryzują się dużą odpornością mechaniczną i termiczną oraz różnorodną polarnością filmu fazy stacjonarnej.

Anality zatrzymywane są w medium ekstrakcyjnym podczas kilku cykli zasysania i wypychania próbki ze strzykawki, lub ekstrakcja prowadzona w następstwie jednokrotnego napełnienia rurki pokrytej filmem fazy stacjonarnej. Anality są następnie desorbowane bezpośrednio w dozowniku urządzenia do HPLC poprzez przemywanie rurki za pomocą strumienia fazy ruchomej [77], lub anality uwalniane są w trakcie procesu desorpcji termicznej [290,291]. Desorpcję analitów przeprowadza się również w układzie *off-line* przemywając rurkę za pomocą małej ilości rozpuszczalnika, taki sposób desorpcji analitów zapobiega niekorzystnemu zjawisku rozmywania się pików, co występuje niekiedy w przypadku desorpcji bezpośrednio w dozowniku urządzenia do oznaczeń końcowych.



Rysunek 12. Schemat budowy urządzenia do SPME z włóknem ekstrakcyjnym (a) i rurką której wewnętrzna ścianka pokryta jest fazą stacjonarną (b). 1- igła, 2- włókno ze stopionej krzemionki, 3-faza stacjonarna, 4- anality, 5- fragment kolumny kapilarnej.

Jeżeli w próbce badanego medium obecne są nielotne związki o dużej masie cząsteczkowej, takie jak białka czy związki humusowe pobieranie próbek analitów za pomocą urządzenia do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki może być utrudnione, w takim przypadku stosuje się dodatkowo porowate celulozowe filtry ochraniające włókno urządzenia [292]. Ze względu na sposób desorpcji analitów, technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki znalazła zastosowanie głównie w ekstrakcji analitów o charakterze polarnym i analitów charakteryzujących się niskimi temperaturami rozkładu, z próbek żywności [293], próbek środowiskowych i medycznych [290]. Również w przypadku tej techniki należy liczyć się z pewnymi ograniczeniami, są nimi możliwość zastosowania tej techniki tylko do czystych próbek, nie zawierających dużych cząsteczek stałych, które mogłyby spowodować niedrożność rurki/igły [77]. Do pokrycia wewnętrznej ścianki rurki urządzenia do SPME wykorzystuje się następujące materiały:

- PDMS, CW, PEG [289,294-296],
- polimery z nadrukiem cząsteczkowym [297],
- polimery przewodzące [298,299,300],
- sorbenty wykazujące powinowactwo immunologiczne [301],
- sorbenty polimerowe uzyskane za pomocą techniki zol-żel [305,302].

W przypadku techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej, którą stanowi film pokrywający wewnętrzną ściankę rurki zastosowanie znalazły również kolumny kapilarne wykonane ze stopionej krzemionki, których faza stacjonarna jest dodatkowo modyfikowana za pomocą grup oktadecylowych w celu uzyskania większej porowatości [303], zastosowano je m. in. do pobierania próbek analitów z grupy PAH [303,304] oraz estrogenów czy farmaceutyków z próbek biologicznych [305,306,307].

Technikę mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki można również w łatwy sposób zautomatyzować, co skutkuje skróceniem czasu analizy, oraz podniesieniem precyzji i powtarzalności uzyskiwanych wyników [289,308]. W zakresie techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w postaci filmu pokrywającego wewnętrzną ściankę rurki opracowano również dwa interesujące rozwiązania aparaturowe, które polegają na wprowadzeniu do wnętrza rurki rdzenia wykonanego ze stali nierdzewnej (ang. *wire-in-tube* SPME) [309] (Rysunek 13.A) lub rdzenia polimerowego (ang. *fiber-in-tube* SPME) [310] (Rysunek 13.B). W pierwszym rozwiązaniu technicznym, obecność rdzenia skutkuje zmniejszeniem pojemności kapilary przy jednoczesnym braku zmniejszenia powierzchni fazy stacjonarnej, co miałoby miejsce w przypadku zmniejszenia średnicy kapilary. Połączenie tego systemu z chromatografią cieczową umożliwia przeprowadzanie szybkich analiz próbek środowiskowych [309] i biologicznych [311].



Rysunek 13. Nowe rozwiązania aparaturowe w technice in-tube SPME, polegające na wprowadzeniu do wnętrza kapilary rdzenia ze stali nierdzewnej (A) lub rdzenia polimerowego (B) [309].

## 5.4. Mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe

W wyniku połączenia zalet techniki SPME i techniki mikroekstrakcji do fazy ciekłej z wykorzystaniem porowatej rurki zaproponowano nową technikę mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe (LLSME) [312] oraz jej wersję dynamiczną (DLLSME) [313]. W zaproponowanym rozwiązaniu konstrukcyjnym włókno urządzenia do SPME pokryte polimerem z nadrukiem cząsteczkowym umieszcza się w porowatej polipropylenowej membranie (rurce) wypełnionej rozpuszczalnikiem organicznym lub włókno umieszcza się w rozpuszczalniku organicznym znajdującym się na powierzchni kontaktu z próbką badanego medium [314] (Rysunek 14.).

Technika LLSME charakteryzuje się wysoką selektywnością i wydajnością procesu ekstrakcji analitów wynikającą z wykorzystania sorbentów z nadrukiem cząsteczkowym oraz umożliwia izolację i wzbogacanie analitów z próbek o różnorodnym i złożonym składzie matrycy. Technikę LLSME wykorzystano na etapie pobierania próbek pestycydów [312,314] oraz estrogenów z mediów ciekłych [313].



Rysunek 14. Schemat procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem techniki mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz-ciało stałe. 1- rozpuszczalnik organiczny, 2-warstwa polimeru z odwzorowaniem cząsteczkowym, 3- membrana półprzepuszczalna, 4-próbka.

## 5.5. Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej wspomagana elektrochemicznie

W literaturze dostępne są również informacje o wykorzystaniu w praktyce analitycznej techniki SPME wspomaganej elektrochemicznie. W pierwotnym zamyśle zaproponowano mikroekstrakcję do fazy stacjonarnej kontrolowaną elektrochemicznie (EC-SPME), w której włókna ekstrakcyjne pokryte filmem polimeru przewodzącego wykorzystano do procesu ekstrakcji jonów metali i anionów nieorganicznych [315,316,317]. Technika ta charakteryzuje się jednak niską wydajnością procesu ekstrakcji analitów i brakiem możliwości bezpośredniego połączenia z systemem chromatograficznym, dlatego w 2007 roku zaproponowano nową jej wersję- technikę mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej wspomaganą elektrochemicznie (EE-SPME) [318]. W technice tej włókna urządzenia do SPME spełniają funkcję elektrody roboczej (WE), w literaturze opisano zastosowanie do tego celu włókien ekstrakcyjnych pokrytych węglem aktywnym [318], oraz włókien pokrytych nanorurkami węglowymi osadzonymi na warstwie polimeru o nazwie *Nafion* [319] lub osadzonymi na powierzchni filmu polipirolu [320]. Jako elektrodę odniesienia (RE) zastosowano nasyconą elektrodę kalomelową oraz jako przeciwelektrodę (CE)- platynowy drut (Rysunek 15.).

Przykładając odpowiedni potencjał ujemny na elektrodzie roboczej, następuje ujemne naładowanie powłoki włókna ekstrakcyjnego i powstawanie pola elektrycznego, w którym dodatnio naładowane anality są przyciągane do powierzchni powłoki i zatrzymane w powłoce poprzez wymianę

przeciwjonów. Natomiast stosując potencjał dodatni możliwe jest podniesienie wydajności i selektywności procesu ekstrakcji analitów naładowanych ujemnie. Tak więc stosując odpowiednią polaryzację i odpowiednią wysokość potencjałów możliwe jest podniesienie wydajności procesu ekstrakcji związków kationowych (np. protonowanych amin) i związków anionowych (np. deprotonowanych kwasów karboksylowych). Zastosowanie techniki EE-SPME umożliwia znaczne skrócenie czasu prowadzenia procesu ekstrakcji w porównaniu do czasu trwania procesu ekstrakcji z wykorzystaniem standardowej wersji techniki SPME, oraz umożliwia pobieranie analitów polarnych z próbek charakteryzujących się polarnym składem matrycy, co do tej pory było utrudnione ze względu na hydrofilowy charakter analitów. Urządzenie do pobierania próbek analitów z wykorzystaniem techniki EE-SPME zastosowano m.in. do selektywnej i wydajnej ekstrakcji pochodnych aniliny i kwasów karboksylowych z próbek wodnych [319] oraz ekstrakcji zasadowych związków psychoaktywnych z próbek moczu i próbek wodnych [321].



Rysunek 15. Schemat procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej wspomaganej elektrochemicznie.

(WE) elektroda robocza, (RE) elektroda odniesienia, (CE) przeciwelektroda.

W 2011 roku zaproponowano modyfikację techniki EE-SPME, w której zamiast włókna ekstrakcyjnego zastosowano platynową płytkę pokrytą jednowarstwowymi nanorurkami węglowymi (SWCNTs), do której przykładano potencjał dodatni w wyniku czego elektrosorbowane były jony: F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> i SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Następnie do płytki przykładano potencjał ujemny i desorbowano aniony do ultra czystej wody i analizowano za pomocą chromatografii jonowej [322] (Rysunek 15.).



Rysunek 16. Schemat procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem techniki EE-SPME z zastosowaniem płytki platynowej pokrytej nanorurkami węglowymi. SWCNT- jednowarstwowe nanorurki węglowe

## 5.6. Membranowa mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej

Aby osiagnać czułość, która zapewni możliwość oznaczania lotnych i polarnych związków organicznych jako fazy stacjonarne w technice SPME wykorzystuje się wysokospecyficzne sorbenty charakteryzujące się dużym powinowactwem do analitów. Jednakże procedury syntezy nowych materiałów sorpcyjnych sa czesto skomplikowane, kosztowne i w praktyce trudne do odtworzenia, natomiast wybór dostępnych handlowo włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME jest stosunkowo ubogi i włókna te charakteryzują się niskim powinowactwem do związków polarnych. Istotną wadą dostępnych na rynku pokryć włókien ekstrakcyjnych, w których jako fazę sorpcyjną zastosowano kopolimery polidimetylosilokasanu z diwinylobenzenem lub Carboxenem jest to, że prawdziwy mechanizm sorpcji jest utracony, gdyż kopolimery te nie są już czystymi sorbentami polimerowymi a mechanizm zatrzymywania analitów na włóknie ekstrakcyjnym oparty jest na oddziaływaniach analit-adsorbent. W przypadku zastosowania takich pokryć ekstrakcyjnych do pobierania próbek polarnych analitów z polarnych mediów możliwe staje się niekorzystne zjawisko konkurowania analitów i składników matrycy o miejsca aktywne adsorbentu. Ze względu na nadmiar próbki w stosunku do ilości analitu oraz duże powinowactwo składników matrycy próbki w stosunku do adsorbentu można się spodziewać istotnego wpływu matrycy na przebieg procesu izolacji analitów a tym samym wynik oznaczeń końcowych [74,75]. Ponadto silne związanie analitów z materiałem ekstrakcyjnym może skutkować niekompletną desorpcją analitów z włókna ekstrakcyjnego lub wymaga zastosowania wysokiej temperatury desorpcji, a także powoduje powstawanie artefaktów w wyniku działania katalitycznego adsorbentu, co może utrudniać czy nawet uniemożliwiać otrzymywanie rzetelnych wyników analizy.

Z powodu wspomnianych ograniczeń powstała potrzeba opracowania nowych rozwiązań metodycznych w zakresie przygotowania włókien ekstrakcyjnych znajdujących zastosowanie w pobieraniu próbek polarnych analitów z mediów polarnych za pomocą techniki SPME. Jednym z pomysłów na przezwyciężenie trudności związanych z izolacją polarnych analitów z próbek charakteryzujących się polarnym składem matrycy może być fizyczne oddzielenie polarnego medium ekstrakcyjnego od badanej próbki za pomocą membrany (membranowa wersja mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej M-SPME) [323,324]. W takim dwufazowym układzie sorpcyjnym polarne anality migrują z matrycy próbki przez hydrofobową i stabilną termicznie membranę, którą stanowi powłoka z polidimetylosiloksanu (PDMS) i zatrzymywane są w odpowiednim medium ekstrakcyjnym osadzonym na włóknie. We układzie sorpcyjnym M-SPME jako czynnik ekstrakcyjny wykorzystuje się polimery występujące formie pseudocieczy (polimeru o dużej gęstości, przypominającym sprężyste ciało stałe posiadające właściwości cieczy). Podczas ekstrakcji anality zatrzymywane są na włóknie ekstrakcyjnym poprzez rozpuszczenie w medium ekstrakcyjnym. Zastosowanie sorbentu w formie unieruchomionej cieczy prowadzi do eliminacji niedogodności związanych z mechanizmem ekstrakcji opartym na oddziaływaniach analit-adsorbent, natomiast zastosowanie powłoki z materiału hydrofobowego eliminuje ryzyko rozpuszczenia polarnego czynnika ekstrakcyjnego w polarnej matrycy próbki stwarzając możliwości wykorzystania nowych klas sorbentów, które ze względu na ich rozpuszczalność w wodzie nie mogły być wykorzystane jako materiały sorpcyjne w technice SPME. Schemat budowy włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME z dwuwarstwowym systemem sorpcyjnym przedstawiony jest na Rysunku 17.:



### Rysunek 17. Schemat budowy włókna urządzenia membranowej wersji urządzenia do SPME:

- 1- membrana polimerowa (PDMS),
- 2- medium ekstrakcyjne,
- 3- włókno ze stopionej krzemionki.

Dwuwarstwowy system sorpcyjny charakteryzuje się:

- dobrymi właściwościami mechanicznymi,
- dużą stabilnością termiczną (PDMS jest stabilny termicznie do 300°C),
- możliwością desorpcji analitów z włókna w niskich temperaturach,
- absorpcyjnym charakterem zatrzymania analitów na włóknie ekstrakcyjnym,
- możliwością zastosowania bardzo polarnych sorbentów bez ryzyka rozpuszczenia czynnika ekstrakcyjnego w matrycy próbki.

## II. CEL I ZAKRES PRACY

Głównym celem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej jest opracowanie nowych układów sorpcyjnych do izolacji i/lub wzbogacania analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska z wykorzystaniem membranowej wersji techniki SPME (M-SPME) a następnie ich oznaczania z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. W trakcie prowadzonych badań na etapie przygotowania nowych, dwufazowych układów sorpcyjnych jako media ekstrakcyjne wykorzystywane są polarne i średniopolarne sorbenty występujące w formie pseudocieczy (ciała stałego posiadającego właściwości cieczy i właściwości reologiczne wosków) oraz ciecze jonowe, fizycznie oddzielone od badanej próbki za pomocą hydrofobowej membrany.

Program badań będących przedmiotem pracy ukierunkowany jest na realizację następujących zadań:

- Przygotowanie nowych układów sorpcyjnych do izolacji i/lub wzbogacania analitów wg koncepcji membranowej wersji techniki SPME (M-SPME). W zakres programu tych badań wchodzą następujące operacje:
  - poszukiwanie sorbentów występujących w formie pseudocieczy oraz cieczy jonowych, które wykazują odpowiednie właściwości fizykochemiczne (takie jak niska temperatura topnienia, duża lepkość i wysoka odporność termiczna), które mogą być zastosowane jako fazy sorpcyjne w technice M-SPME,
  - określenie polarności wykorzystywanych sorbentów poprzez wyznaczenie wartości liczbowych stałych McReynoldsa oraz wskazanie grup związków wykazujących podobne właściwości w obszarze oddziaływań międzycząsteczkowych do stosowanych sorbentów (określenie powinowactwa sorbentów w stosunku do wskazanych grup analitów),
  - opracowanie procedury przygotowania nowych dwufazowych układów ekstrakcyjnych wg koncepcji membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej, które będą charakteryzować się dobrymi właściwościami mechanicznymi i odpowiednią odpornością termiczną.
- 2) Zastosowanie przygotowanych włókien ekstrakcyjnych w procesie ekstrakcji analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska o zróżnicowanej polarności i lotności z wykorzystaniem techniki M-SPME na etapie przygotowania próbek przed analizą chromatograficzną. W zakres programu tych badań wchodzą następujące operacje:
  - optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji wybranych analitów za pomocą techniki M-SPME (poprzez wyznaczenie profili sorpcji analitów na włóknie ekstrakcyjnym oraz z wykorzystaniem planów frakcyjnych)- określenie optymalnego czasu i temperatury

procesu ekstrakcji analitów, zawartości czynnika wysalającego, pH próbki, szybkości mieszania a także optymalnych warunków procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego (temperatury dozownika chromatografu i czasu trwania procesu desorpcji analitów),

- przeprowadzenie badań modelowych obejmujących wyznaczenie profili sorpcji dla oznaczanych związków w celu wykazania przydatności techniki M-SPME do pobierania próbek analitów obecnych w próbkach na poziomie ppb przed etapem oznaczania chromatograficznego tych analitów oraz w celu wyznaczenia wartości liczbowych wybranych parametrów walidacyjnych stosowanych procedur analitycznych (liniowości, powtarzalności i granic wykrywalności),
- określenie udziału fazy membranowej osadzonej na włóknie przygotowanym wg koncepcji
  M-SPME w procesie ekstrakcji analitów,
- porównanie wydajności procesu ekstrakcji wybranych analitów bezpośrednio z próbki oraz z fazy nadpowierzchniowej nad badanym medium, oraz porównanie wydajności procesu ekstrakcji wybranych analitów dla różnych pokryć włókna ekstrakcyjnego- przygotowanych wg koncepcji M-SPME oraz włókien ekstrakcyjnych dostępnych handlowo,
- weryfikacja przydatności opracowanych procedur analitycznych poprzez zastosowanie techniki M-SPME do ekstrakcji analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska z próbek środowiskowych na etapie przygotowania próbek do analizy chromatograficznej oraz określenie wpływu składników matrycy próbki na wydajność ekstrakcji analitów.

## III CZĘŚĆ DOSWIADCZALNA

## 1. Odczynniki chemiczne i materiały

- glikol polietylenowy 20 kDa (CarboMer, USA)
- polidimetylosiloksan Sylgard 184 (Dow Corning, USA)
- polikaprolakton 14kDa (Sigma Aldrich, USA)
- chlorek metynelu (POCh SA, Polska)
- metanol Chromasolv (Sigma-Aldrich, USA)
- chloroform (POCh SA, Polska)
- stężony kwas siarkowy(VI) (POCh SA, Polska)
- wodorotlenek sodu (POCh SA, Polska)
- chlorek sodu (POCh SA, Polska)
- siarczan sodu (POCh SA, Polska)
- składniki roztworów buforowych (POCh SA, Polska)
  - kwas cytrynowy
  - tetraboran sodu
  - wodorofosforan sodu
- gazy: azot, wodór, powietrze (Linde, Polska)
- ciekły ditlenek węgla (Linde, Polska)
- woda dejonizowana przygotowana przy użyciu systemu Milli-Q (Millipore, USA)
- włókno krzemowe o średnicy 150 µm z powłoką poliimidową (Cezar Int., Polska)
- rurki i igły ze stali nierdzewnej 27G, 28G (Cadence Inc., USA)
- rurki ze stali nierdzewnej o średnicy wewnętrznej 2mm (Supelco, USA)
- klej epoksydowy (Sigma-Aldrich, USA)
- skwalan (POCh SA, Polska)
- porowaty polimer Chromosorb W (80/100 mesh) (Sigma Aldrich, USA)
- zawiązki McReynolds'a (Sigma Aldrich, USA)
  - benzen
  - 1-butanol
  - 2-pentanon
  - nitropropan
  - pirydyna
- włókno ekstrakcyjne urządzenia do SPME pokryte polimerową cieczą jonową (PIL): poli(chlorkiem 1-winylo-3-heksyloimidazoliowym) (*University of Toledo*, USA)

- włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME (Supelco, USA):
  - DVB/CAR/PDMS 50/30 μm
  - PDMS/DVB 65µm
- mieszanina wzorcowa lotnych związków organicznych w metanolu (Sigma Aldrich, USA)
  - chlorobenzen (CB) 2000µg/ml
  - p-ksylen (p-X) 2000µg/ml
  - o-ksylen (o-X) 2000µg/ml
  - izopropylobenzen (isoPB) 2000µg/ml
  - n-propylobenzen (n-PB) 2000µg/ml
  - 2-chlorotoluen (2-CT) 2000µg/ml
  - 4-chlorotoluen (4-CT) 2000µg/ml
  - tert-butylobenzen (t-BB) 2000µg/ml
  - sec-butylobenzen (s-BB) 2000µg/ml
  - 1,3-dichlorobenzen (1,3-DCB) 2000µg/ml
  - 1,4-dichlorobenzen (1,4-DCB) 2000µg/ml
  - 1,2-dichlorobenzen (1,2-DCB) 2000µg/ml
- mieszanina wzorcowa triazn w metanolu (Sigma Aldrich, USA)
  - ametryn 100 µg/ml
  - atrazyna 100 µg/ml
  - prometon 100 μg/ml
  - prometryn 100 μg/ml
  - propazyna 100 µg/ml
  - simazyna 100 µg/ml
  - terbutryn 100 µg/ml
- mieszanina wzorcowa fenoli w chlorku metylenu (Sigma Aldrich, USA)
  - 4-chloro-3-metylofenol 2500 µg/ml
  - 2-chlorofenol 500 µg/ml
  - 2,4-dichlorofenol 500 µg/ml
  - 2,4-dimetylofenol 500 µg/ml
  - 2,4-dinitrofenol 2500 µg/ml
  - 2-metylo-4,6-dinitrofenol 2500 µg/ml
  - 2-nitrofenol 500 µg/ml
  - 4-nitrofenol 2500 µg/ml
  - pentachlorofenol 2500 µg/ml
  - fenol 500  $\mu$ g/ml
  - 2,4,6-trichlorofenol 1500 µg/ml

## 2. Aparatura

- Chromatograf gazowy Agilent 7890A wyposażony w detektor FID (Agilent Technologies, USA)
- Kolumna kapilarna VOCOL (60m x 0.32 mm x 3.0 µm grubości filmu) (Supelco, USA)
- Kolumna kapilarna HP 5 (30m x 0.32mm x 0.25 µm grubości filmu) (Agilent Technologies, USA)
- Kolumna kapilarna SPB-5 (30m x 0.32mm x 0.25 µm grubości filmu) (Supelco, USA)
- Aparat do skaningowej kalorymetrii różnicowej Phoenix 204 (Netzsch, Niemcy)
- Urządzenie do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej i statyw (Supelco, USA)
- Termostat z regulacją temperatury (Omnisfera, Polska)
- Zestaw do powlekania włókien warstwą fazy stacjonarnej:
  - grzałka w wyprofilowanym bloku stalowym
  - statyw
  - prowadnica i rurki stalowe
  - stolik mikroskopowy
  - silnik wolnoobrotowy
- Mieszadło magnetyczne Topolino (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Niemcy)
- Szklane mieszadła magnetyczne 12x5mm (Scientific Laboratory Supplies, UK)
- Rotacyjna wyparka laboratoryjna:
  - kolba okrągłodenna
  - łaźnia wodna
  - zespół napędowy
  - statyw
  - chłodnica zwrotna
  - kolbka-odbieralnik
  - pompa próżniowa
- Uniwersalna suszarka laboratoryjna typu SUP
- Mikroskop Genetic Pro Bino (Delta Optical, Polska)
- Waga analityczna (RADWAG, Polska)
- Aparat do otrzymywania wody specjalnej czystości Milli-Q (Merck Millipore, USA)
- Papierki lakmusowe 4-polowe (Riedel-de Haën, Sigma Aldrich, USA)
- Mikrostrzykawki o objętości 10, 50, 100, 250 µl (Hamilton, Szwajcaria)
- Nakrętki i membrany PTFE, silikonowe, gumowe (Supelco, USA)
- Mikropipety automatyczne i pipety wielomiarowe
- Fiolki, kolby i cylindry wielomiarowe

## 3. Sorbenty stosowane jako fazy sorpcyjne w technice M-SPME

W celu zapewnienia absorpcyjnego charakteru mechanizmu procesu ekstrakcji analitów (czyli wykorzystania zjawiska podziału analitu między próbkę i fazę ekstrakcyjną), do przygotowania nowych układów sorpcyjnych, jako medium ekstrakcyjne oraz medium membranowe wykorzystano sorbenty polimerowe występujące w formie pseudocieczy oraz polimerowe ciecze jonowe. Zastosowanie ciał stałych o właściwościach reologicznych cieczy jako czynników ekstrakcyjnych prowadzi do eliminacji wad związanych z mechanizmem procesu ekstrakcji opartym na wykorzystaniu specyficznych oddziaływaniach analit-adsorbent (opisane szerzej w rozdziale I.3.1). Dodatkowo polarny charakter stosowanych sorbentów zapewnia możliwość uzyskania wysokiej wydajności procesu wzbogacania i ekstrakcji polarnych analitów.

Do przygotowania nowych układów sorpcyjnych wg koncepcji M-SPME wykorzystano następujące polimerowe materiały sorpcyjne:

- glikol polietylenowy (PEG),
- polikaprolakton (PCL),
- poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy) (poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>])),
- polidimetylosiloksan (PDMS).

#### Polidimetylosiloksan

W przypadku techniki SPME polidimetylosiloksan (PDMS) został użyty po raz pierwszy do pokrycia włókna ekstrakcyjnego w prototypowym urządzeniu do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej [50]. Materiał ten należy do grupy syntetycznych polimerów krzemoorganicznych o strukturze siloksanów (Rysunek 18.), jest nietoksyczny, niepalny i obojętny chemicznie.

$$\begin{array}{c|c} CH_3 & CH_3 & CH_3 \\ H_3C - Si - O - \begin{bmatrix} Si - O \\ - \end{bmatrix}_n Si - CH_3 \\ CH_3 & CH_3 & CH_3 \end{array}$$

#### Rysunek 18. Wzór strukturalny polidimetyloksanu (PDMS).

Polidimetylosiloksan jest polimerem lepkosprężystym, występuje w postaci ciała stałego o właściwościach reologicznych cieczy, co oznacza, że przy długich czasach przepływu (lub wysokich temperaturach) zachowuje się jak lepki płyn, podobny do miodu [325]. Ponadto temperatura topnienia tego materiału wynosi -50°C, czyli znacznie poniżej temperatury w jakiej przeprowadza się procesy ekstrakcji analitów, w konsekwencji czego mechanizm procesu ekstrakcji analitów za pomocą włókna urządzenia do SPME na którym osadzono film polidimetylosiloksanu oparty jest na absorpcji, czyli podziale analitu między matrycę próbki i fazę ekstrakcyjną [326,327].

Polidimetylosiloksan jest również materiałem charakteryzującym się wysoką stabilnością termiczną (nawet do temperatury 300°C) i nie posiada centrów aktywnych, co stwarza możliwość desorpcji analitów w umiarkowanych warunkach temperaturowych i prowadzi do eliminacji możliwości rozkładu termicznego analitów [74]. Polidimetylosiloksan jest materiałem niepolarnym, mimo tego cząsteczki wody, alkoholi i polarnych rozpuszczalników mogą dyfundować do wnętrza PDMS, jednakże nie powodują jego pęcznienia [328]. Włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME, w których jako fazę ekstrakcyjną zastosowano PDMS wykorzystuje się do pobierania próbek związków niepolarnych, takich jak związki z grupy węglowodorów aromatycznych czy BTEX [329].

#### **Glikol polietylenowy**

Glikol polietylenowy (PEG) jest bezbarwnym polimerem z grupy polieterów, który w zależności od masy cząsteczkowej występuje w formie gęstej cieczy lub woskowego ciała stałego. Glikol polietylenowy jest materiałem higroskopijnym, miesza się z wodą w każdym stosunku, rozpuszcza się również w innych glikolach, etanolu, glicerolu, chloroformie i acetonie. Materiał ten charakteryzuje się dużą odpornością na działanie wysokich temperatur (nawet do temperatury 280°C). Właściwości fizykochemiczne glikolu polietylenowego takie jak temperatura topnienia, gęstość, stan skupienia różnią się w zależności od jego masy cząsteczkowej.

Glikol polietylenowy jest powszechnie wykorzystywany jako faza stacjonarna przy produkcji chromatograficznych kolumn kapilarnych, które wg informacji zawartych w materiałach przygotowanych przez producenta przeznaczone są do rozdzielania polarnych analitów, także tych o zbliżonych temperaturach wrzenia [330], jego wzór strukturalny przestawiono na Rysunku 19.



Rysunek 19. Wzór strukturalny glikolu polietylenowego (PEG).

W przypadku stosowania glikolu polietylenowego jako fazy ekstrakcyjnej do pokrycia włókna urządzenia do SPME występuje on pod nazwą handlową *Carbowax*<sup>®</sup>, według producenta włókna ekstrakcyjne pokryte tym materiałem przeznaczone są do pobierania próbek alkoholi i związków polarnych o masie cząsteczkowej 40-275 [329]. Glikol polietylenowy wykorzystuje się również jako fazę ekstrakcyjną w urządzeniu do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej pokrywającej wewnętrzną ściankę rurki (ang. *in-tube* SPME), stosowanym do pobierania próbek fenoli z próbek wodnych [331] oraz polarnych farmaceutyków z próbek biologicznych [295,296].

#### Polikaprolakton

Polikaprolakton (PCL) należy grupy biodegradowalnych poliestrów termoplastycznych. Jego krystaliczność ma tendencję do zmniejszania się wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej polimeru. Polikaprolakton swoją konsystencją przypomina nylon, który topi się w niskiej temperaturze przyjmując formę gęstej cieczy. Polikaprolakton jest odporny na działanie wody, alkoholi, rozpuszczalników organicznych takich jak aceton, octan etylu, dimetyloformamid i acetonitryl, charakteryzuje się bardzo dobrymi właściwościami mechanicznymi. Polikaprolakton jest łatwo rozpuszczalny w chloroformie, dichlorometanie, tetrachlorku węgla, benzenie, toluenie i cykloheksanonie. Ponadto polikaprolakton łatwo miesza się z wieloma innymi polimerami, z tego powodu stosowany jest jako plastyfikator zwiększający elastyczność tworzyw sztucznych, ich podatność na barwienie i adhezję oraz jako środek poprawiający biodegradowalność polimerów [332]. Wzór strukturalny polikaprolaktonu przestawiono na Rysunku 20.



#### Rysunek 20. Wzór strukturalny polikaprolaktonu (PCL).

Polikaprolakton jest całkowicie biozgodnym polimerem, stykając się z żywym organizmem nie powoduje żadnej reakcji fizjologicznej, z tego powodu materiał ten jest szeroko wykorzystywany w medycynie do produkcji systemów dostarczania leków do organizmów, inżynierii tkankowej do wytwarzania skóry i rusztowania na wspieranie wzrostu fibroblastów. W organizmie człowieka polikaprolakton ulega stopniowemu, powolnemu rozkładowi na skutek hydrolizy wiązań estrowych, dlatego jest on stosowany także do produkcji implantów, kapsułek do leków oraz wchłanialnych nici chirurgicznych [332,333].

Polikaprolakton posiada właściwości lepkosprężyste i cechy reologiczne cieczy, jego temperatura topnienia wynosi 59-67°C, natomiast temperatura zeszklenia około -60°C [334], w konsekwencji czego mechanizm procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem polikaprolaktonu jako fazy sorpcyjnej w technikach ekstrakcyjnych oparty będzie na absorpcji, czyli podziale analitu między próbkę i fazę ekstrakcyjną.

#### Poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy)

Polimerowa ciecz jonowa poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy) poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) została po raz pierwszy zsyntezowana w celu pokrycia włókna urządzenia do SPME [216]. Na postawie wyników przeprowadzonych badań, materiał ten określono jako bardzo polarny, dlatego też włókno urządzenia do SPME pokryte poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) zostało wykorzystane do ekstrakcji polarnych analitów z fazy nadpowierzchniowej- lotnych kwasów tłuszczowych, alkoholi i fenoli

[335,336] oraz krótkołańcuchowych kwasów monokarboksylowych [337,338]. W badaniach nad wykorzystaniem włókien urządzenia do SPME pokrytych poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) jako włókno porównawcze zastosowano handlowo dostępne włókno pokryte poliakrylem, które według zaleceń producenta przeznaczone jest do pobierania próbek polarnych analitów. Proces ekstrakcji polarnych analitów charakteryzuje podobna wydajność dla obydwu włókien, dlatego biorąc pod uwagę kilkukrotnie większą objętość fazy ekstrakcyjnej na włóknie komercyjnym, proces ekstrakcji z wykorzystaniem włókna pokrytego poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) jest dużo bardziej efektywny [336].

Zbadano również mechanizm procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) jako medium sorpcyjnego w urządzeniu do SPME, wyniki tych badań wskazują na to, że mechanizm oparty jest na absorpcji, czyli podziale analitu między próbkę i fazę ekstrakcyjną [339]. Wzór strukturalny poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) przestawiono na Rysunku 21.



Rysunek 21. Wzór strukturalny poli(chlorku 1-winylo-3-heksyloimidazoliowego).

#### Synteza poli(chlorku 1-winylo-3-heksyloimidazoliowego) [216]

Proces syntezy a następnie polimeryzacji chlorku 1-winylo-3-heksyloimidazoliowego przeprowadzono wykonując czynności przedstawione na rysunku 22. Do kolby okrągłodennej wprowadzono 1-winyloimidazol i chlorek heksylu w stosunku molowym 1:1, odpowiednią ilość izopropanolu oraz mieszadełko magnetyczne. Do kolby podłączono chłodnicę, następnie aparaturę umieszczono na 16h w płaszczu grzejnym utrzymując temperaturę 60°C oraz mieszanie ze stałą prędkością. Z przygotowanej mieszaniny pobierano próbki, które poddawano suszeniu w próżni w celu odparowania rozpuszczalnika, następnie próbki rozpuszczano w wodzie i ekstrahowano w octanie etylu i ponownie poddawano suszeniu w atmosferze próżni przez 2 doby. Produkt syntezy analizowano korzystając z techniki spektrometrii protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>1</sup>H NMR) rozpuszczając badane próbki w deuterowanym dimetylosulfotlenku. Gdy w widmie nie obserwowano sygnałów odpowiadających nieprzereagowanym substratom całość mieszaniny poddawano suszeniu i ponownej analizie za pomocą techniki <sup>1</sup>H NMR w celu sprawdzenia czystości produktu.

Polimeryzację rodnikową monomeru wykonano z wykorzystaniem inicjatora azobis(izobutyronitrylu) oraz chloroformu, które wraz z monomerem ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 3 godziny w temperaturze 70°C, w atmosferze gazu obojętnego a następnie poddawano suszeniu w próżni. Produkt polimeryzacji także analizowano za pomocą techniki <sup>1</sup>H NMR w celu sprawdzenia jego czystości. Gotową ciecz jonową rozpuszczano w chloroformie w stosunku objętościowym 1:1.



Rysunek 22. Schemat procesu syntezy i polimeryzacji chlorku 1-winylo-3-heksyloimidazoliowego.

## 4. Opis procedur analitycznych

# 4. 1. Wyznaczenie temperatury topnienia polikaprolaktonu i glikolu polietylenowego

Praktyczne zastosowanie materiałów sorpcyjnych jako faz ekstrakcyjnych w dwufazowym systemie sorpcyjnym M-SPME pociąga za sobą konieczność spełnienia następujących wymogów w zakresie właściwości termicznych wykorzystywanego sorbentu:

- niska temperatura topnienia (aby zachować stan ciekły sorbentu w trakcie ekstrakcji i podziałowy charakter tego procesu),
- wysoka odporność termiczna (aby umożliwić desorpcję termiczną analitów z włókna).

Aby określić właściwości termiczne materiałów wykorzystywanych w ramach badań przeprowadzono dodatkowe pomiary w celu określenia wpływu temperatury na właściwości fizyczne sorbentów wykorzystując do tego celu technikę skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Technika DSC zapewnia możliwość zbadania efektów cieplnych towarzyszących procesom zachodzącym podczas ogrzewania lub chłodzenia badanej substancji, przemian fazowych i reakcji chemicznych zachodzących z wydzielaniem lub pochłanianiem ciepła a także badania efektów cieplnych zachodzących w określonym czasie w warunkach izotermicznych, oraz zapewnia możliwość ustalenia wartości liczbowych innych wielkości termodynamicznych, takich jak entalpia i entropia czy wyznaczenie pojemności cieplnej, temperatury topnienia i temperatury zeszklenia. Technika skaningowej kalorymetrii różnicowej jest techniką kalorymetryczną, tzn. polega na bezpośrednim pomiarze różnicy strumieni cieplnych dopływających do próbki badanej i do próbki odniesienia, która występuje pod wpływem narzuconych zmian temperatury.

W przypadku techniki DSC pomiar polega na pomiarze w jednakowych warunkach temperaturowych badanej próbki i próbki odniesienia, umieszczonych w dwóch tyglach i określeniu wartości różnicy temperatur (dT) pomiędzy tymi próbki. Gdy w badanej próbce w wyniku ogrzewania zachodzą przemiany endo- lub egzotermiczne elementy grzewcze aparatu do DSC dostarczają ciepło (rejestrowane w postaci piku na termogramie), w ten sposób by utrzymać jednakową temperaturę w obu tyglach. W wyniku pomiaru otrzymuje się zależność w układzie dostarczonej energii cieplnej (podawaną w mW lub W/g) od temperatury.

Z pomocą aparatu do skaningowej kalorymetrii różnicowej wyznaczono temperatury topnienia glikolu polietylenowego o masie cząsteczkowej 20 kDa oraz polikaprolaktonu o macie cząsteczkowej 14 kDa. Pomiary prowadzono w atmosferze argonu, stosując ogrzewanie 4K/min. Wyznaczona **temperatura topnienia PEG wynosi ok. 67°C, temperatura topnienia PCL ok. 65°C,** ponadto w zakresie temperatur prowadzonego pomiaru tj. do 250 °C nie zauważono sygnałów świadczących o rozkładzie termicznym badanych materiałów. Na Rysunkach 23. i 24. przedstawiono wygląd termogramów DSC odpowiednio dla próbek glikolu polietylenowego oraz polikaprolaktonu.

NETZSCH-Gerätebau GmbH Thermal Analysis



Rysunek 23. Termogram DSC dla próbki glikolu polietylenowego (20 kDa).



NETZSCH-Gerätebau GmbH Thermal Analysis

Rysunek 24. Termogram DSC dla próbki polikaprolaktonu (14 kDa).

# 4.2. Określenie polarności polikaprolaktonu poprzez wyznaczenie wartości liczbowych stałych McReynoldsa

Dobór materiału ekstrakcyjnego o odpowiedniej polarności, stosowanego do pokrycia włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME jest niezmiernie ważny, ponieważ polarność sorbentu i ilość zastosowanej fazy stacjonarnej bezpośrednio wpływają na selektywność, rodzaj oddziaływań z analitem i wydajność procesu ekstrakcji analitów. Wybór materiału ekstrakcyjnego opiera się na zasadzie, że sorbenty polarne wykazują wysokie powinowactwo w stosunku do analitów polarnych, natomiast sorbenty niepolarne wykazują wysokie powinowactwo w stosunku do analitów niepolarnych. W związku z tym, że polarność polikaprolaktonu nie została do tej pory precyzyjnie określona, w trakcie przeprowadzonych badań dokonano określenia polarności tego materiału. Na polarność polikaprolaktonu wskazuje obecność w jego strukturze silnie polarnej grupy estrowej, jednakże materiał ten nie jest uznawany za materiał bardzo polarny. Dzięki przeprowadzonym badaniom możliwe było określenie potencjalnej grupy analitów, w stosunku do której polikaprolakton posiada wysokie powinowactwo.

Metodyka określenia polarności materiałów poprzez wyznaczenie wartości liczbowych stałych McReynoldsa często stosowana jest w technikach chromatograficznych, gdzie wykorzystuje się ją do określania polarności faz stacjonarnych. Procedura ta opiera się na wyznaczeniu czasów retencji związków testowych, reprezentujących różne typy oddziaływań międzycząsteczkowych z wykorzystaniem kolumn wypełnionych nośnikiem pokrytym badanym związkiem oraz skwalanemodpowiednikiem fazy niepolarnej. Wyznaczając wartości liczbowe stałych McReynoldsa można określić specyficzne pod względem oddziaływań właściwości związku stanowiącego fazę stacjonarną kolumny chromatograficznej oraz jej ogólną polarność. W badaniach wykorzystano dwie kolumny pakowane wykonane z rurki ze stali nierdzewnej o średnicy wewnętrznej 2mm i długości 1m, wypełnione nośnikiem, na którym osadzono warstwę polikaprolaktonu i skwalanu.

#### Przygotowanie kolumn pakowanych

W celu osadzenia warstwy polikaprolaktonu i skwalanu na nośniku sporządzono roztwory o stężeniach 20% wag., dla polikaprolaktonu- roztwór w metanolu, dla skwalanu- roztwór w chloroformie. Roztwory te dodawano do porcji nośnika i umieszczano w wyparce rotacyjnej, w celu odparowania rozpuszczalnika. W przypadku roztworu polikaprolaktonu proces prowadzono w temperaturze 50°C przy zastosowaniu lekkiego podciśnienia przez okres 12 godzin, dla skwalanu proces prowadzono w temperaturze 40°C pod ciśnieniem atmosferycznym.

Po zakończeniu odparowywania rozpuszczalnika grawimetrycznie określono masę fazy stacjonarnej oraz stopień upakowania wypełnienia obu kolumn. Upakowanie kolumny, w której jako fazę stacjonarną zastosowano polikaprolakton wyniosło 36,4%, natomiast dla kolumny ze skwalanem-39,6%. Tak wysoki stopień upakowania kolumny zapobiega występowaniu oddziaływań szczątkowych pomiędzy oznaczanymi związkami i nośnikiem. Po umieszczeniu wypełnienia w kolumnie jej końce zabezpieczano za pomocą wełny szklanej. Przed użyciem kolumny kondycjonowano przez okres ok. 12 godzin w piecu chromatografu, w temperaturze 130°C, w przepływie strumienia gazu obojętnego, aż do uzyskania stabilnej linii podstawowej.

#### Wyznaczeniu wartości liczbowych stałych McReynolds'a

Wyznaczenie wartości liczbowych stałych McReynolds'a wymaga w pierwszej kolejności obliczenia wartości liczbowych indeksów Kovatsa na podstawie równania (32), w oparciu o wyznaczone zredukowane czasy retencji szeregu n-alkanów i związków modelowych. Wykorzystano do tego celu następującą zależność:

$$I = 100z + \frac{100[\log t_{R}^{'}(i) - \log t_{R}^{'}(z)]}{\log t_{R}^{'}(z+1) - \log t_{R}^{'}(z)}$$
(32)

Gdzie: Z - liczba atomów węgla n-alkanu o czasie retencji  $t_R(z)$ ,

 $t'_{R}(i)$  - zredukowany czas retencji związku testowego *i*,

 $t'_{R}(z)$  - zredukowany czas retencji n-alkanu eluowanego przed badanym związkiem *i*,

 $t'_{R}(z+1)$  - zredukowany czas retencji n-alkanu eluowanego po badanym związku *i*.

Wartości liczbowe indeksów Kovatsa wyznaczono dla kolumny z nośnikiem pokrytym PCL ( $I_{PCL}$ ) oraz kolumny z nośnikiem pokrytym skwalanem ( $I_s$ ). W trakcie prowadzonych badań, jako gaz nośny wykorzystano azot (objętościowe natężenie przepływu: 2 ml/min), kolumnę utrzymywano w stałej temperaturze 120°C. Czasy martwy retencji wyznaczono stosując metan- związek, który nie ulega zatrzymaniu w kolumnie.

Udział oddziaływań związków testowych z fazą stacjonarną dla poszczególnych związków modelowych obliczono wykorzystując zależność (33). Wartości liczbowe stałych McReynolds'a ( $\Delta I$ ) obliczono jako różnicę wartości liczbowych indeksów Kovatsa związków testowych wyznaczonych dla kolumny z nośnikiem pokrytym PCL oraz kolumny z nośnikiem pokrytym skwalanem.

$$\Sigma I = aX + bY + cZ + dU + eS \tag{33}$$

Gdzie: a, b, c, d, e - współczynniki wagowe, charakteryzujące związki testowe,

X, Y, Z, U, S - współczynniki charakteryzujące związek stanowiący fazę stacjonarną w porównaniu do skwalanu.

Wartości liczbowe współczynników wagowych charakteryzujących wkład związków testowych przyjmują następujące wartości liczbowe: benzen (a=1), 1-butanol (b=1), 2-pentanon (c=1), nitropropan (d=1), pirydyna (e=1). Informacje o różnych typach oddziaływań międzycząsteczkowych związków modelowych oraz uzyskane wyniki zestawiono w Tabeli 5.

Związek	Rodzaj oddziaływania [340]	Is	I <sub>PCL</sub>	ΔΙ
benzen (X)	wskazuje na słabe oddziaływania dyspersyjne, oddziaływania $\pi\text{-}~\pi$ i polaryzowalność fazy	677	870	193
1-butanol (Y)	wskazuje na zdolność tworzenia wiązań wodorowych, protono- donorowy/akceptorowy charakter oddziaływań dipolowych	654	926	272
2-pentanon (Z)	wskazuje na polaryzowalność fazy i częściowo na oddziaływania dipolowe	662	890	228
nitropropan (U)	wskazuje na elektro- donorowy/akceptorowy oraz dipolowy charakter oddziaływań	676	1046	371
pirydyna (S)	wskazuje na kwasowy charakter fazy stacjonarnej, silne zdolności protonoakceptorowe	698	1026	328

Tabela 5. Informacje o oddziaływaniach międzycząsteczkowych testowych związków oraz odpowiadające im wartości liczbowe indeksów Kovatsa oraz stałych McReynoldsa, uzyskane w temperaturze 120°C

Umownie przyjmuje się, że średnie wartości liczbowe stałych McReynolds'a ( $\Delta I$ ) poniżej 100 charakteryzują związki niepolarne, zakres 100÷400 wskazuje na związki o umiarkowanej polarności natomiast wartości powyżej 400 wskazują na związki o silnej polarności [341]. Dla PCL wartość średnia parametru  $\Delta I$  wynosi 278, co wskazuje na **umiarkowaną polarność polikaprolaktonu**, przy czym główny udział w całkowitej polarności mają oddziaływania elektrodonorowe i elektorakceptorowe. Relatywnie wysoka wartość liczbowa parametru  $\Delta I$  dla butanolu wskazuje również na pewną zdolność do tworzenia wiązań wodorowych. W oparciu o uzyskane wyniki, **triazyny wybrano jako grupę związków wykazujących podobne do PCL właściwości w obszarze oddziaływań międzycząsteczkowych**. Ponadto logarytmy z wartości liczbowych współczynników podziału oktanol-woda (logP) pozwalają na sklasyfikowanie tej grupy związków jako średniopolarne (logP>3) i polarne (logP<3), natomiast wartości liczbowe stałych dysocjacji (pK<sub>a</sub>) wskazują, że związki te wykazują słabe właściwości kwasowo-zasadowe (Tabela 6) [342]. W oparciu o uzyskane wyniki w trakcie kolejnych etapów badań włókna ekstrakcyjne PCL/PDMS urządzenia do SPME zastosowano w procesie ekstrakcji triazyn z próbek wodnych.

Związek	logP	рК <sub>а</sub>
Ametryn	2,63	10,07
Atrazyna	2,61	1,71
Prometon	2,99	9,73
Prometryn	3,10	4,10
Propazyna	3,08	1,70
Symazyna	2,18	1,62
Terbutryn	3,66	4,30

Tabela 6. Wartości liczbowe logarytmów współczynników podziału oktanol-woda oraz stałych dysocjacji

# 4.3. Przygotowanie włókien ekstrakcyjnych wg koncepcji membranowej wersji techniki SPME

Biorąc pod uwagę wyniki doświadczeń opisanych w zgłoszeniu patentowym [324] oraz w pierwszej publikacji dotyczącej techniki membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej [323] opracowano procedurę otrzymywania nowych włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME z dwufazowym systemem sorpcyjnym. Na włóknach wykonanych ze stopionej krzemionki osadzano dwie warstwy sorbentu:

- wewnętrzną powłokę pełniącą rolę właściwego medium ekstrakcyjnego stanowił film następujących materiałów sorpcyjnych: PEG, PCL, poli([ViHIm+][Cl-]);
- zewnętrzną powłokę pełniącą rolę membrany stanowił cienki film PDMS, oddzielający medium ekstrakcyjne od próbki.

Schemat budowy włókna urządzenia do SPME z dwufazowym układem sorpcyjnym przestawiono na Rysunku 25. Obie fazy sorpcyjne osadzano na włóknie poprzez zanurzenie rdzenia w rozpuszczonym lub stopionym polimerze.



**Rysunek 25.** Schemat budowy włókna urządzenia do SPME z dwufazowym układem sorpcyjnym. 1-membrana polimerowa (PDMS), 2- medium ekstrakcyjne, 3- włókno ze stopionej krzemionki.

W trakcie badań prowadzonych badań przygotowano następujące dwufazowe systemy sorpcyjne, wykorzystane do procesu ekstrakcji analitów za pomocą techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej:

- PEG/PDMS,
- PCL/PDMS,
- PIL/PDMS (w którym wykorzystano polimerową ciecz jonową: poli([ViHIm+][Cl-]).

#### Przygotowanie rdzeni włókna ekstrakcyjnego:

W przypadku systemów sorpcyjnych PEG/PDMS oraz PCL/PDMS rdzenie włókna ekstrakcyjnego przygotowywano z dostępnego handlowo światłowodu krzemowego z powłoką poliimidową. Światłowód pocięto na odcinki o długości 4cm a następnie usuwano z nich powłokę poliimidową poprzez umieszczenie w stężonym kwasie siarkowym. Następnie włókna przemywano kolejno: wodą destylowaną, roztworem wodorotlenku sodu i ponownie wodą destylowaną, następnie osuszano w suszarce. Po osadzeniu powłoki ekstrakcyjnej gotowe włókna przymocowywano za pomocą kleju epoksydowego do wewnętrznej igły komercyjnego urządzenia do SPME.

Do przygotowania systemów sorpcyjnych PIL/PDMS wykorzystano kapilarę ze stopionej krzemionki, którą przymocowywano za pomocą kleju epoksydowego do tłoka mikrostrzykawki o pojemności 5ml, uszczelnionej za pomocą taśmy teflonowej. Następnie kapilarę wysuwano ze strzykawki na pożądaną długość (1 cm) i za pomocą mikropalnika zasklepiano światło kapilary oraz usuwano powłokę poliimidową. Tak przygotowany rdzeń włókna ekstrakcyjnego przemywano rozpuszczalnikami (metanolem, acetonem, heksanem, chlorkiem metylu), osuszano oraz kondycjonowano w dozowniku chromatografu przez kilka minut w temperaturze 200°C. Na tak przygotowanym rdzeniu osadzano powłokę medium ekstrakcyjnego.

#### Osadzanie filmu medium ekstrakcyjnego:

W celu osadzenia filmu medium ekstrakcyjnego na rdzeniu włókna urządzenia do SPME pojemniczek z sorbentem wykorzystywanym jako medium ekstrakcyjne umieszczano w płaszczu grzejnym utrzymując stałą temperaturę, o ok 2°C wyższą od temperatury topnienia sorbentu:

- dla glikolu polietylenowego: 69°C,
- dla polikaprolaktonu: 67°C

W przypadku polimerowej cieczy jonowej topienie sorbentu nie było konieczne, poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy) rozpuszczano w chloroformie w stosunku objętościowym 1:1 i umieszczano w pojemniczku w temperaturze pokojowej [336].

Warstwę sorbentu osadzano na uprzednio przygotowanym rdzeniu krzemionkowym w trakcie jednego cyklu zanurzania i wyciągania rdzenia z pojemniczka ze ściśle kontrolowaną prędkością. Do tego celu wykorzystano aparaturę, której budowę przedstawiono schematycznie na Rysunku 26. W wyniku tej operacji na powierzchni rdzenia osadzano powłokę o grubości zależnej od temperatury polimeru oraz szybkości wyciągania włókna z pojemniczka. Utwardzanie powłoki materiału
ekstrakcyjnego odbywa się w temperaturze pokojowej, w czasie od kilku sekund (dla PEG i PCL) do kilku minut (dla PIL) od wynurzenia włókna z pojemniczka.

Po sadzeniu filmu materiału sorpcyjnego, za pomocą mikroskopu optycznego wyposażonego w kamerę cyfrową mierzono długość pokrycia ekstrakcyjnego i jego grubość oraz kontrolowano jakość powłoki polimeru w celu odrzucenia wadliwych egzemplarzy. W przypadku PIL do tego celu wykorzystano elektronowy mikroskop skaningowy.



Rysunek 26. Schemat budowy zestawu do osadzania materiału sorpcyjnego na włóknie ekstrakcyjnym.

#### Osadzanie filmu polidimetylosiloksanu (membrany):

Osadzanie powłoki polidimetylosiloksanu odbywa się w temperaturze pokojowej w podobny sposób, opisany powyżej. Jednakże w przypadku PDMS konieczne jest osadzanie kilku warstw tego materiału. Kolejne warstwy PDMS osadzano korzystając za każdym razem ze świeżej porcji sorbentu. Polidimetylosiloksan wykorzystywany jako medium membranowe charakteryzuje się jednoskładnikowym systemem utwardzania, sieciującym pod wpływem wilgoci (zwartej np. w powietrzu). Czas schnięcia dotykowego zastosowanego polidimetylosiloksanu w temperaturze pokojowej wynosi 6 min, dlatego po upływie tego czasu możliwe jest osadzanie kolejnych warstw sorbentu na włóknie.

Włókna ekstrakcyjne przygotowane w opisany powyżej sposób pozostawiano do całkowitego wyschnięcia w temperaturze pokojowej (wg zaleceń producenta- na 72h) a następnie pod mikroskopem mierzono długość i grubość pokrycia ekstrakcyjnego i kontrolowano jakość powłoki polimeru w celu odrzucenia wadliwych egzemplarzy. W Tabeli 7. zestawiono informacje o budowie przygotowanych włókien ekstrakcyjnych z dwufazowym systemem sorpcyjnym:

Wewnętrzna warstwa sorbentu						
Materiał sorpcyjny	PEG	PCL	PIL			
Średnia grubość filmu sorbentu	70-80 μm	65-70 μm	8-10 µm			
llość warstw sorbentu	1 warstwa	1 warstwa	1 warstwa			
Długość powłoki sorbentu	1 cm 1 cm		1 cm			
Zewnętrzna warstwa sorbentu						
Średnia grubość filmu PDMS	30-40 µm	32-42 μm	8-12 μm			
llość warstw PDMS	5-7 warstw	5-7warstw	2 warstwy			
Długość powłoki PDMS	1,2 cm	1,2 cm	1,2 cm			

Tabela 7. Budowa włókien ekstrakcyjnych z dwufazowym systemem sorpcyjnym

Przygotowano również włókna ekstrakcyjne, na których osadzono jedynie warstwę polidimetylosiloksanu o objętości zbliżonej do objętości powłoki membranowej włókna dwufazowego. Do przygotowania tych włókien użyto tego samego polimeru, jaki został wykorzystany do produkcji włókna dwufazowego.

Dobranie optymalnej grubości filmu materiału sorpcyjnego jest niezwykle istotna ze względu na fakt, że ilość analitu zaadsorbowanego na włóknie ekstrakcyjnym jest proporcjonalna do objętości czynnika ekstrakcyjnego. Ponadto zastosowanie filmu medium zatrzymującego o dużej grubości zapewnia możliwość wydajnej ekstrakcji lotnych analitów oraz ich transport bez strat do dozownika przyrządu kontrolno-pomiarowego. Jednakże osiągnięcie stanu równowagi w przypadku grubych warstw materiału sorpcyjnego wymaga dłuższego czasu prowadzenia ekstrakcji niż przy zastosowaniu pokrycia ekstrakcyjnego o małej grubości [49,73].

Istotne znaczenie posiada również wytrzymałość mechaniczna przygotowanych włókien, dlatego optymalne grubości filmu materiału sorpcyjnego wybrano w oparciu o wyniki testów włókien ekstrakcyjnych charakteryzujących się różną grubością filmu polimerowego.

### Test rozpuszczalności:

Włókna umieszczano w zlewce z wodą destylowaną i pozostawiano na okres 24h i 48h. Po tym czasie włókna oceniano kontrolując jakość pokrycia ekstrakcyjnego, oraz mierzono pod mikroskopem średnicę i długość pokrycia ekstrakcyjnego. Jeżeli pokrycia włókna nie ulegały uszkodzeniu pod wpływem wody i nie obserwowano ubytku fazy ekstrakcyjnej przeprowadzono test odporności termicznej.

#### Test odporności termicznej:

Przygotowane włókna ekstrakcyjne dwukrotnie kondycjonowano w przepływie strumienia azotu w temperaturze 220°C przez 1h (w przypadku włókien PEG/PDMS oraz PCL/PDMA) lub w temperaturze 175°C przez 30min (w przypadku włókien PCL/PDMS), czyli w warunkach panujących w dozowniku chromatografu podczas desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego. Jeżeli pokrycia włókna ekstrakcyjnego nie ulegały uszkodzeniu pod wpływem temperatury i nie obserwowano ubytku fazy sorpcyjnej, pod mikroskopem mierzono długość i średnicę pokrycia ekstrakcyjnego. W wyniku ogrzewania obserwowano początkowo nieznaczne rozszerzanie się, a po ostudzeniu- skurczanie się pokrycia ekstrakcyjnego, co wynikało z topienia i zastygania wewnętrznej fazy sorpcyjnej włókna, jednakże jeśli włókno nie posiadało uszkodzeń mechanicznych ubytek masy fazy ekstrakcyjnej był minimalny.

### 4.4. Procedura procesu ekstrakcji i desorpcji termicznej analitów z wykorzystaniem techniki SPME

Roztwory wzorcowe sporządzano w sposób objętościowy, metodą kolejnych rozcieńczeń przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu podstawowego do próbki rozpuszczalnika. Stężenia roztworów rozpuszczalnikowych zostały tak dobrane, aby ich objętość wprowadzana do roztworów wodnych była pomijalnie mała (maksymalnie 50µl). Wodne roztwory wzorcowe sporządzano z wcześniej przygotowanych roztworów zawierających odpowiednią ilość czynnika wysalającego (NaCl lub Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) oraz pH ustalane z wykorzystaniem buforu fosforanowego (pH=<7) oraz buforu boranowego (pH>7).

Próbki umieszczano w szklanych fiolkach o objętości 15 ml, zamkniętych za pomocą nakrętek z membraną zapewniających możliwość wprowadzenia igły urządzenia do SPME do fiolki. W przypadku procesu ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej w fiolce umieszczano próbkę badanego medium o objętości 12 ml, natomiast w przypadku ekstrakcji analitów bezpośrednio z próbki fiolkę napełniano pod korek, aby nie dopuścić do rozproszenia analitów w tej fazie nadpowierzchniowej. Aby zwiększyć szybkości transportu masy w układzie, czego skutkiem jest skrócenie czasu prowadzenia procesu ekstrakcji oraz poprawa powtarzalności operacji ekstrakcji, w każdej z przeprowadzonych ekstrakcji zastosowano maksymalną szybkość mieszania próbki badanego medium (1200 rpm).

Na Rysunku 27. przedstawiono schematycznie wszystkie operacje procedury przygotowania próbek analitów do analizy chromatograficznej, pobranych za pomocą urządzenia do SPME.



Rysunek 27. Schemat procesu ekstrakcji i desorpcji analitów z wykorzystaniem urządzenia do SPME.

W Tabelach 8.-10 zestawiono informacje o warunkach prowadzenia analiz chromatograficznych próbek, które dobrano na podstawie danych literaturowych:.

### Tabela 8. Warunki prowadzenia procesu ekstrakcji i desorpcji analitów z grupy lotnych związków organicznych z próbek wodnych dla układu HS-SPME GC-FID

Parametry pracy układu HS-SPME GC-FID				
Rodzaj fazy stacjonarnej włókna ekstrakcyjnego	PEG/PDMS 80/40 μm, DVB/CAR/PDMS 50/30 μm			
Objętość próbki	12ml w fiolce 15 ml			
Mieszanie próbki	1200 rpm			
Kolumna	VOCOL, 60m x 0.32mm x 3.0µm grubości filmu			

### Tabela 8. cd.

	40°C [7-8 min]
Program temperaturowy	40-130°C [3°C/min]
	130°C [5 min]
Gaz nośny	azot
Objętościowe natężenie strumienia gazu nośnego	10 ml/min
Temperatura dozownika	200°C/250°C
Tryb pracy dozownika	bez podziału strumienia
Temperatura detektora	300°C

### Tabela 9. Warunki prowadzenia procesu ekstrakcji i desorpcji analitów z grupy triazyn z próbek wodnych dla układu DI-SPME GC-FID

Parametry pracy układu DI-SPME GC-FID			
Rodzaj fazy stacjonarnej włókna ekstrakcyjnego	PCL/PDMS 70/40 μm, PDMS/DVB 65 μm		
Objętość próbki	15ml w fiolce 15 ml		
Mieszanie próbki	1200 rpm		
Kolumna	SPB-5, 30m x 0.32mm x 0.25µm grubości filmu		
Program temperaturowy	60°C [6 min] 60-170°C [10°C/min] 170°C [5 min] 170-230°C [10°C/min] 230°C [10 min]		
Gaz nośny	azot		
Objętościowe natężenie strumienia gazu nośnego	1 ml/min		
Temperatura dozownika	200°C/230°C		
Tryb pracy dozownika	bez podziału strumienia		
Temperatura detektora	250°C		

Parametry pracy układu HS-SPME GC-FID			
Rodzaj fazy stacjonarnej włókna ekstrakcyjnego	IL 10 μm, IL/PDMS 10/10 μm		
Objętość próbki	15ml w fiolce 15 ml		
Mieszanie próbki	1200 rpm		
Kolumna	HP 5, 30m x 0.32mm x 0.25µm grubości filmu		
Program temperaturowy	55°C [5 min] 55-220°C [8°C/min] 220°C [1 min] 220-280°C [50°C/min] 280°C [5 min]		
Gaz nośny	azot		
Objętościowe natężenie strumienia gazu nośnego	1,5 ml/min		
Temperatura dozownika	175℃		
Tryb pracy dozownika	bez podziału strumienia		
Temperatura detektora	340°C		

Tabela 10. Warunki prowadzenia procesu ekstrakcji i desorpcji analitów z grupy fenoli z próbek wodnych dla układu DI-SPME GC-FID

### 5. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PEG/PDMS do pobierania próbek lotnych związków organicznych

Wiele spośród związków zaliczanych do grupy lotnych związków organicznych podejrzewanych jest o działanie mutagenne, teratogenne, rakotwórcze czy alergogenne, związki te stwarzają również zagrożenie dla środowiska naturalnego. Z też tego powodu emisja tych ksenobiotyków podlega ograniczeniom oraz wprowadzane są coraz ostrzejsze zapisy w uregulowaniach prawnych [343-346]. Lotne związki organiczne należą do grupy często stosowanych rozpuszczalników wykorzystywanych jako półprodukty w syntezie organicznej, w produkcji materiałów syntetycznych, farb, klejów i lakierów [347,348]. Istotnym źródłem ich emisji są również gazy spalinowe oraz gazy odlotowe z instalacji przemysłowych [349,350]. Zgodnie z zapisami w odpowiednich uregulowaniach prawnych dopuszczalna zwartość związków mających niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka w wodzie pitnej jest bardzo niska, w konsekwencji czego monitorowanie zawartości tego typu związków wymaga procedur analitycznych ze wstępnym etapem

izolacji/wzbogacania analitów, gdyż większość technik analitycznych jest niedostatecznie czuła do bezpośredniego oznaczania związków obecnych w próbkach w ilościach śladowych.

Celem tej części pracy było zastosowanie nowego układu sorpcyjnego opartego na wykorzystaniu glikolu polietylenowego oraz polidimetylosiloksanu (PEG/PDMS) do izolacji i wzbogacania lotnych związków organicznych. Nową procedurę analityczną zastosowano do pobierania próbek lotnych związków organicznych z fazy nadpowierzchniowej nad ciekłym medium w celu ich oznaczenia z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. Do celów porównawczych w badaniach wykorzystano również dostępne handlowo włókno urządzenia do SPME z powłoką DVB/CAR/PDMS, które wg informacji zawartych w materiałach przygotowanych przez producenta przeznaczone jest do ekstrakcji lotnych analitów o masie cząsteczkowej (M<sub>W</sub>) w zakresie od 40 do 275. Przeprowadzono optymalizację warunków prowadzenia procesu ekstrakcji oraz określono zakres liniowości i granice wykrywalności zastosowanej procedury analitycznej. W skład grupy oznaczanych lotnych związków organicznych wchodzą jednopierścieniowe pochodne aromatyczne z podstawnikami alkilowymi oraz halogenowymi, a więc związki stanowiące istotne zagrożenie dla środowiska naturalnego [343-346].

### 5.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów

W celu określenia optymalnych warunków prowadzenia procesu ekstrakcji lotnych związków organicznych z fazy nadpowierzchniowej z wykorzystaniem urządzenia do SPME przeprowadzono badania polegające na wykonaniu serii ekstrakcji analitów z wodnych roztworów zawierających 100 µg/l każdego oznaczanego związku, różniących się wartościami optymalizowanych parametrów. Parametry optymalizowano w następującej kolejności:

- czas procesu desorpcji analitów,
- czas procesu ekstrakcji analitów,
- temperatura procesu ekstrakcji analitów,
- zawartość czynnika wysalającego w badanej próbce.

### Czas procesu desorpcji analitów

Proces optymalizacji polegał na określeniu minimalnego czasu procesu desorpcji termicznej analitów w dozowniku chromatografu, potrzebnego do całkowitego uwolnienia analitów z włókna ekstrakcyjnego. Proces desorpcji analitów z włókna PEG/PDMS prowadzono w temperaturze 200°C natomiast z włókna DVB/CAR/PDMS w temperaturze 250°C. Zróżnicowanie temperatur desorpcji dla stosowanych włókien wynikało z określonej przez producenta wytrzymałości termicznej materiałów tworzących powłoki ekstrakcyjne. W celu określenia minimalnego czasu potrzebnego do całkowitego uwolnienia analitów zatrzymanych na włóknie, czas prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókna w dozowniku chromatografu był wydłużany o 1 min z każdą kolejną analizą. Po przeprowadzeniu

procesu desorpcji analitów w ustalonym czasie, włókno ponownie umieszczano w dozowniku chromatografu i przeprowadzano proces desorpcji termicznej, aby sprawdzić czy poprzedni proces desorpcji analitów był całkowity i czy nie występuje zjawisko przeniesienia pozostałości analitów do kolejnych analiz.

Próbki analitów pobierano z roztworów o stężeniu wynoszącym 150 μg/l każdego analitu. Zastosowane stężenie roztworu było wyższe od stężenia stosowanego w kolejnych etapach procesu optymalizacji w celu zapewnienia, że wyznaczony czas potrzebny do całkowitego uwolnienia analitów w drodze desorpcji termicznej będzie właściwy również dla procesu ekstrakcji prowadzonego w warunkach optymalnych, a więc w takich, gdy ilość analitów zatrzymanych na włóknie będzie największa. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że czas potrzebny do całkowitej desorpcji analitów z włókna PEG/PDMS jest nieznacznie krótszy od czasu prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókna DVB/CAR/PDMS. Wyznaczony czas trwania procesu desorpcji analitów z włókna PEG/PDMS wynosił - 7 min., z włókna DVB/CAR/PDMS - 8 min.

Pomimo zastosowania dużo wyższej temperatury desorpcji analitów z włókna DVB/CAR/PDMS czas prowadzenia procesu desorpcji analitów był dłuższy niż w przypadku zastosowania włókna PEG/PDMS. Prawdopodobną przyczyną tej różnicy w czasach prowadzenia procesu desorpcji analitów z obu włókien, jest inny mechanizm ekstrakcji analitów, w przypadku włókna DVB/CAR/PDMS bazujący na adsorpcji i wynikającego z niego silnego związania analitów z adsorbentem, co w konsekwencji może utrudniać uwalnianie analitów na drodze desorpcji termicznej.

### Czas prowadzenia procesu ekstrakcji analitów

Czas potrzebny do osiągnięcia stanu równowagi dla obu włókien został określony na podstawie profili sorpcji analitów, wyznaczonych w trakcie prowadzenia serii ekstrakcji z roztworów o tym samym stężeniu analitów, jednakże różniących się czasem ekspozycji włókna urządzenia do SPME w fazie nadpowierzchniowej nad próbką. W badaniach zastosowano następujące czasy ekspozycji włókien ekstrakcyjnych w fazie nadpowierzchniowej nad badanym medium: 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 i 70 min. Profile sorpcji zostały wyznaczone w oparciu o wyniki pomiarów ilości analitów pobieranych za pomocą urządzenia do SPME z roztworów modelowych o stężeniu najwyższym z badanego zakresu, czyli 100 µg/l każdego z analitów. Czas potrzebny do osiągnięcia stanu równowagi może być skrócony przez zastosowanie intensywnego mieszania, podczas którego następuje przyspieszenie procesu wymiany masy między fazami układu, z tego powodu podczas przeprowadzonych badań zastosowano mieszanie za pomocą mieszadła magnetycznego ustawionego na najwyższe obroty. Czas potrzebny do osiągniecia stanu równowagi zależy także od szybkości dyfuzji analitów. Z prawa Ficka wynika, że szybkość dyfuzji analitów rośnie wraz ze zwiększeniem gradientu stężeń. Z drugiej strony, w wyniku podwyższenia stężenia analitów w próbce, ilość analitu która musi zostać przetransportowana do powierzchni włókna aby osiągnąć stan równowagi jest większa.

Profile sorpcji wybranych analitów przedstawiające zależność czasu prowadzenia procesu ekstrakcji od ilości analitów zatrzymanych zarówno na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS jak i na włóknie dostępnym handlowo przedstawiono na Rysunku 28. Na obu wykresach można zaobserwować, że osiągnięcie fazy *plateau*, czyli optimum procesu ekstrakcji osiągane jest dla obu włókien w podobnym czasie 30-40 minut. Biorąc pod uwagę, że włókno z dwufazowym układem sorpcyjnym oraz włókno dostępne handlowo różnią się rodzajem materiałów sorpcyjnych jak i grubością powłoki, można wnioskować, że czas potrzebny do osiągania stanu równowagi zależy od dyfuzji analitów w próbce i fazie nadpowierzchniowej, natomiast transport analitów wewnątrz materiału sorpcyjnego nie jest istotnym czynnikiem wpływającym na szybkość procesu ekstrakcji. Na podstawie uzyskanych wyników **czas prowadzenia procesu ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych ustalono na 30 min** dla obu włókien.



Rysunek 28. Wpływ czasu prowadzenia procesu ekstrakcji na ilość analitów zaadsorbowanych na włóknie ekstrakcyjnym. a - włókno DVB/CAR/PDMS, b - włókno PEG/PDMS. Anality: ♦ 2-CT, • n-PB, × 1,2-DCB, ■ iso-PB, □ s-BB, ○ t-BB

#### Temperatura procesu ekstrakcji analitów

Wydajność procesu ekstrakcji analitów z wykorzystaniem urządzenia do SPME w dużym stopniu zależy od zastosowanej temperatury układu. Podwyższenie temperatury układu powoduje zwiększenie szybkości transportu analitów z próbki do fazy nadpowierzchniowej, jednakże zbyt wysoka temperatura może powodować desorpcję analitów z włókna ekstrakcyjnego. Ponadto adsorpcja jest procesem egzotermicznym, z tego powodu podwyższanie temperatury układu będzie powodowało zmniejszenie wartości liczbowej współczynnika podziału analitów pomiędzy fazę nadpowierzchniową i fazę ekstrakcyjną skutkując mniejszą ilością analitów zaadsorbowanych na włóknie ekstrakcyjnym. Biorąc jednocześnie pod uwagę wzrost stężenia analitów w fazie

nadpowierzchniowej w wyniku ogrzewania próbki można się spodziewać istnienia optimum temperaturowego dla procesu ekstrakcji analitów. Pamiętając o opisanej zależności temperaturę procesu ekstrakcji dobrano mając na uwadze również skład matrycy próbki oraz rodzaj materiału sorpcyjnego użytego do pokrycia włókna urządzenia do SPME. W badaniach wykorzystano termostat, który pozwala na termostatowanie całej fiolki z dokładnością ±0.5°C. Proces ekstrakcji analitów prowadzono w temperaturach 25, 30, 35, 40, 45, 50 oraz 60°C. Profile sorpcji przedstawiające zależność temperatury procesu ekstrakcji od ilości analitów z grupy lotnych związków organicznych zatrzymanych zarówno na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS jak i na włóknie dostępnym w handlu przedstawiono na Rysunku 29.

Jak należało się spodziewać początkowy wzrost temperatury w zakresie 25-40°C skutkuje zwiększeniem ilości analitów zatrzymanych przez powłokę ekstrakcyjną, jednakże dla temperatur powyższej 40°C obserwowano spadek ilości analitów zatrzymanych na włóknie urządzenia do SPME. Porównując wyniki uzyskane z zastosowaniem obu włókien można zauważyć pewne różnice między profilami sorpcji analitów. Dla włókna PEG/PDMS optimum występuje w temperaturze ok. 30°C, podczas gdy dla włókna DVB/CAR/PDMS maksymalna ilość analitów zatrzymana na włóknie występowała w temperaturze 40°C.

Ponadto można też zauważyć, że wraz ze wzrostem temperatury układu w przypadku zastosowania do ekstrakcji włókna PEG/PDMS następował większy spadek ilości analitów zaabsorbowanych na włóknie. Różnicę tę można tłumaczyć innym mechanizmem procesu zatrzymania analitów na włóknie ekstrakcyjnym. W przypadku włókna DVB/CAR/PDMS anality zatrzymywane sa na drodze adsorpcji, natomiast w przypadku włókna PEG/PDMS wykorzystywany jest mechanizm absorpcji, polegający na zjawisku podziału absorbowanych składników pomiędzy fazy układu. W drugim przypadku spadek wartości liczbowej współczynnika podziału analitu w układzie faza nadpowierzchniowa-faza sorpcyjna jest w niewielkim stopniu kompensowany wzrostem wartości liczbowej stałej podziału próbka-faza nadpowierzchniowa. Dodatkowo, można przypuszczać że w wysokiej temperaturze układu mniejsza ilość analitów zaabsorbowanych na włóknie zarówno w przypadku opracowanego układu sorpcyjnego jak i włókna handlowego jest do pewnego stopnia spowodowana utratą analitów charakteryzujących się dużą lotnością, które w warunkach podwyższonej temperatury moga łatwiej ulatniać się z fiolki. Na podstawie uzyskanych wyników za optymalne temperatury ekstrakcji lotnych związków organicznych z fazy nadpowierzchniowej przyjęto temperaturę 30°C dla włókna PEG/PDMS i temperaturę 40°C dla włókna DVB/CAR/PDMS.



Rysunek 29. Wpływ temperatury ekstrakcji na ilość analitów zaadsorbowanych na włóknie ekstrakcyjnym. a-włókno DVB/CAR/PDMS, b - włókno PEG/PDMS. Anality: ♦ 2-CT, ● n-PB, × 1,2-DCB, ■ iso-PB, □ s-BB, ○ t-BB.

### Zawartość soli w próbce

Dane literaturowe wskazują, że dodanie niewielkiej ilości soli prowadzi do zmniejszenia rozpuszczalności związków organicznych obecnych w próbkach wodnych, w efekcie czego rośnie ich stężenie w fazie nadpowierzchniowej a w konsekwencji ilość analitów zatrzymana w powłoce ekstrakcyjnej jest większa. Wzrost siły jonowej roztworu (tzw. efekt wysolenia związków organicznych) i jej wpływ na wzrost efektywności procesu izolacji analitów zależny jest od indywidualnych cech analitu i należy go określać na drodze eksperymentalnej. Aby określić wpływ siły jonowej na wydajność ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych, przeprowadzono serię ekstrakcji z wodnych roztworów chlorku sodu o różnym stężeniu czynnika wysalającego - 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35% wag. NaCl. Profile sorpcji przedstawiające zależność stężenia soli w próbce od ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS i włóknie DVB/CAR/PDMS przedstawiono na Rysunku 30.

Jak należało się spodziewać już niewielki dodatek soli powoduje wzrost ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym, z drugiej strony efekt wysolenia analitów nie ma charakteru liniowego i można zauważyć tendencję to osiągania *plateau*. Efekt wysolenia wpływa jedynie na wartość liczbową stałej podziału analitu pomiędzy próbkę a fazę nadpowierzchniową, dlatego wygląd profili sorpcyjnych dla ekstrakcji z wykorzystaniem włókna PEG/PDMS oraz DVB/CAR/PDMS jest bardzo zbliżony. W temperaturze pokojowej najwyższe zastosowane stężenie roztworu, czyli 35%, jest bliskie stanowi nasycenia wody chlorkiem sodu, dlatego biorąc pod uwagę jedynie niewielki wzrost ilości analitów zatrzymanych na włóknach ekstrakcyjnych przy zastosowaniu zasolenia próbki wynoszącego 35%, w dalszych badaniach stosowano **zawartość NaCl wynoszącą 30%**.



Rysunek 30. Wpływ stężenia czynnika wysalającego na ilość analitów zaadsorbowanych na włóknie ekstrakcyjnym. a - włókno DVB/CAR/PDMS, b - włókno PEG/PDMS. Anality: ♦ 2-CT, • n-PB, × 1,2-DCB, ■ iso-PB, □ s-BB, ○ t-BB.

## 5.2. Udział fazy membranowej włókna PEG/PDMS w procesie ekstrakcji analitów

Jak wspomniano wcześniej, głównym zadaniem fazy membranowej w dwufazowym układzie sorpcyjnym M-SPME jest mechaniczna stabilizacja powłoki ekstrakcyjnej i wyeliminowanie rozpuszczania polarnego medium ekstrakcyjnego w polarnej próbce. Z drugiej strony, faza membranowa jest integralną częścią składową systemu sorpcji, podczas ekstrakcji anality migrują przez nią do fazy polarnej, część analitów zostaje zatrzymana również w fazie membranowej, a następnie wprowadzana jest do desorbera termicznego chromatografu. W związku z tym zbadano także udział procentowy fazy membranowej opracowanego układu dwufazowego w procesie ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych. W tym celu wykorzystano włókno pokryte wyłącznie filmem PDMS, wykonane w ten sam sposób i z wykorzystaniem tych samych materiałów co włókno ekstrakcyjne PEG/PDMS. Proces pobierania próbek analitów z roztworów wzorcowych o stężeniu 100 µg/l każdego analitu przeprowadzano w warunkach optymalnych. W Tabeli 11. zestawiono wyniki dokumentujące udział fazy membranowej (PDMS) w procesie ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych z wykorzystaniem włókna PEG/PDMS. Do opisu ilościowego tego eksperymentu wykorzystano powierzchnie pików chromatograficznych odpowiadające ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS. Ilość analitów zatrzymanych w fazie polarnej (PEG) obliczano jako różnicę pomiędzy powierzchniami pików analitów uzyskanych dla włókien PEG/PDMS i włókna PDMS.

Tabela 11. Wyniki dokumentujące udział fazy membranowej w procesie ekstrakcji lotnych związków organicznych z wykorzystaniem włókna PEG/PDMS.

	A <sub>PEG/PDMS</sub>	A <sub>PDMS</sub>	$A_{PEG}$	A <sub>PEG</sub> / A <sub>PDMS</sub>	udział PDMS [%]
СВ	546,68	146,40	400,28	2,73	26,78
p-X	740,20	207,44	532,76	2,57	28,02
o-X	904,88	278,78	626,09	2,25	30,81
isoPB	1045,91	354,75	691,16	1,95	33,92
n-PB	1130,97	379,16	751,81	1,98	33,53
2-CT	988,79	311,88	676,92	2,17	31,54
4-CT	928,82	284,81	644,01	2,26	30,66
t-BB	1375,71	578,18	797,53	1,38	42,03
sec-BB	1412,93	606,15	806,78	1,33	42,90
1,3-DCB	846,59	296,22	550,38	1,86	34,99
1,4-DCB	869,94	291,27	578,67	1,99	33,48
1,2-DCB	1090,18	399,18	690,99	1,73	36,62

A- pole powierzchni piku analitu zatrzymanego na włóknie PEG/PDMS oraz w fazach PDMS i PEG.

Warto zauważyć, że pomimo tego, że anality z grupy lotnych związków organicznych charakteryzują się średnią polarnością to wykazują istotne powinowactwo w stosunku do materiału polarnego. Względna skuteczność sorpcji zdefiniowana jako stosunek ilości analitów zatrzymanych w obu fazach zwierała się w zakresie od 1,3 (dla alkilopodstawionych pochodnych) do 2,7 (dla najbardziej polarnego analitu- chlorobenzenu). Procentowa ilość analitów zatrzymywanych przez fazę membranową na włóknie PEG/PDMS oscylowała między 27 a 43%, co wskazuje na istotny udział fazy membranowej w procesie izolacji analitów z grupy lotnych związków organicznych.

# 5.2. Zakres liniowości, powtarzalność i granice wykrywalności opracowanej procedury analitycznej

Dla opracowanej procedury analitycznej opartej na wykorzystaniu techniki M-SPME na etapie pobierania próbek do analizy chromatograficznej określono wybrane parametry walidacyjne. Zakres liniowości procedury analitycznej został określony poprzez przeprowadzenie serii ekstrakcji z próbek o stężeniu analitów zmieniającym się w zakresie od 0,5-100 µg/l z wykorzystaniem techniki SPME i analizie próbek z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. Proces ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych prowadzono w warunkach optymalnych i przy zastosowaniu maksymalnej prędkości mieszania próbki. W Tabeli 12. zestawiono optymalne warunki prowadzenia procesu ekstrakcji lotnych związków organicznych z fazy nadpowierzchniowej z wykorzystaniem urządzenia do SPME wyposażonego w włókno PEG/PDMS i włókno DVB/CAR/PDMS:

	TYP WŁÓKNA ERKSTRAKCYNEGO			
	PEG/PDMS	DVB/CAR/PDMS		
czas procesu ekstrakcji	30 min	30 min		
temperatura procesu ekstrakcji	30°C	40°C		
zawartość czynnika wysalającego	30%	30%		
czas desorpcji analitów	7 min	8 min		

 Tabela 12.
 Optymalne warunki przeprowadzania procesu ekstrakcji analitów z grupy lotnych związków organicznych z zastosowaniem techniki HS-SPME

Na podstawie uzyskanych profili stężeniowych przedstawionych na Rysunku 31. można stwierdzić, że w przypadku zastosowania włókna ekstrakcyjnego dostępnego handlowo zależność stężenia analitów w próbce do ilości analitów zatrzymanej na włóknie urządzenia do SPME jest liniowa jedynie w zakresie stężeń od 0,5 do około 25 µg/l. Efekt ten jest znany i wynika z adsorpcyjnego mechanizmu zatrzymywania analitów na włóknie ekstrakcyjnym DVB/CAR/PDMS. Na rysunku 31. linie przerywane obrazują teoretyczny liniowy przebieg procesu ekstrakcji wyliczony na podstawie wartości danych eksperymentalnych wyznaczonych dla stężeń analitów w zakresie 0,5-25 µg/l. Natomiast w przypadku zastosowania włókna ekstrakcyjnego PEG/PDMS ilość analitów zatrzymanych na włóknie zależy liniowo od ich stężenia w próbce w całym zakresie badanych stężeń, co potwierdzają wysokie wartości liczbowe współczynników korelacji, które zestawiono w Tabeli 13.



Rysunek 31. Wpływ stężenia analitów w próbce pierwotnej na ilość analitów zaadsorbowanych na włóknie DVB/CAR/PDMS. Anality: • 2-CT, • n-PB, □ 1,2-DCB, ■ iso-PB, □ s-BB, ○ t-BB.

Wartości liczbowe współczynników korelacji ( $R^2$ ) procedury analitycznej uzyskane dla włókna PEG/PDMS zostały obliczone dla zakresu stężeń 0,5-100 µg/l, natomiast dla włókna DVB/CAR/PDMS dla zakresu 0,5-25 µg/l. Obliczone wartości liczbowe współczynników korelacji procedury analitycznej z zastosowaniem techniki M-SPME na etapie przygotowania próbki wynoszące powyżej 0,985 mogą być podstawą do wniosku, że opracowana procedura analityczna charakteryzuje się **szerokim zakresem liniowości, również w obszarze wysokich stężeń**.

Wartości liczbowe jednego z podstawowych parametrów walidacyjnych, jaką jest granica wykrywalności (LOD) wyznaczono w oparciu o wyliczone wartości stosunku sygnału do szumu równego 3:1. W przypadku zastosowania włókna PEG/PDMS do ekstrakcji analitów z wykorzystaniem techniki SPME, granice wykrywalności analitów mieszczą się w zakresie od 0,011 do 0,031 µg/l, obliczone granice wykrywalności są porównywalne lub niższe od wartości uzyskanych z wykorzystaniem włókna handlowego DVB/CAR/PDMS. Można także zauważyć, że w przypadku zastosowania włókna ekstrakcyjnego PEG/PDMS niższe wartości granic wykrywalności analitów oraz wyższą wydajność procesu ekstrakcji uzyskano dla najbardziej polarnych analitów z grupy lotnych związków organicznych.

Powtarzalność procedury analitycznej, w której na etapie pobierania próbek analitów wykorzystano włókna ekstrakcyjne PEG/PDMS i DVB/CAR/PDMS porównano biorąc pod uwagę wartości względnego odchylenia standardowego (RSD) uzyskane w wyniku przeprowadzenia pięciu równoległych operacji ekstrakcji z próbek o stężeniu 1 µg/l każdego analitu. W wyniku porównania powtarzalności obydwu procedur analitycznych można zauważyć, że rozrzut uzyskanych wyników w przypadku zastosowania do pobierania próbek analitów włókna PEG/PDMS jest nieznacznie większy. Tym nie mniej wartości liczbowe RSD poniżej 14% przy tym poziomie stężeń są akceptowalne. Uzyskane wyniki ilustrujące zakres liniowości, powtarzalność oraz granice wykrywalności dla opracowanej procedury z wykorzystaniem techniki SPME na etapie pobierania próbek analitów zestawiono w Tabeli 13.

 Tabela 13. Obliczone wartości parametrów walidacyjnych dla procedury oznaczania zawartości lotnych związków organicznych w próbkach wodnych, uzyskane z wykorzystaniem techniki SPME na etapie pobierania próbek analitów

	R <sup>2</sup>		LOD (µg/l)		RSD (%)	
Analit	M-SPME	DVB/CAR /PDMS	M-SPME	DVB/CAR /PDMS	M-SPME	DVB/CAR /PDMS
СВ	0.997	0.994	0.031	0.016	11	9
p-X	0.992	0.986	0.022	0.015	9	6
o-X	0.986	0.994	0.018	0.014	12	7

Tabela 13. cd.

	R <sup>2</sup>		LOD (µg/l)		RSD (%)	
Analit	M-SPME	DVB/CAR /PDMS	M-SPME	DVB/CAR /PDMS	M-SPME	DVB/CAR /PDMS
iso-PB	0.994	0.995	0.015	0.018	12	8
n-PB	0.998	0.997	0.013	0.017	14	10
2-CT	0.997	0.993	0.016	0.019	8	6
4-CT	0.995	0.995	0.017	0.018	10	6
t-BB	0.997	0.985	0.011	0.021	12	8
s-BB	0.987	0.992	0.011	0.021	11	8
1,3-DCB	0.989	0.998	0.017	0.017	14	10
1,4-DCB	0.994	0.987	0.017	0.023	13	7
1,2-DCB	0.986	0.988	0.017	0.028	13	7

### 5.3. Wpływ składników matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji lotnych związków organicznych z próbek wody

Zbadano także wpływ matrycy próbki na wynik oznaczeń zawartości lotnych związków organicznych w próbkach wodnych, w analizie tej na etapie przygotowania próbki, do ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej zastosowano technikę M-SPME z dwufazowym układem sorpcyjnym PEG/PDMS. Przedmiotem badań były próbki wody (wody wodociągowej i wody morskiej), do których dodano roztwory metanolowe lotnych związków organicznych, uzyskano w ten sposób próbki o stężeniu 100 µg/l każdego z analitów. Proces pobierania próbek analitów przeprowadzano w optymalnych warunkach ustalonych w poprzednich etapach badań (czas prowadzenia procesu ekstrakcji 30min, temperatura układu 30°C), w przeprowadzonych badaniach nie zastosowano dodatku soli. Do celów porównawczych wyniki przeprowadzonych ekstrakcji zestawiono z wynikami ekstrakcji (bezpośrednio z próbki i z fazy nadpowierzchniowej) uzyskanymi w wyniku ekstrakcji analitów z próbek wody destylowanej o tym samym stężeniu lotnych związków organicznych. W Tabeli 14. zestawiono informacje o polach powierzchni pików chromatograficznych analitów z grupy lotnych związków organicznych, które uzyskano w trakcie badań z wykorzystaniem procedury, w której na etapie ekstrakcji analitów z próbek charakteryzujących się różnym składem matrycy zastosowano technikę M-SPME.

Tabela 14. Pola powierzchni pików analitów z grupy lotnych związków organicznych, uzyskane z<br/>wykorzystaniem procedury analitycznej, w której na etapie zastosowano technikę M-SPME.<br/>HS- proces ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej, DI- proces ekstrakcji analitów z próbki,

	woda morska (HS)	woda wodociągowa (HS)	woda destylowana (HS)	woda destylowana (DI)
СВ	486,5	304,7	511,3	251,0
p-X	919,8	470,4	661,8	303,0
o-X	979,7	555,9	828,4	376,0
isoPB	1568,1	726,4	931,4	398,0
n-PB	1716,7	851,6	985,0	346,0
2-CT	1155,8	682,8	893,3	318,0
4-CT	1070,0	672,8	865,0	321,0
t-BB	2225,3	1031,9	1206,4	298,0
s-BB	2385,8	1096,2	1129,5	256,0
1,3-DCB	895,9	538,3	804,8	237,0
1,4-DCB	901,8	574,6	812,5	274,0
1,2-DCB	1045,2	693,9	1039,3	277,0

Analizując uzyskane wyniki można stwierdzić, że proces ekstrakcji analitów z próbek wody wodociągowej i wody destylowanej przebiegał w podobny sposób, ilość analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS podczas pobierania próbek z wody wodociągowej i wody destylowanej była porównywalna. Jednakże wyraźnie wyższą wydajność procesu ekstrakcji analitów uzyskano podczas ekstrakcji lotnych związków organicznych z próbek wody morskiej, co może być spowodowane przez obecność soli w tych próbkach. Z drugiej strony, wpływ składu matrycy badanych próbek w przypadku ekstrakcji analitów z próbek wody morskiej był i tak znacznie słabszy w porównaniu do wyników uzyskanych w procesie optymalizacji, kiedy do ekstrakcji wykorzystywano roztwory o zasoleniu wynoszącym 30%. Wydajność procesu ekstrakcji lotnych związków organicznych bezpośrednio z próbki była mniejsze o 50% od wydajności ekstrakcji tych analitów z fazy nadpowierzchniowej, co jest zgodne z przyjętymi wcześniej założeniami.

# 6. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PCL/PDMS do pobierania próbek triazyn

Związki z grupy triazyn w dalszym ciągu są stosowane w herbicydach, czyli preparatach niszczących chwasty w uprawach roślin. Związki te jak i produkty ich degradacji charakteryzują się dużą trwałością w środowisku, zdolnością do kumulacji i toksycznością wobec roślin [351]. Z tego powodu jednym z podstawowych działań zapewniających ograniczenie negatywnego wpływu triazyn na zdrowie człowieka jest stała kontrola ich obecności w próbkach środowiskowych, szczególnie w wodzie pitnej i próbkach żywności. Zgodnie z obowiązującymi polskimi przepisami (Dyrektywa 98/83/CE) maksymalna dopuszczalna zwartość pestycydów (w tym i triazyn) w wodzie pitnej wynosi 0,1 µg/l [352], natomiast maksymalny poziom triazyn wg zaleceń opracowanych przez ekspertów z Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych wynosi 3 µg/l [353]. Oznaczanie zawartości triazyn w próbkach środowiskowych wymaga właściwego wykonania procesu pobierania próbek, odpowiedniego dla rodzaju próbki oraz zgodnego z zasadami zapewnienia i kontroli jakości.

Techniką wykorzystywaną do izolacji/wzbogacania triazyn z próbek wodnych może być technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej. W doniesieniach literaturowych można odnaleźć informacje o wykorzystaniu do tego celu włókien ekstrakcyjnych dostępnych w handlu takich jak: PA [354-358], PDMS/DVB [359-363], PDMS [364,365] a także włókien urządzenia do SPME w których jako fazę ekstrakcyjną zastosowano polimery z nadrukiem cząsteczkowym [154,366-368] oraz pochodne polipirolu [369]. Jednakże głównym problemem w przypadku zastosowania wspomnianych włókien na etapie pobierania próbek jest trudna do przewidzenia ilość analitów zatrzymanych na włóknie, ponieważ nie wykazano prostego związku między wartością liczbową współczynnika podziału, charakterem pokrycia ekstrakcyjnego oraz właściwościami analitów, ponadto włókna ekstrakcyjne pokryte filmem PDMS charakteryzują się niewielkim powinowactwem w stosunku do analitów z grupy triazyn.

Celem badań opisanych w tej części pracy było zastosowanie nowego układu sorpcyjnego PCL/PDMS do ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem techniki SPME, a następnie oznaczenie zawartości triazyn w próbkach wodnych z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. Celem przeprowadzonych badań było także wykazanie przydatności włókien ekstrakcyjnych PCL/PDMS do izolacji związków polarnych i średnio polarnych z mediów o podobnej polarności. W trakcie przeprowadzonych badań do celów porównawczych wykorzystano również dostępne handlowo włókno z powłoką PDMS/DVB, które wg informacji zawartych w materiałach przygotowanych przez producenta przeznaczone jest do ekstrakcji amin, oraz lotnych i nitroaromatycznych związków [329]. Optymalizację warunków prowadzenia procesu ekstrakcji triazyn przeprowadzono w inny sposób niż w przypadku procedury opisanej wcześniej, do procedury optymalizacji wykorzystano matematyczne metody planowania eksperymentu. W przeprowadzonych badaniach wyznaczono również wartości liczbowe wybranych parametrów walidacyjnych opracowywanej metodyki analitycznej.

### 6.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów

Matematyczne metody planowania badań doświadczalnych zostały wykorzystane w celu zwiększenia jakości i ilości uzyskiwanej informacji o wpływie zmiennych wejściowych na proces ekstrakcji analitów z grupy triazyn z wykorzystaniem urządzenia do SPME, oraz w celu zmniejszenia liczby pomiarów niezbędnych do uzyskania oczekiwanych informacji, a tym samym zredukowania kosztów i czasu trwania badań. Projektowanie eksperymentu umożliwia identyfikację czynników wpływających na proces, ocenę wielkości tego wpływu i określenie optymalnych poziomów oraz wzajemnych relacji pomiędzy czynnikami. Na etapie optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji za pomocą urządzenia do SPME wykorzystano plany frakcyjne (plan eliminacyjny oraz plan centralny kompozycyjny), dzięki którym zbadano istotność statystyczną parametrów wpływających na wydajność izolacji triazyn z próbek wodnych, jak również wyznaczono optymalne wartości parametrów krytycznych. Jako parametr optymalizowany (zmienną zależną) przyjęto sumę powierzchni pików chromatograficznych analitów z grupy triazyn.

W pierwszym etapie procesu optymalizacji przeprowadzono badania przesiewowe, których celem było określenie parametrów istotnie wpływających na wydajność procesu ekstrakcji. Ograniczenie liczby parametrów ma istotny wpływ na ilość eksperymentów, które należy przeprowadzić w procedurze optymalizacji, szczególnie w przypadku pełnych planów czynnikowych. Biorąc pod uwagę dane literaturowe oraz właściwości fizykochemiczne triazyn zdecydowano, że zmiennymi wejściowymi będą:

- temperatura procesu ekstrakcji analitów,
- zawartość soli w badanej próbce,
- pH próbki.

Na podstawie analizy danych literaturowych można stwierdzić, że czynnikami uwzględnianymi w procesie optymalizacji warunków prowadzenia ekstrakcji za pomocą urządzenia SPME jest bardzo często czas ekspozycji włókna ekstrakcyjnego w badanej próbce, a także czynniki kinetyczne (sposób i szybkość mieszania próbki, wielkość mieszadełka itp.), jednakże uwzględnienie wymienionych czynników razem z parametrami ściśle termodynamicznymi (temperatura, skład próbki) nie jest uzasadnione. Wybór techniki mieszania próbki za pomocą mieszadła magnetycznego w sposób oczywisty narzuca zastosowanie maksymalnej prędkości obrotowej w celu zapewnienia maksymalnej szybkości transportu masy w układzie, bez konieczności prowadzenia optymalizacji tego parametru. Natomiast uwzględnienie czasu prowadzenia ekstrakcji, jako czynnika w planowaniu eksperymentu, wydaje się o tyle niezasadne, że jest to parametr w przewidywalny sposób powiązany z parametrami termodynamicznymi. Charakter zależności ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym od czasu prowadzenia procesu ekstrakcji jest znany, przybiera kształt funkcji logarytmicznej zmierzającej do *plateau* w stanie równowagi. W konsekwencji najbardziej uzasadnione (z punktu widzenia wydajności procesu ekstrakcji jak i czasu trwania procedury analitycznej) jest dokonanie optymalizacji czasu prowadzenia procesu ekstrakcji po ustaleniu optymalnych warunków pod względem termodynamicznym, a więc gwarantującym najkorzystniejsze wartości liczbowe współczynników podziału analitów w danym układzie.

### Określenie optymalnych warunków procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego:

W procedurach optymalizacyjnych zrezygnowano także z określania optymalnego czasu prowadzenia procesu desorpcji, jako zmiennej niezależnej, gdyż trudno jest dokonać optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji w sytuacji, gdy przeniesienie analitów z włókna do kolumny chromatograficznej nie jest ilościowe. W takiej sytuacji nie jest możliwe prawidłowe zinterpretowanie wpływu innych optymalizowanych parametrów na wydajność procesu ekstrakcji. Z tego powodu czas prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego został określony na drodze niezależnych doświadczeń, przed rozpoczęciem procesu optymalizacyjnego za pomocą planów frakcyjnych. Proces desorpcji termicznej analitów prowadzono w temperaturze 200°C w przypadku wykorzystania włókna PCL/PDMS i temperaturze 230°C w przypadku wykorzystania do SPME zostało podyktowane zaleceniami producenta włókna komercyjnego oraz producenta polikaprolaktonu wykorzystanego do przygotowania włókna z dwufazowym systemem sorpcyjnym PCL/PDMS.

Czas prowadzenia procesu desorpcji termicznej analitów z włókna ekstrakcyjnego został wyznaczony po wykonaniu serii operacji ekstrakcji analitów z próbki wzorcowej o stężeniu 125µg/l każdego analitu, trwających 30 minut, przeprowadzanych w temperaturze 40°C. Podczas następujących po sobie procesów ekstrakcji triazyn za pomocą urządzenia do SPME, czas prowadzenia procesu desorpcji termicznej analitów w dozowniku chromatografu był konsekwentnie wydłużany o minutę, od 1 min do 10 min, następnie włókno umieszczano ponownie w dozowniku chromatografu (w tych samych warunkach temperaturowych) i przeprowadzano ponownie proces desorpcji termicznej w celu sprawdzenia czy poprzedni proces desorpcji analitów z włókna był całkowity. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że **czas prowadzenia procesu desorpcji, po który nie zauważono efektu przeniesienia analitów między kolejnymi ekstrakcjami wynosi 6 minut** dla obu włókien. W opisanym doświadczeniu stężenie analitów w próbce było pięciokrotnie wyższe niż stężenie analitów zastosowane w późniejszych etapach procesu optymalizacji, co pozwala przyjąć założenie, że proces desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego w późniejszych etapach procesu optymalizacji również był ilościowy.

### Określenie istotności parametrów procesu:

Badania przesiewowe przeprowadzono w celu wytypowania parametrów operacyjnych procesu (czynników zmiennych niezależnych) mających krytyczny wpływ na wydajność procesu ekstrakcji triazyn za pomocą urządzenia do SPME. Badania przesiewowe przeprowadzono z wykorzystaniem frakcyjnego planu eliminacyjnego typu 2<sup>(3-1)</sup> o rozdzielczości III, wygenerowanego z wykorzystaniem systemu służącego do statystycznej analizy danych *Statistica 10 (StatSoft*, USA). Badania te przeprowadzono w celu minimalizacji liczby prowadzonych doświadczeń, oraz w celu określenia efektów głównych dla badanych zmiennych niezależnych.

W matrycy doświadczeń przewidziano dwukrotne powtórzenia każdego punktu planu, matrycę wygenerowano w kolejności losowej. Zmienną wyjściową (funkcję odpowiedzi), stanowiła suma powierzchni pików analitów. Jak wspomniano wcześniej, wybrano trzy zmienne niezależne o potencjalnie krytycznym znaczeniu dla wydajności procesu ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem urządzenia do SPME. Poszczególnym zmiennym przyporządkowano wartości reprezentujące dolną i górną granicę zakresu operacyjnego, w przypadku przeprowadzonych badań parametry te miały następujące wartości:

- temperatura: 25°C i 40°C;
- stężenie soli (NaCl): 0% i 20 %;
- pH: 5 i 9.

W przeprowadzanych doświadczeniach do ekstrakcji triazyn z próbek wody za pomocą urządzenia do SPME wykorzystano włókno ekstrakcyjne PDMS/DVB, oraz zastosowano stały czas ekspozycji włókna w układzie (15 min), stężenie każdego z analitów (25 µg/l) oraz maksymalną szybkość mieszania próbki. Informacje o wartości zmiennych niezależnych odpowiadających poszczególnym eksperymentom oraz uzyskane wartości funkcji odpowiedzi zestawiono w Tabeli 15.

Lp.	Temperatura [°C]	NaCl [%]	рН [-]	Wartości funkcji odpowiedzi [-]
4	40	20	9	574
2	40	0	5	537
5	25	0	9	414
1	25	0	9	395
3	25	20	5	511
6	40	0	5	575
8	40	20	9	585
7	25	20	5	491

Tabela 15. Matryca doświadczeń planu eliminacyjnego 2<sup>(3-1)</sup> oraz wartości funkcji odpowiedzi uzyskane w wyniku ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem włókna ekstrakcyjnego PDMS/DVB.

Aby określić, które czynniki wejściowe wpływają na wydajność procesu ekstrakcji triazyn w sposób statystycznie istotny, oceny poziomu istotności zmiennych niezależnych dokonano z zastosowaniem analizy wariancji (*ANOVA*). Na Rysunku 32. przedstawiono informacje obrazujące efekt oddziaływania optymalizowanych parametrów procesu ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem urządzenia do SPME na wartości funkcji odpowiedzi w postaci wykresu *Pareto*.



Rysunek 32. Wykres *Pareto* obrazujący efekt oddziaływania badanych czynników procesu na wartości funkcji odpowiedzi.

Jak można zauważyć, dla zaznaczonego na wykresie poziomu ufności (p=0,05), który przyjęto na poziomie 95%, wszystkie parametry mają statystycznie istotny wpływ na wydajność procesu ekstrakcji analitów. Na podstawie wartości standaryzowanych efektów liniowych można stwierdzić, że ilość analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym (suma powierzchni pików oznaczanych triazyn) w największym stopniu zależna jest od temperatury układu i ilości dodanej soli, przy czym wpływ temperatury jest bardziej znaczący.

Zarówno dla temperatury układu jak i dla dodatku soli wartości standaryzowanych efektów liniowych są dodatnie, co wskazuje że zwiększenie wartości tych parametrów prowadzi do zwiększenia ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym, a więc prowadzi do zwiększenia wydajności procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody. Natomiast wpływ pH próbki na wydajność procesu ekstrakcji analitów jest odwrotny, zmniejszenie pH prowadzi do zwiększenia wydajności ekstrakcji analitów z grupy triazyn (ujemna wartość standaryzowanego efektu liniowego). Efekt ten związany ze zmianą pH jedynie nieznacznie przekracza granicę istotności statystycznej przyjętej dla tych badań.

Podsumowując, można stwierdzić, że uzyskane wyniki nie dają podstaw, aby wyeliminować z procedury optymalizacji którykolwiek z badanych parametrów, gdyż wszystkie znacząco wpływają na wydajność procesu ekstrakcji triazyn za pomocą urządzenia do SPME. Ponadto wyniki uzyskane w przypadku zastosowania matematycznych metod planowania badań doświadczalnych są zgodne z obserwacjami opisywanymi w doniesieniach literaturowych dotyczących wpływu parametrów procesu ekstrakcji na wartości liczbowe współczynników podziału analitów między fazy układu.

#### Określenie optymalnych wartości parametrów krytycznych

Aby określić optymalne wartości parametrów krytycznych poszerzono dolną i górną granicę zakresu operacyjnego dla temperatury oraz dla zawartości czynnika wysalającego, w przypadku przeprowadzonych badań parametry te miały następujące wartości:

- temperatura: 40-70°C;
- stężenie soli (NaCl): 12-28 %;
- pH: 5 i 9.

Dla każdego doświadczenia zastosowano identyczny czas ekspozycji włókna ekstrakcyjnego w badanej próbce (15 min), stężenie 25 µg/l każdego z analitów oraz maksymalną szybkość mieszania próbki. W celu optymalizacji parametrów wykorzystano aplikację do wyznaczenia powierzchni odpowiedzi, która jest zestawem technik statystycznych wykorzystywanych do modelowania i analizowania wpływu kilku zmiennych wejściowych na zmienną stanowiącą odpowiedź układu. Również w przypadku zastosowanej matrycy doświadczeń funkcję odpowiedzi stanowiła suma powierzchni pików analitów. W celu wyznaczenia powierzchni odpowiedzi zastosowano plan centralny kompozycyjny, który jest rozwinięciem planów dwupoziomowych o dodatkowe układy centralne i punkty gwiezdne w celu zapewnienia rotalności funkcji informacji [370].

Matrycę doświadczeń wygenerowano w kolejności losowej, ostatecznie plan doświadczeń składał się z 16 układów:

- 8 punktów jądra planu,
- 6 punktów gwiezdnych,
- 2 punktów centralnych.

Wartości odpowiadające poszczególnym eksperymentom oraz wartości funkcji odpowiedzi uzyskane w wyniku ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem włókna PCL/PDMS oraz włókna komercyjnego PDMS/DVB zestawiono w Tabeli 16.

l n	Temperatura	NaCl	рН	Wartości funkc	ji odpowiedzi [-]
∟р.	[°C]	[%]	[-]	PCL/PDMS	PDMS/DVB
8	70.0	28.0	9.0	740	618
12	55.0	33.5	7.0	558	742
13	55.0	20.0	3.6	332	502
2	40.0	12.0	9.0	321	549
1	40.0	12.0	5.0	279	463
14	55.0	20.0	10.4	366	691
15(C)	55.0	20.0	7.0	342	651
4	40.0	28.0	9.0	302	597
16(C)	55.0	20.0	7.0	359	620
6	70.0	12.0	9.0	507	424
9	29.8	20.0	7.0	261	488
7	70.0	28.0	5.0	718	633
11	55.0	6.5	7.0	341	402
5	70.0	12.0	5.0	529	433
3	40.0	28.0	5.0	313	629
10	80.2	20.0	7.0	664	444

Tabela 16. Matryca doświadczeń planu centralnego-kompozycyjnego dla trzech wielkości wejściowych, będących parametrami operacyjnymi procesu ekstrakcji triazyn z wykorzystaniem urządzenia do SPME

W oparciu o uzyskane wartości funkcji sporządzono wykresy powierzchni odpowiedzi z wykorzystaniem modelu uwzględniającego efekty główne liniowe, kwadratowe oraz interakcje dwuczynnikowe. Na Rysunku 33. przedstawiono powierzchnie odpowiedzi uzyskane dla trzech kombinacji zmiennych niezależnych z zastosowaniem włókna PDMS/DVB oraz włókna PCL/PDMS, w każdym przypadku powierzchnia została obliczona przyjmując wartości środkowe trzeciej zmiennej. W przeprowadzonych badaniach zarówno w przypadku włókna handlowego PDMS/DVB jak i włókna PCL/PDMS uzyskane modele wykazywały dość dobre dopasowanie, które opisywane jest wartościami liczbowymi parametru R<sup>2</sup>, które wynoszą odpowiednio 0,92 i 0,88.

Jak można zauważyć, powierzchnie odpowiedzi różnią się istotnie dla obu włókien. W przypadku włókna komercyjnego obecne jest wyraźne optimum zależności sumy powierzchni pików od temperatury, natomiast w przypadku włókna PCL/PDMS nie można zauważyć lokalnego ekstremum. W dalszych badaniach przyjęto następujące optymalne temperatury procesu ekstrakcji: 60°C dla włókna komercyjnego PDMS/DVB oraz temperaturę 70°C dla włókna PCL/PDMS.

Najprawdopodobniej zwiększenie ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PCL/PDMS dla punktów planu o najwyższych temperaturach było spowodowane przejściem polikaprolaktonu w stan ciekły, podczas gdy w niższych temperaturach ma on konsystencję twardego wosku, co może utrudniać dyfuzje analitów do wnętrza powłoki.



Rysunek 33. Powierzchnie odpowiedzi w funkcji optymalizowanych parametrów obliczone dla włókna handlowego PDMS/DVB i włókna PCL/PDMS a) temperatura układu vs stężenie soli, b) temperatura układu vs pH próbki, c) stężenie soli vs pH próbki.

Analizując wygląd graficzny przedstawionych zależności można również zauważyć, że dodatek czynnika wysalającego zwiększa wydajność procesu ekstrakcji triazyn dla obydwu włókien, przy czym, wpływ ten nie jest duży dla badanego zakresu zmienności tego parametru. Analizując wygląd powierzchni odpowiedzi względem wartości pH próbki można zauważyć, że zmiana tego parametru ma znikomy wpływ na wydajność procesu ekstrakcji triazyn z próbek wodnych, co potwierdzają wyniki badań, w których dokonano oceny istotności statystycznej tego parametru. W przeprowadzonych badaniach wzrost wydajności ekstrakcji w wyniku dodatku czynnika wysalającego prowadzącego do wzrostu siły jonowej roztworu jest widoczny w wyglądzie graficznym przedstawionych zależności. Jednakże wybór stężenia czynnika wysalającego podyktowany był także względami praktycznymi- w temperaturze 25°C NaCl tworzy w wodzie roztwór nasycony przy stężeniu ok. 35%, natomiast operowanie roztworem nasyconym wiąże się z szeregiem utrudnień, podczas gdy zmniejszenie stężenia soli do 30% zgodnie z uzyskanymi wynikami nie powoduje drastycznego obniżenia wydajności ekstrakcji. W oparciu o uzyskane wyniki za optymalne przyjęto **stężenie soli równe 30% oraz pH=7** dla prowadzenia procesu ekstrakcji analitów z grupy triazyn z wykorzystaniem obu włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME.

#### Określenie optymalnego czasu prowadzenia procesu ekstrakcji analitów:

Zgodnie z wcześniejszymi założeniami, optymalizacji czasu prowadzenia procesu ekstrakcji dokonano po ustaleniu optymalnych warunków pod względem termodynamicznym, a więc gwarantującym najkorzystniejsze wartości liczbowe współczynników podziału analitów. Aby określić optymalny czas prowadzenia procesu ekstrakcji triazyn z roztworów wodnych z wykorzystaniem urządzenia do SPME wyznaczono profile sorpcji analitów w funkcji czasu. Przeprowadzając proces ekstrakcji w warunkach zoptymalizowanych uzyskano maksymalną ilość analitów zatrzymaną na powierzchni włókna ekstrakcyjnego, co jednakże wiąże się z wydłużeniem czasu prowadzenia ekstrakcji. Z drugiej jednak strony w wyniku wzrostu gradientu stężeń można spodziewać się skrócenia czasu potrzebnego do osiągnięcia stanu równowagi z powodu wzrostu szybkości dyfuzji analitów. Profile sorpcji przedstawiające zależność ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PEG/PDMS oraz włóknie komercyjnym PDMS/DVB od czasu prowadzenia ekstrakcji przedstawiono na Rysunku 34.

Charakter zależności ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym od czasu prowadzenia procesu ekstrakcji jest znany, przybiera kształt funkcji logarytmicznej zmierzającej do *plateau* w stanie równowagi. Jak można zauważyć zarówno dla włókna dostępnego handlowo jak i włókna PCL/PDMS (M-SPME) czas osiągania stanu równowagi wynosi ok. 60 min. Z drugiej strony już po czasie 25 min ilość zatrzymanych analitów stanowi ok. 80% ich wartości równowagowej, dlatego też w trakcie dalszych badań zastosowano **czas prowadzenia procesu ekstrakcji triazyn wynoszący 25min.** 



Rysunek 34. Zależność sumarycznej powierzchni pików chromatograficznych ekstrahowanych analitów od czasu prowadzenia procesu ekstrakcji dla włókien PCL/PDMS i PDMS/DVB.

## 6.2. Udział fazy membranowej włókna PCL/PDMS w procesie ekstrakcji analitów

Chociaż zasadniczym celem zastosowania membrany wykonanej z polidimetylosiloksanu na powierzchni włókna ekstrakcyjnego M-SPME jest fizyczne oddzielenie fazy ekstrakcyjnej od próbki, a tym samym zapewnienie możliwości zastosowania jako sorbentów substancji bedących cieczami, rozpuszczalnych w wodzie, bądź substancji charakteryzujących się niską temperaturą topnienia, to w oczywisty sposób faza membranowa również bierze udział w procesie izolacji analitów. Z tego powodu w przeprowadzonych badaniach zbadano także procentowy udział fazy membranowej opracowanego układu dwufazowego PCL/PDMS w ekstrakcji analitów z grupy triazyn. W tym celu wykonano włókno pokryte wyłącznie filmem polidimetylosiloksanu, charakteryzujące się objętością sorbenta zbliżoną do objętości PDMS na włóknie PCL/PDMS. Następnie w warunkach optymalnych oraz przy użyciu obydwu włókien przeprowadzono ekstrakcje triazyn z wodnych roztworów wzorcowych o stężeniu 25µg/l każdego związku. Do opisu ilościowego tego eksperymentu wykorzystano powierzchnie pików chromatograficznych odpowiadające ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME. Ilość analitów zatrzymanych w fazie ekstrakcyjnej PCL obliczano jako różnicę pomiędzy powierzchniami pików analitów uzyskanych dla włókna PCL/PDMS i włókna PDMS. Informacja o wyznaczonych udziałach obydwu faz układu sorpcyjnego PCL/PDMS w procesie ekstrakcji triazyn z próbek wody zestawiono w Tabeli 17.

Tabela 17.Ilość analitów zatrzymana w poszczególnych fazach układu ekstrakcyjnego PCL/PDMS<br/>w postaci powierzchni pików chromatograficznych oraz udział procentowy fazy<br/>membranowej PDMS. A - pole powierzchni piku analitu zatrzymanego na włóknie PCL/PDMS<br/>oraz w fazach PDMS i PCL

Analit	PCL/PDMS Apcl/pdms	PDMS A <sub>PDMS</sub>	PCL A <sub>PCL</sub>	udział PDMS [%]
Ametryn	84	27	56	33
Atrazyna	104	20	84	19
Prometon	105	28	77	27
Prometryn	86	30	55	35
Propazyna	79	22	56	28
Symazyna	143	20	123	14
Terbutryn	120	44	76	37

Analizując uzyskane wyniki można stwierdzić, że w fazie membranowej (PDMS) zatrzymaniu ulega od 14% do 37% całkowitej ilości analitów pobranych przez włókno ekstrakcyjne PCL/PDMS pomimo, że objętość właściwej fazy polikaprolaktonu jest tylko nieznacznie większa od objętości fazy membranowej. Można zatem potwierdzić znaczące powinowactwo polikaprolaktonu w stosunku do związków z grupy triazyn, decydujące o wysokiej wydajności procesu ekstrakcji tych analitów z wykorzystaniem urządzenia do SPME z włóknem ekstrakcyjnym PCL/PDMS.

# 6.3. Zakres liniowości, powtarzalność i granice wykrywalności stosowanej procedury analitycznej

Zakres liniowości procedury analitycznej, w której na etapie przygotowania próbek wykorzystano urządzenie do SPME został wyznaczony dla obu włókien poprzez przeprowadzenie serii ekstrakcji w optymalnych warunkach (3-krotnie każdy pomiar), z próbek o stężeniach analitów zmieniających się w zakresie 0,1-25µg/l. W Tabeli 18. zestawiono informacje o optymalnych wartościach liczbowych parametrów prowadzenia procesu ekstrakcji triazyn bezpośrednio z próbek wodnych z wykorzystaniem urządzenia do SPME. W przeprowadzonych badaniach zastosowano maksymalną szybkość mieszania próbki (1200rpm).

	TYP WŁÓKNA EKSTRAKCYJNEGO		
Parametry procesu ekstrakcji	PCL/PDMS	PDMS/DVB	
czas procesu ekstrakcji	25 min	25 min	
temperatura procesu ekstrakcji	70°C	60°C	
zawartość czynnika wysalającego	30%	30%	
pH próbki	7	7	

Tabela 18. Optymalne warunków prowadzania procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody z zastosowaniem techniki DI-SPME

Wartości liczbowe jednego z podstawowych parametrów walidacyjnych procedury analitycznej, jakim są granice wykrywalności (LOD) zostały wyznaczone w oparciu o obliczone wartości stosunku sygnału analitycznego do średniego poziomu szumu równego 3:1. Powtarzalność procedury analitycznej z wykorzystaniem obydwu włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME porównano biorąc pod uwagę wartości liczbowe względnego odchylenia standardowego (RSD) uzyskane w wyniku przeprowadzenia pięciu równoległych procesów ekstrakcji triazyn z próbek roztworu modelowego o zawartości 5µg/l każdego analitu. Uzyskane wyniki zestawiono w Tabeli 19.

Analit	R <sup>2</sup>		LOD (µg/l)		RSD (%)	
Anant	M-SPME	PDMS/DVB	M-SPME	PDMS/DVB	M-SPME	PDMS/DVB
Ametryn	0.990	0.990	0.67	0.65	12	7
Atrazyna	0.985	0.996	0.75	0.45	7	8
Prometon	0.997	0.988	0.15	0.75	11	8
Prometryn	0.986	0.990	0.50	0.31	13	12
Propazyna	0.993	0.991	0.12	0.56	7	6
Symazyna	0.992	0.995	0.52	0.44	8	8
Terbutryn	0.996	0.994	0.13	0.42	8	15

 Tabela 19. Obliczone wartości parametrów walidacyjnych dla procedury oznaczania zawartości triazyn, uzyskane z wykorzystaniem urządzenia do SPME na etapie pobierania próbek

Obliczone wartości liczbowe współczynników korelacji procedury analitycznej (R<sup>2</sup>) z zastosowaniem urządzenia do SPME na etapie przygotowania próbki przyjmują podobne wartości, wynoszące powyżej wartości liczbowej równej 0,985 dla obydwu włókien, co jest potwierdzeniem występowania liniowej zależności ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym w funkcji ich stężenia w próbce, w badanym zakresie stężeń. Zatem opracowana procedura analityczna charakteryzuje się szerokim zakresem liniowości, również w obszarze wysokich stężeń. Porównując informacje charakteryzujące precyzję obydwu procedur analitycznych można stwierdzić, że rozrzut uzyskanych wyników w przypadku włókna PCL/PDMS jest nieznacznie większy niż dla

włókna handlowego PDMS/DVB. Tym nie mniej wartości liczbowe względnego odchylenia standardowego wynoszące poniżej wartości liczbowej równej 15% przy tym poziomie stężeń są akceptowalne.

Wartości liczbowe granic wykrywalności dla proponowanej procedury analitycznej oznaczania triazyn w próbkach wody z wykorzystaniem na urządzenia do M-SPME na etapie pobierania próbek analitów wynoszą 0,3-2,3 µg/l. Obliczone granice wykrywalności dla procedury z wykorzystaniem włókna PCL/PDMS są jedynie nieznacznie niższe od wartości uzyskanych z wykorzystaniem włókna handlowego PDMS/DVB.

## 6.4. Wpływ składników matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody

Zbadano także wpływ składników matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji triazyn z próbek wodnych z wykorzystaniem urządzenia M-SPME z dwufazowym układem sorpcyjnym PCL/PDMS. Przedmiotem badań były próbki wody wodociągowej i wody rzecznej, do których dodano rozpuszczalnikowe roztwory triazyn uzyskując w ten sposób próbki o stężeniu 5 µg/l każdego z analitów. Ekstrakcje przeprowadzano w optymalnych warunkach ustalonych w poprzednich badaniach (25min, 70°C, pH=7, 30% NaCl). Dla celów porównawczych wyniki zestawiono z wynikami procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody destylowanej o tym samym stężeniu analitów, przeprowadzonej w warunkach optymalnych. W Tabeli 20. zestawiono informacje o polach powierzchni pików chromatograficznych triazyn, które uzyskano w trakcie badań z wykorzystaniem procedury, w której na etapie ekstrakcji analitów z próbek charakteryzujących się różnym składem matrycy zastosowano technikę M-SPME.

	woda destylowana	woda wodociągowa	woda rzeczna
Ametryn	18.4	31.3	28.5
Atrazyna	15.8	18.5	21.5
Prometon	15.0	18.5	36.4
Prometryn	24.9	30.4	31.7
Propazyna	20.0	19.8	31.2
Symazyna	18.7	22.6	31.6
Terbutryn	9.7	29.7	32.3

Tabela 20. Pola powierzchni pików analitów z grupy triazyn, uzyskane z wykorzystaniem procedury analitycznej, w której na etapie przygotowania próbki zastosowano technikę M-SPME.

Analizując uzyskane wyniki oznaczania triazyn w próbkach wodnych można stwierdzić, że proces ekstrakcji z próbek wody wodociągowej i wody rzecznej charakteryzował się podobnymi wynikami ilościowymi analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym PCL/PDMS, oraz że wydajność procesu ekstrakcji analitów z próbek wody wodociągowej i rzecznej była nieznacznie wyższa niż w przypadku procesu ekstrakcji triazyn z próbek wody destylowanej. Jednakże ze względu na to, że otrzymane wyniki są tego samego rzędu wpływ matrycy próbki na wydajność procesu ekstrakcji triazyn z próbek wodnych z zastosowaniem techniki M-SPME można określić jako nieznaczny, co w przypadku bardzo małego stężenia analitów, potwierdza przydatność techniki M-SPME do pobierania próbek analitów obecnych w próbce na poziomie ppb przed etapem ich chromatograficznego rozdzielania i oznaczania.

# 7. Zastosowanie techniki M-SPME z wykorzystaniem układu sorpcyjnego PIL/PDMS do pobierania próbek fenoli

Związki z grupy fenoli w dalszym ciągu stosowane są do produkcji środków dezynfekujących i bakteriobójczych o szerokim spektrum działania, środków konserwacji drewna i jako produkty pośrednie w produkcji barwników i farmaceutyków [371,372] oraz do procesów wybielania w produkcji papieru [373]. Między innymi fenol stosowany jest w stomatologii, natomiast pochodne fenolu np. m-krezol, tymol, triklosan, heksachlorofen stosowane sa jako dodatki do mydła a także do produkcji herbicydów, insektycydów i fungicydów fenoksyoctowych. Jednakże związki fenolowe, szczególnie chlorofenole charakteryzują się niekorzystnym działaniem na zdrowie ludzkie, działają drażniaco i mogą wywoływać oparzenia. Obecność zwiazków z grupy fenoli w wodzie pitnej spowodowane jest najczęściej jako wynik uboczny chlorowania wody i jest najbardziej widoczna w parametrach organoleptycznych wody pitnej - w jej smaku i zapachu. Związki fenolowe powstają również w wyniku rozkładu drewna i liści, skąd dostają się do gleby i wód powierzchniowych [373]. Ze względu na toksyczność, zdolność do bioakumulacji i trwałość związków z grupy fenoli w środowisku konieczna jest stała kontrola ich obecności w próbkach środowiskowych, szczególnie w wodzie pitnej i próbkach żywności. Eksperci Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (USEPA) oraz Światowej Organizacji Zdrowia zaklasyfikowali wiekszość związków z grupy fenoli jako główne zanieczyszczenia środowiska [374,375], natomiast w opracowaniach przygotowanych przez ekspertów z Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem można odnaleźć informacje o tym, że 2,4,6-trichlorofenol jest związkiem prawdopodobnie rakotwórczym dla człowieka. W ustawodawstwie europejskim (dyrektywa Rady 98/83/WE) brak jest informacji o maksymalnej, dopuszczalnej zawartości dla tej grupy związków w wodzie przeznaczonej do spożycia. Wytyczne dla wody pitnej sprecyzowane są dla każdego związku osobno, jedynie ze względów organoleptycznych zalecane utrzymanie zawartości chlorofenoli na poziomie powyżej 0,1µg/l [376]. Większość ludzi

może być narażona na bardzo niskie poziomy chlorofenoli w wodzie do picia uzdatnianej w procesie chlorowania, w konsekwencji monitorowanie zawartości związków fenolowych wymaga procedur, których istotnym elementem jest etap izolacji/wzbogacania analitów. Eksperci US EPA zalecają wykorzystanie do tego celu techniki ekstrakcji ciecz-ciecz [377,378], jednakże ze względu na konieczność stosowania w niej toksycznych rozpuszczalników organicznych oraz długi czas wykonywania procedury ta tradycyjna technika ekstrakcji zastępowana jest przez szybszą, bardziej selektywną i przyjazną środowisku technikę mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej [379].

Do ekstrakcji związków z grupy fenoli z próbek środowiskowych, biologicznych czy żywności wykorzystywane są włókna ekstrakcyjne urządzenia do SPME dostępne handlowo, takie jak włókno z polarnym sorbentem PA [379,380], oraz włókna PDMS/DVB [381] i CAR/PDMS [100], jednakże w przypadku zastosowania takich pokryć ekstrakcyjnych do pobierania polarnych analitów z polarnych mediów możliwe staje się niekorzystne zjawisko konkurowania analitów i składników matrycy o miejsca aktywne adsorbentu. Biorąc pod uwagę wspomniane ograniczenia oraz fakt, że liczba handlowo dostępnych pokryć ekstrakcyjnych jest ograniczona, powstała potrzeba syntezy nowych materiałów sorpcyjnych, które mogą być wykorzystane do pokrycia włókna urządzenia do SPME, w literaturze można odnaleźć informacje o wykorzystaniu do tego celu materiałów takich jak: polimery z przewodzące [131,136,382], sorbenty otrzymywane za pomocą technik zol-żel [186,190,383] a nanorurki węglowe [236,237,384] i ciecze jonowe [335-338,385].

W ramach prowadzonych badań podjęto próbę zastosowania cieczy jonowych do przygotowania nowych układów sorpcyjnych wg koncepcji M-SPME (PIL/PDMS) a następnie zastosowania ich do ekstrakcji fenoli bezpośrednio z próbek wodnych. Jako polimerową ciecz jonową wykorzystaną do przygotowania włókna ekstrakcyjnego zastosowano poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy) (poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]))- ciecz jonową szerzej opisaną w rozdziale III.3., określaną w literaturze jako bardzo polarną i z tego powodu wykorzystywaną do ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej- lotnych kwasów tłuszczowych, alkoholi i fenoli [335-338].

### 7.1. Optymalizacja warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów

Na podstawie informacji dostępnych w opracowaniach literaturowych wybrano następujące zmienne niezależne, które mają krytyczne znaczenie dla wydajności procesu ekstrakcji fenoli z próbek wodnych z wykorzystaniem włókna ekstrakcyjnego urządzenia do SPME, na którym osadzono polimerową ciecz jonową poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]):

- czas ekspozycji włókna ekstrakcyjnego w układzie,
- sposób i szybkość mieszania próbki,
- temperatura i czas desorpcji analitów z włókna,
- temperatura procesu ekstrakcji,

- zawartość soli w próbce,
- pH próbki.

W literaturze dostępne są informacje, że wartości liczbowe współczynników dyfuzji analitów z grupy fenoli znacząco się różnią, co w konsekwencji prowadzi do tego, że równowagowe czasy ekstrakcji poszczególnych analitów będą przyjmowały odmienne wartości, z tego powodu uwzględnienie czasu procesu ekstrakcji w planach czynnikowych, w których jako zmienną zależną przyjęto sumę powierzchni pików chromatograficznych analitów jest nieodpowiednie. Z tego powodu także w przeprowadzonych badaniach czas ekspozycji włókna ekstrakcyjnego w układzie nie został uwzględniony w planach optymalizacyjnych, gdyż charakter zależności ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym od czasu prowadzenia procesu ekstrakcji jest znany, przybiera kształt funkcji logarytmicznej zmierzającej do *plateau* w stanie równowagi. Dostępne są także opracowania literaturowe, w których opisano zależność ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym w funkcji czasu. Wykazano w nich, że układ osiąga stan równowagi dla najbardziej polarnych analitów z grupy fenoli (takich jak fenol i chlorofenol) już po 10-20 minutach, podczas gdy dla tych mniej polarnych (takich jak pentachlofenol) równowagowy czas ekstrakcji wynosi ponad 80 minut [381]. Z tego powodu, podczas prowadzonych badań zastosowano czas ekspozycji włókna w układzie równy 30 minut. W związku z tym, że dla części analitów ekstrakcja miała charakter nierównowagowy czas procesu ekstrakcji oraz pozostałe parametry termodynamiczne wpływające na stan równowagi w układzie były ściśle kontrolowane, aby zapewnić powtarzalność wyników. Próbkę mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego z maksymalną szybkość mieszania, co związane jest z właściwościami kinetycznymi układu. Proces ekstrakcji fenoli z fazy nadpowierzchniowej nad badaną próbką przeprowadzono z wodnych roztworów wzorcowych, w których stężenie każdego z analitów wynosiło1500 µg/l.

W przeprowadzonych badaniach zrezygnowano także z włączenia do planów optymalizacyjnych czasu i temperatury prowadzenia procesu desorpcji. Proces **desorpcji termicznej** analitów prowadzono w temperaturze 170°C, co zostało podyktowane informacjami o odporności termicznej zastosowanej cieczy jonowej, które można odnaleźć w opracowaniach literaturowych. Natomiast czas prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego został określony w trakcie niezależnych doświadczeń, poprzez wykonanie serii następujących po sobie procesów ekstrakcji za pomocą urządzenia do SPME, po których następowała desorpcja termiczna analitów w dozowniku chromatografu. Po wykonaniu kolejnego procesu ekstrakcji czas prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókno umieszczano ponownie w dozowniku chromatografu i ponownie przeprowadzano proces desorpcji termicznej w celu sprawdzenia czy poprzedni proces desorpcji był całkowity. W wyniku przeprowadzanych doświadczeń określono **czas prowadzenia procesu desorpcji, który wynosi 6 minut.** 

Podobnie jak w przypadku optymalizacji procesu ekstrakcji analitów z grupy triazyn, proces optymalizacji procesu ekstrakcji fenoli z wykorzystaniem urządzenia do SPME wykonano z użyciem systemu komputerowego do statystycznej analizy danych *Statistica 10.* Za pomocą narzędzi dostępnych w programie określono w jakim stopniu czynniki wejściowe (zmienne niezależne) wpływają na wydajność procesu ekstrakcji fenoli, oraz wyznaczono optymalne wartości liczbowe parametrów operacyjnych. Określenia stopnia w jakim optymalizowane parametry wpływają na wydajność procesu ekstrakcji fenoli dokonano z zastosowaniem analizy wariancji, efekt oddziaływania parametrów procesu ekstrakcji z wykorzystaniem urządzenia do SPME na wartości funkcji odpowiedzi zobrazowano w postaci wykresu *Pareto*, który przedstawiono na Rysunku 35. Zdarza się że optymalizowane w tej części badań czynniki wpływają na końcową wydajność procesu ekstrakcji w sposób nieliniowy, dlatego w oparciu o uzyskane wartości funkcji odpowiedzi sporządzono wykresy powierzchni odpowiedzi z wykorzystaniem modelu uwzględniającego efekty główne liniowe (L), efekty kwadratowe (Q) oraz interakcje dwuczynnikowe.

Na podstawie wartości standaryzowanych efektów liniowych i kwadratowych (nieliniowych) można stwierdzić, że ilość analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym (prezentowana jako suma powierzchni pików oznaczanych fenoli) **w największym stopniu zależna jest od dodatku soli i pH próbki,** na przestawionym wykresie można też zauważyć, że największy wpływ na wydajność ekstrakcji następuje przez ustalenie na odpowiednim poziomie **dwóch czynników jednocześnie-zawartości soli w próbce i temperatury** układu (1L wz. 2L). Wartości standaryzowanych efektów liniowych dla wszystkich parametrów są dodatnie, co wskazuje że zwiększenie wartości tych parametrów prowadzi do zwiększenia ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym, a więc prowadzi do zwiększenia wydajności procesu ekstrakcji fenoli z próbek wody.



Rysunek 35. Wykres *Pareto* obrazujący efekt oddziaływania badanych czynników procesu na wartości funkcji odpowiedzi. L-efekt liniowy, Q-efekt kwadratowy, wz.-względem.

Optymalne wartości liczbowe parametrów operacyjnych mających krytyczny wpływ na wydajność procesu ekstrakcji fenoli za pomocą urządzenia do SPME wyznaczono z zastosowaniem frakcyjnego planu centralnego kompozycyjnego, oraz aplikacji do wyznaczenia powierzchni odpowiedzi. Za zmienną wyjściową (funkcję odpowiedzi) przyjęto sumę powierzchni pików chromatograficznych oznaczanych związków z grupy fenoli. Matrycę doświadczeń wygenerowano w kolejności losowej, plan składał się z 6 punktów gwiezdnych oraz 10 punktów centralnych. Zakresy optymalizowanych parametrów wynosiły:

- temperatura: 35-65°C
- stężenie czynnika wysalającego: 11-33%,
- pH: 4-9

Wartości odpowiadające poszczególnym eksperymentom ekstrakcji fenoli z fazy nadpowierzchniowej z wykorzystaniem włókna urządzenia do SPME pokrytego cieczą jonową zestawiono w Tabeli 21.

Lp.	Temperatura [°C]	NaCl [%]	pH [-]
10	75,2	22,0	7,0
7	65,0	33,0	4,0
8	65,0	33,0	9,0
17 ©	50,0	22,0	7,0
6	65,0	11,0	9,0
11	50,0	3,5	7,0
15 ©	50,0	22,0	7,0
2	35,0	11,0	9,0
23 ©	50,0	22,0	7,0
20 ©	50,0	22,0	7,0
19 ©	50,0	22,0	7,0
1	35,0	11,0	4,0
4	35,0	33,0	9,0
5	65,0	11,0	4,0
18 ©	50,0	22,0	7,0
9	24,8	22,0	7,0
13	50,0	22,0	2,8

Tabela 21. Matryca doświadczeń planu centralnego-kompozycyjnego dla trzech wielkości wejściowych, będących parametrami operacyjnymi procesu ekstrakcji fenoli z wykorzystaniem techniki HS-SPME

Tabela 21. cd.

14	50,0	22,0	11,2
16 ©	50,0	22,0	7,0
21 ©	50,0	22,0	7,0
22 ©	50,0	22,0	7,0
3	35,0	33,0	4,0
12	50,0	40,5	7,0

Na Rysunku 36. przedstawiono powierzchnie odpowiedzi uzyskane dla trzech kombinacji zmiennych niezależnych dla procesu ekstrakcji fenoli z zastosowaniem włókna urządzenia do SPME z filmem cieczy jonowej, w każdym przypadku powierzchnia została obliczona przyjmując wartości środkowe trzeciej zmiennej. Do opisu ilościowego tego eksperymentu wykorzystano powierzchnie pików chromatograficznych odpowiadające ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym.



Rysunek 36. Obliczone powierzchnie odpowiedzi w funkcji optymalizowanych parametrów. a) pH próbki vs temperatura, b) pH próbki vs stężenie soli, c) stężenie soli vs temperatura układu.
Analizując wygląd graficzny przedstawionych zależności można zauważyć, że na powierzchniach odpowiedzi obecne są wyraźne optima zależności sumy powierzchni pików od optymalizowanych parametrów. Przestawione na wykresach lokalne ekstrema potwierdzają przewidywane na podstawie opracowań literaturowych zależności parametrów od wydajności procesu ekstrakcji fenoli z wykorzystaniem urządzenia do SPME. Przeprowadzone badania potwierdzają także zależności między parametrami opisane w badaniu z wykorzystaniem wykresu *Pareto*, na którym zobrazowano efekty oddziaływania optymalizowanych czynników.

Analizując wygląd powierzchni odpowiedzi uzyskanych dla trzech kombinacji zmiennych niezależnych można zauważyć, że największy wpływ na wydajność procesu ekstrakcji fenoli z fazy nadpowierzchniowej nad próbką ma zawartość czynnika wysalającego, widoczne jest także, że zwiększenie wartości tego parametru prowadzi do zwiększenia wartości wyjściowej funkcji, a więc prowadzi do zwiększenia ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym urządzenia do SPME pokrytym cieczą jonową poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]). Wybór stężenia soli podyktowany był także względami praktycznymi- siarczan sodu tworzy w wodzie roztwór nasycony przy stężeniu ok. 35%, operowanie roztworem nasyconym czy przesyconym wiąże się z szeregiem utrudnień związanych z jego niestabilnością, takimi jak krystalizacja nadmiaru soli oraz osadzanie jej na włóknie ekstrakcyjnym, urządzeniu do SPME oraz w dozowniku chromatografu. Zgodnie z uzyskanymi wynikami zmniejszenie stężenia soli do 30% nie powoduje drastycznego obniżenia wydajności ekstrakcji, dlatego za **optymalne przyjęto stężenie soli równe 30%.** 

Aby uzyskać największą wydajność procesu ekstrakcji analitów zdolnych do dysocjacji istotne jest zapewnienie odpowiedniego pH próbki, alby zapewnić neutralną formę ekstrahowanych analitów. Fenole od alkoholi wyodrębnia się w jako oddzielną klasę związków przede wszystkim z powodu ich większej kwasowości. Wartość liczbowa parametru pK<sub>a</sub> fenolu wynosi około 10, a więc jest on o kilka rzędów wielkości silniejszym kwasem niż alkohole. Obecność pierścienia aromatycznego w pobliżu grupy hydroksylowej zapewnia możliwość odszczepienia atomu wodoru od tej grupy, ponadto podstawniki elektronoakceptorowe w pozycjach orto i para w stosunku do grupy hydroksylowej zwiększają kwasowość fenoli. W opracowaniach literaturowych można odnaleźć także informacje, że niskie wartości liczbowe parametru pKa związków z grupy fenoli wskazują również na ich większą zdolność do tworzenia wiązań wodorowych z polarnymi cieczami jonowymi zawierającymi anion chlorkowy [Cl<sup>-</sup>] [336]. Natomiast w przypadku ekstrakcji analitów z grupy nitrofenoli, ze względu na wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe tworzące się między grupą nitrową a hydroksylową proces ekstrakcji z wykorzystaniem włókien pokrytych cieczą jonową poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) odbywa się głównie poprzez wiązania dyspersyjne. Również w przypadku innych analitów o wysokich wartościach liczbowych parametru pK<sub>a</sub> dominujący sposób wiązania tych analitów z polimerową cieczą jonową następuje poprzez wiązania dyspersyjne. Pomimo że wiązki fenolowe mają charakter słabych kwasów i w przypadku procesu ich ekstrakcji najkorzystniejsze jest niskie pH próbki, to jednakże w połaczeniu z wysokim zasoleniem próbki badanego medium

wydajność procesu ekstrakcji jest znacząco obniżona. Efekt ten może być związany z obecnością w próbce bardziej kwasowych cząsteczek, które mogą konkurować z analitami o miejsca wiązania wodoru na włóknie ekstrakcyjnym pokrytym polimerową cieczą jonową poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) [335]. Obniżenie wydajności procesu ekstrakcji fenoli w wyniku zastosowania niskiego pH próbki w połączeniu z jej wysokim zasoleniem można dostrzec analizując wygląd graficzny powierzchni odpowiedzi w funkcji optymalizowanych parametrów.

W opracowaniach literaturowych można odnaleźć także informacje, że wartości liczbowe pKa analitów z grupy fenoli znacząco się różnią, co w konsekwencji prowadzi do tego, że wpływ pH próbki na poszczególne anality będzie różny, co jest prawdopodobną przyczyną kłopotów z ustaleniem wpływu pH próbki na wydajność ekstrakcji za pomoca planów czynnikowych, w których jako zmienną zależną przyjęto sumę powierzchni pików chromatograficznych analitów. W przypadku ekstrakcji chlorofenoli zwiększenie kwasowości próbki powoduje wzrost wydajności ekstrakcji dla tych analitów, efekt ten jest bardziej znaczący dla 2,4,6-trichlorofenolu niż w przypadku 2,4-dichlorofenolu ze względu na ilość atomów chloru wpływających na wzrost kwasowości związku. Przy niskich wartościach pH równowaga kwasowo-zasadowa dla chlorofenoli przenosi znacznie kierunku obojętnych form, które mają większe powinowactwo w stosunku do fazy gazowej nad roztworem, zatem wydajność ekstrakcji fenoli z fazy nadpowierzchniowej będzie wyższa [80]. Rozpuszczalność chlorofenoli w wodzie zmniejsza się wraz ze wzrostem liczby atomów chloru w cząsteczce, jednakże dla 2,4,6-trichlorofenolu obserwuje się zmniejszenie wydajności ekstrakcji w próbkach o odczynie obojętnym, co można wyjaśnić przez powstanie efektu mezomerycznego między atomami chloru w pozycji 2, 4, 6, dzięki któremu następuje podwyższenie gęstości elektronowej w układzie aromatycznym oraz obniżenie kwasowości protonu grupy fenolowej. Natomiast efekt indukcyjny wynikający z wysokiej elektroujemności atomów chloru, działa przeciwstawnie do efektu mezomerycznego i zwiększa kwasowość związku, jednakże efekt ten ma krótki zasięg i ma on udział tylko w przypadku atomu chloru w pozycji 2 i 6. W przypadku 2-nitrofenolu w wyniku tworzenia międzycząsteczkowych wiązań wodorowych zmniejsza się jego rozpuszczalność w próbce, czego skutkiem jest zwiększenie powinowactwa tego związku w stosunku fazy nadpowierzchniowej i do powłoki ekstrakcyjnej, natomiast 4-nitrofenol tworzy wiązania wodorowe z próbką, co prowadzi do obniżenia wydajności ekstrakcji tego związku [124].

Trudności z wyjaśnieniem wzajemnej relacji pH próbki i zawartości soli mogą wynikać także z nie do końca poznanej zależności wartości liczbowej współczynnika podziału i obecności innych związków wprowadzanych do badanej próbki wraz z roztworami buforowymi podczas ustalania pH próbki. W przypadku zastosowania planów frakcyjnych do optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów założenie, iż interakcje wyższego rzędu nie występują nie zawsze jest możliwe do spełnienia. Zdarza się że interakcje te występują i przy pewnych wartościach pozostałych wielkości wejściowych jeden z czynników (w tym przypadku pH próbki) może mieć ujemny wpływ na wartość wyjściową funkcji odpowiedzi. Interakcje wyższego rzędu (wyższe niż dwuczynnikowe)

są szczególnie trudne do wykrycia, dlatego ostatecznie zrezygnowano z ustalania pH próbki z wykorzystaniem buforów, **podając dalszej analizie próbki o odczynie obojętnym.** 

W oparciu o uzyskane wyniki można także stwierdzić jednoznacznie, że zastosowanie podwyższonej temperatury wpływa na podwyższenie wartości liczbowych funkcji odpowiedzi, a więc ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym pokrytym cieczą jonową, co niewątpliwie wynika ze zwiększenia transportu analitów z roztworu do fazy nadpowierzchniowej. Jednakże pamiętając o tym, że zbyt wysoka temperatura może powodować desorpcję analitów z włókna ekstrakcyjnego i zmniejszenie wartości liczbowej współczynnika podziału, za **optymalną ustalono temperaturę układu równą 65°C.** 

Jednym z głównych celów przeprowadzonych badań było podjęcie próby wykorzystania włókien ekstrakcyjnych z filmem cieczy jonowych w koncepcji M-SPME. Z tego powodu przygotowano włókna ekstrakcyjne z dwufazowym systemem sorpcyjnym (PIL/PDMS), w których na filmie polimerowej cieczy jonowej poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) osadzono powłokę membranową z polidimetylosiloksanu. Obecność hydrofobowej membrany miała umożliwić zastosowanie przygotowanych włókien ekstrakcyjnych do procesu ekstrakcji analitów bezpośrednio z próbek wodnych bez ryzyka rozpuszczenia czynnika ekstrakcyjnego w badanym medium.

Na tym etapie badań przystąpiono więc do optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów z grupy fenoli bezpośrednio z próbki badanego medium, z wykorzystaniem włókien ekstrakcyjnych PIL/PDMS. Niestety pomimo udanej próby przygotowania dwufazowych układów sorpcyjnych z cieczą jonową oraz faktu, że przygotowane włókna PIL/PDMS pomyślnie przeszły testy rozpuszczalności w wodzie oraz testy odporności termicznej, podczas badań optymalizacyjnych obserwowano narastający z każdą przeprowadzoną analizą spadek wydajności ekstrakcji, widoczny w postaci uzyskiwania coraz niższych wartości funkcji odpowiedzi, a więc mniejszej ilości analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym. Pomimo tego, że w początkowych badaniach wytrzymałości włókien PIL/PDMS nie obserwowano uszkodzenia mechanicznego włókna ekstrakcyjnego lub ubytku fazy sorpcyjnej pod wpływem temperatury czy kontaktu z medium polarnym, to w toku przeprowadzanych badań optymalizacyjnych nastąpił znaczny ubytek fazy sorpcyjnej, uniemożliwiający dalsze badania.

Wymycie fazy ekstrakcyjnej lub jej uszkodzenie spowodowane było prawdopodobnie przez bezpośredni kontakt włókien PIL/PDMS z próbkami o zróżnicowanym pH oraz dużej zawartości soli. W trakcie wstępnych badań ukierunkowanych na określenie wytrzymałości przygotowanych włókien umieszczano je w próbkach wody destylowanej o odczynie obojętnym. W badaniach tych nie uwzględniono jednak, że kwasowość badanego medium jest również istotnym parametrem w kontekście wytrzymałości powłoki ekstrakcyjnej urządzenia do SPME, ponieważ niektóre materiały sorpcyjne w środowiskach silnie zasadowych lub silnie kwasowych mogą ulegać uszkodzeniu. W przeprowadzonych badaniach optymalizacyjnych pH próbek mieściło się w przedziale 2,8-11,2, silna kwasowość lub zasadowość próbki była prawdopodobną przyczyną degradacji pokrycia ekstrakcyjnego. Zastosowanie w przeprowadzonych badaniach wysokiego stężenia soli jest również czynnikiem wpływającym na wytrzymałość pokrycia ekstrakcyjnego, w wyniku osadzania się soli na włóknie ekstrakcyjnym staje się ono dużo bardziej wrażliwe na uszkodzenia mechaniczne i bardziej kruche.

Z powodu degradacji warstwy ekstrakcyjnej włókien PIL/PDMS zrezygnowano z dalszych etapów optymalizacji procesu ekstrakcji analitów z grupy fenoli z wykorzystaniem techniki M-SPME oraz zrezygnowano z określania wartości liczbowych wybranych parametrów walidacyjnych stosowanej procedury analitycznej, gdyż uzyskiwane wyniki charakteryzowały się zbyt dużymi wartościami liczbowymi względnego odchylenia standardowego. Ze względu na degradację pokrycia ekstrakcyjnego poli([ViHIm<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]) w wyniku bezpośredniego kontaktu włókna z próbką wodną zaleca się stosowanie włókien z filmem polarnej cieczy jonowej wyłącznie do ekstrakcji analitów z fazy nadpowierzchniowej.

Zasadniczym celem zastosowania membrany wykonanej z polidimetylosiloksanu na powierzchni włókna ekstrakcyjnego M-SPME jest fizyczne oddzielenie fazy ekstrakcyjnej od próbki a tym samym umożliwienie zastosowania jako sorbentów substancji rozpuszczalnych w wodzie, dlatego konieczne jest kontynuowanie badań ukierunkowanych na dobór optymalnych grubości filmu materiałów sorpcyjnych w układzie PIL/PDMS, co jest niezwykle istotnym etapem badań ze względu na wytrzymałość mechaniczną przygotowanych włókien. Konieczne jest także zbadanie zależności wytrzymałości pokrycia ekstrakcyjnego od składników obecnych w próbce badanego medium. Biorac pod uwagę wyniki dotychczasowych badań przebiegu procesu izolacji/wzbogacania analitów za pomocą membranowej wersji techniki SPME oczekuje się, że po uzyskaniu odpowiedniej wytrzymałości mechanicznej przygotowanych włókien PIL/PDMS możliwe będzie uzyskanie znaczącego efektu wzbogacenia oraz wysokiej wydajności procesu ekstrakcji. Ze względu na wyjątkowe właściwości cieczy jonowych oraz eliminację niedogodności związanych z mechanizmem ekstrakcji opartym na adsorpcji, zastosowanie cieczy jonowych w koncepcji M-SPME może przyczynić się do dużego rozwoju w zakresie badań nad zastosowaniem techniki SPME w praktyce analitycznej oraz dać początek nowym kierunkom rozwoju tej techniki, z tego powodu badania w tym zakresie z pewnością będą kontynuowane.

## Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone studium literaturowe oraz wyniki badań własnych dotyczą w głównej mierze szerokiego spektrum metod izolacji i wzbogacania analitów, które wydaja się niezbędne do pełnego zrozumienia problemów przygotowania ciekłych próbek środowiskowych do analizy chromatograficznej zawartych w niej związków z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska. W wyniku analizy danych literaturowych przeprowadzonej w trakcie trwania studiów doktoranckich sformułowano następujące wnioski, które stały się podstawą do podjęcia badań laboratoryjnych przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy:

- jednym z podstawowych działań zapewniających ograniczenie negatywnego wpływu organicznych zanieczyszczeń środowiska na zdrowie człowieka jest stała kontrola ich obecności w próbkach środowiskowych, w tym szczególnie w próbkach wodnych, często zanieczyszczonych przez materię organiczną
- potrzebne jest opracowywanie nowych metodyk oznaczania zawartości związków, bardziej przyjaznych środowisku, zgodnych z założeniami zrównoważonego ekorozwoju i zasadami zielonej chemii, mniej czasochłonnych i pracochłonnych
- zastosowanie technik bezrozpuszczalnikowych w analityce przyczyni się do dużych ekonomicznych oszczędności związanych z zakupem rozpuszczalników o wysokiej czystości, kosztami zorganizowania systemu zbierania i utylizacji zlewek rozpuszczalnikowych oraz pozwoli na zmniejszenie ekspozycji personelu laboratoryjnego na pary szkodliwych związków
- monitorowanie zawartości związków występujących w próbkach na niskich poziomach stężeń wymaga procedur analitycznych ze wstępnym etapem izolacji/wzbogacania analitów, gdyż większość technik analitycznych jest niedostatecznie czuła, aby zapewnić możliwość bezpośredniego oznaczania śladowych ilości składników
- szczególnie przydatną techniką stosowaną na etapie przygotowania próbki przed analizą chromatograficzną jest technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME), dlatego dobrze jest zaplanować metodyki wykorzystujące tą technikę
- potrzebne jest podjęcie badań mających na celu opracowanie nowych rozwiązań metodologicznych i aparaturowych w technice SPME, dotyczących zarówno opracowania zupełnie nowych rozwiązań konstrukcyjnych jak i modyfikację dotychczas istniejących rozwiązań, w tym także ich miniaturyzację oraz automatyzację
- wybór dostępnych handlowo włókien ekstrakcyjnych urządzenia do SPME jest stosunkowo ubogi, ponadto włókna te charakteryzują się niskim powinowactwem w stosunku do związków polarnych a anality zatrzymywane są na włóknie ekstrakcyjnym w wyniku specyficznych oddziaływań analit-adsorbent

- osiągnięcie wysokiej wydajności procesu ekstrakcji analitów, która zapewni możliwość oznaczania lotnych i polarnych związków organicznych obecnych w próbkach w ilościach śladowych wymaga zastosowania wysokospecyficznych sorbentów jako faz sorpcyjnych w technice SPME, charakteryzujących się dużym powinowactwem w stosunku do analitów, jednakże procedury syntezy nowych materiałów sorpcyjnych są często skomplikowane, kosztowne i w praktyce trudne do odtworzenia
- w przypadku zastosowania adsorbentów do procesu ekstrakcji polarnych analitów z polarnych mediów możliwe staje się niekorzystne zjawisko konkurowania analitów i składników matrycy o miejsca aktywne adsorbenta, natomiast silne związanie analitów z materiałem ekstrakcyjnym może skutkować niekompletną desorpcją analitów z włókna ekstrakcyjnego lub wymaga zastosowania wysokiej temperatury desorpcji co może powodować powstawanie artefaktów w wyniku katalitycznego działania adsorbenta.

Głównym celem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie nowych układów sorpcyjnych do izolacji i/lub wzbogacania analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska z wykorzystaniem membranowej wersji techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (M-SPME) a następnie oznaczania tych związków z wykorzystaniem chromatografii gazowej.

Cel ten zrealizowano poprzez pracowanie procedur i przygotowanie trzech nowych dwufazowych układów sorpcyjnych: PEG/PDMS, PCL/PDMS, PIL/PDMS. W opracowanych układach dwufazowych jako medium ekstrakcyjne wykorzystywano polarne i średniopolarne sorbenty występujące w formie pseudocieczy oraz ciecze jonowe (glikol polietylenowy, polikaprolakton, poli(chlorek 1-winylo-3-heksyloimidazoliowy)), fizycznie oddzielone od badanej próbki za pomocą hydrofobowej, pseudociekłej membrany (polidimetylosiloksan). Zastosowane sorbenty charakteryzują się odpowiednimi właściwościami fizykochemicznymi (m. in. niską temperaturą topnienia/zeszklenia, dużą lepkością i wysoką odpornością termiczną), gwarantującymi podziałowy mechanizm procesu ekstrakcji analitów oraz zapewniającymi możliwość zastosowania ich w koncepcji M-SPME. Na podstawie danych literaturowych lub w efekcie eksperymentalnego wyznaczenia wartości liczbowych stałych McReynoldsa określono także polarność wykorzystywanych sorbentów oraz wskazano grupy związków wykazujących podobne właściwości w obszarze oddziaływań międzycząsteczkowych do stosowanych sorbentów, czyli dokonano określenia powinowactwa stosowanych sorbentów w stosunku do wskazanych grup analitów.

Następnie dokonano optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji wybranych analitów (z wykorzystaniem profili sorpcji analitów na włóknie ekstrakcyjnym oraz z wykorzystaniem planów frakcyjnych), określono zatem optymalny czas i temperaturę procesu ekstrakcji analitów, zawartość czynnika wysalającego, pH próbki, szybkość mieszania a także optymalne warunki prowadzenia procesu desorpcji analitów z włókna ekstrakcyjnego (temperaturę dozownika chromatografu i czas prowadzenia procesu desorpcji analitów). Wyznaczono także wartości liczbowe

wybranych parametrów walidacyjnych stosowanych procedur analitycznych (liniowość, powtarzalność i granice wykrywalności) oraz porównano wydajności procesu ekstrakcji wybranych analitów bezpośrednio z próbki i z fazy nadpowierzchniowej nad badaną próbką, oraz wydajności procesu ekstrakcji dla różnych pokryć włókna ekstrakcyjnego. Badania modelowe, które obejmowały wyznaczenie profili sorpcji dla oznaczanych związków wskazały na przydatność urządzenia do M-SPME do pobierania próbek analitów obecnych w próbce na poziomie ppb przed etapem oznaczania chromatograficznego tych analitów. Założenie to zostało zweryfikowane poprzez zastosowanie techniki M-SPME do ekstrakcji analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska o zróżnicowanej polarności i lotności (lotne związki organiczne, triazyny, fenole) z próbek środowiskowych. Technikę M-SPME można więc uznać za sprawne, proekologiczne narzędzie analityczne znajdujące zastosowanie na etapie przygotowania próbek do analizy chromatograficznej.

Opracowane metodyki analityczne, w porównaniu z istniejącymi procedurami oznaczania związków z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska stanowią nowość naukową ze względu na:

- unikalne połączenie zalet ekstrakcyjnych technik membranowych z zaletami techniki SPME,
- zastosowanie nowej, membranowej wersji techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej M-SPME,
- zastosowanie pseudocieczy i cieczy jonowych jak sorbentów w technice SPME,
- zastosowanie nowych dwufazowych układów sorpcyjnych PEG/PDMS, PCL/PDMS, PIL/PDMS,
- wykorzystanie zalet podziałowego mechanizmu ekstrakcji analitów w technice SPME.

Osiągnięcie wartości RSD poniżej 14% oraz wartości liczbowe granic wykrywalności porównywalne z wartościami uzyskanymi, gdy do pobierania próbek analitów zastosowane są włókna dostępne handlowo potwierdzają zasadność zastosowania opracowanych metodyk. Ze względu na podziałowy mechanizm izolacji analitów, procedury z zastosowaniem opracowanych dwufazowych układów sorpcyjnych, w których jako fazy ekstrakcyjne wykorzystano pseudociecze cechują się istotnie większym zakresem liniowości w porównaniu do procedur z wykorzystaniem włókien komercyjnych. Ponadto zastosowanie pseudocieczy jako mediów ekstrakcyjnych prowadzi do eliminacji wad związanych z mechanizmem procesu ekstrakcji opartym na specyficznych oddziaływaniach analit-adsorbent.

Jeżeli pseudociecz zastosowana do przygotowania włókna ekstrkacyjnego wg koncepcji M-SPME charakteryzuje się dodatkowo dużą polarnością to prowadzi to także do uzyskania wysokiej wydajności procesu wzbogacenia i ekstrakcji polarnych analitów. Natomiast pokrycie włókna hydrofobową membraną zapewnia możliwość zastosowania włókien przygotowanych wg koncepcji M-SPME do bezpośredniej ekstrakcji polarnych i średniopolarnych analitów z próbek, których składniki matrycy charakteryzują się dużą polarnością, oraz prowadzi do eliminacji ryzyka częściowego rozpuszczenia polarnego czynnika ekstrakcyjnego w próbce. Uzyskane wyniki wskazują na duży potencjał aplikacyjny opracowanych układów sorpcyjnych M-SPME oraz stwarzają możliwość wprowadzenia do techniki SPME zupełnie nowych rodzajów materiałów, które z powodu swoich właściwości reologicznych, niskich temperatur topnienia bądź rozpuszczalności w wodzie nie były do tej pory brane pod uwagę w tego typu zastosowaniach. Prowadzone badania mogą zatem przyczynić się do rozwoju w zakresie wykorzystania nowych sorbentów w technikach ekstrakcyjnych oraz dać początek nowym kierunkom rozwoju techniki SPME. Zastosowanie bezrozpuszczalnikowej techniki M-SPME w trakcie procedury oznaczania związków zaliczanych do grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska może dostarczyć informacji niezbędnych dla wiarygodnej oceny stanu środowiska i zmian w nim zachodzących a uzyskana szeroka baza danych może być wykorzystana do opracowania solidnych podstaw zarządzania zasobami środowiska. Uzyskane wyniki mogą być podstawą do wniosku, że opracowane nowe rozwiązania metodyczne w zakresie techniki SPME, oparte na wykorzystaniu dwufazowych układów sorpcyjnych są sprawnymi, skutecznymi i proekologicznymi narzędziami, które mogą być zastosowanie na etapie przygotowania próbek do analizy chromatograficznej.

## Literatura

- K.Górka, B.Poskrobko, W.Radecki, Ochrona środowiska. Problemy społeczne, ekonomiczne i prawne. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne PWE, Warszawa, 1998.
- [2] World Commissions on Environment and Development, Our Common Future. Oxford University Press, Oxford, 1987.
- [3] P.T. Anastas, Crit. Rev. Anal. Chem. 29, 167, 1999.
- [4] 42 United States Code, Pollution Prevention Act of 1990, Section 13101-13109.
- [5] P. T. Anastas, M. M. Kirchhoff, Acc. Chem. Res. <u>35(9)</u>, 686. 2002.
- [6] P. Tundo, P.T. Anastas, D. Black, T. Collins, S. Memoli, J. Miyamoto, M. Polyakoff, W. Tumas, Pure Appl. Chem. <u>72</u>, 1207, 2000.
- [7] H. Malissa, Materiały Euroanalysis VI "Reviews on Analytical Chemistry, Les editions de physique" Paris, 1987, s. 49–64.
- [8] M. de la Guardia, J. Ruzicka, Analyst 120, 17N, 1995.
- [9] J. Namieśnik. Environ. Sci. Pollut. Res. 6, 243, 1999.
- [10] M. Koel, M. Kaljurand, Pure Appl. Chem. 78, 1993, 2006.
- [11] S. Armenta, S. Garrigues, M. Guardia, Trends Anal. Chem. 27, 497, 2008.
- [12] Challenges in Green Analytical Chemistry (praca zbiorowa pod redakcją M. de la Guardia i S. Garrigues) Royal Society of Chemistry RSC, Cambridge, 2011.
- [13] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 50, 78, 2013.
- [14] M. Farré, S. Pérez, C. Gonçalves, M.F. Alpendurada, D. Barceló, Trends Anal. Chem. 29, 1347, 2010.
- [15] A. Gałuszka, Z. M. Migaszewski, P. Konieczka, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 37, 61, 2012.
- [16] J. Stocka, M. Tankiewicz, M. Biziuk, J. Namieśnik, Int. J. Mol. Sci. 12, 7785, 2011.
- [17] J. Namieśnik, Pol. J. Environ. Stud. 10, 127, 2001.
- [18] C.J. Welch, N. Wu, M. Biba, R. Hartman, T. Brkovic, X. Gong, R. Helmy, W. Schafer, J. Cuff, Z. Pirzada, L. Zhou, *Trends Anal. Chem.* <u>29</u>, 667, 2010.
- [19] A. Kot, B. Zabiega, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 19, 446, 2000.
- [20] J. Namieśnik, B. Zabiegała, A. Kot-Wasik, M. Partyka, A. Wasik, Anal. Bioanal. Chem. <u>381</u>, 279, 2005.
- [21] C. Capello, U. Fischer, K. Hungerbühler, Green Chem. 9, 927, 2007.
- [22] R. M. Smith, Anal. Bioanal. Chem. <u>385</u>, 419, 2006.
- [23] M. Herrero, A. Cifuentes, E. Ibanez, Food Chem. <u>98</u>, 136, 2006.
- [24] P. Raveendran, Y. Ikushima, S. L. Wallen, Acc. Chem. Res. <u>38</u>, 478, 2005.
- [25] J. Liu, J.A. Jonsson, G. Jiang, Trends Anal. Chem. <u>24</u>, 20, 2005.
- [26] F.J. López-Jiménez, S. Rubio, D. Pérez-Bendito, J. Chromatogr. A 1195, 25, 2008.
- [27] M. Tobiszewski, A. Mechlińska, B. Zygmunt, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 28, 943, 2009.
- [28] M. Tobiszewski, A. Mechlińska, J. Namieśnik, Chem. Soc. Rev. 39(8), 2869, 2010.
- [29] Handbook on Sample Preparation (praca zbiorowa pod redakcją J. Pawliszyna i H. L. Lord) John Willey & Sons, New Jersey 2010.
- [30] L. Vidal, C.E. Domini, N. Grané, E. Psillakis, A. Canals, Anal. Chim. Acta 592, 9, 2007.
- [31] C. Deng, Y. Mao, F. Hu, X. Zhang, J. Chromatogr. A <u>1152</u>, 193, 2007.
- [32] Y. Li, A. S. Fabiano-Tixier, M. A. Vian, F. Chemat, Trends Anal. Chem., 47, 1, 2013.
- [33] K.J. Huang, H. Wang, M. Ma, M.L. Sha, H.S. Zhang, J. Chromatogr. A <u>1103</u>, 193, 2006.
- [34] G. Woldemichael, T. Tulu, G.-U. Flechsig, Microchim. Acta 179, 99, 2012.
- [35] D. De Orsi, L. Gagliardi, R. Porra, S. Berri, P. Chimenti, A. Granese, I. Carpani, D. Tonelli, Anal. Chim. Acta <u>555</u>, 238 2006.
- [36] R. L. V. Ribeiro, C. B. G. Bottoli, K. E. Collins, C. H. Collins, J. Brazilian Chem. Soc. 15, 300, 2004.
- [37] C. Sarazin, D. Thiébaut, P. Sassiat, J. Vial, J. Sep. Sci. <u>34</u>, 2773, 2011.
- [38] T. L. Chester, J. D. Pinkston, Anal. Chem. <u>74</u>, 280, 2002.
- [39] J. Wang, E. H. Hansen, Trends Anal. Chem. 22, 225, 2003.
- [40] J. Wang, Anal. Bioanal. Chem. <u>381</u>, 809, 2005.
- [41] S. Garrigues, S. Armenta, M. de la Guardia, Trends Anal. Chem. 29, 592, 2010.
- [42] A. Manz, N. Graber, H. M. Widme, Sens. Actuators B 1, 244, 1990,
- [43] Lab-on-a-Chip Technology: Biomolecular Separation and Analysis. (Praca zbiorowa pod redakcją K. E. Herold, A. Rasooly) Caister Academic Press, Norfolk, 2009.
- [44] D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. Auroux, A. Manz, Anal. Chem. 74, 2623, 2002.
- [45] M. Trojanowicz, Anal. Chim. Acta, 653, 36, 2009.
- [46] P. Ciosek, W. Wróblewski, Analyst 132, 963, 2007.

- [47] D. Calvo, A. Durán, M. del Valle, Anal. Chim. Acta 600, 97, 2007.
- [48] J. Namieśnik, P. Szefer, *Ecol. Chem. Eng.* <u>15</u>, 167, 2008.
- [49] W. Wardencki, J. Curyło, J. Namieśnik, J. Biochem. Biophys. Methods 70, 275, 2007.
- [50] C. L. Arthur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62, 2145, 1990.
- [51] Solid Phase Microextraction: Theory And Practice. (Praca zbiorowa pod redakcją J. Pawliszyna) Wiley-VCH Inc., New York, 1997.
- [52] G. Theodoridisa, E.H.M. Kosterb, G.J. de Jong, J. Chromatogr. B 745, 49, 2000.
- [53] Application Of Solid-Phase Microextraction. (praca zbiorowa pod redakcją J. Pawliszyna) Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999.
- [54] H. Lord, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 885, 153, 2000.
- [55] Solid Phase Microextraction: A practical Guide. (Praca zbiorowa pod redakcją S.A. Scheppers Wercinski) Marcel Dekker Inc., New York, 1999.
- [56] X. Zhang, K. D. Oakes, S. Wang, M. R. Servos, Trends Anal. Chem. 32, 31, 2012.
- [57] Dajana Vuckovic, Xu Zhang, Erasmus Cudjoe, Janusz Pawliszyn, *Chromatography A* <u>1217</u>, 4041, 2010.
- [58] H. Katoaka, Anal. Sci. 27, 893, 2011.
- [59] B. Bojko, E. Cudjoe, G. A. Gómez-Ríos, K. Gorynski, R. Jiang, N. Reyes-Garcés, S. Risticevic, É.A.S. Silva, O. Togunde, D. Vuckovic, J. Pawliszyn, *Anal. Chim. Acta* <u>750</u>, 132, 2012.
- [60] R. Eisert, J. Pawliszyn, J. Chromatgr. A 776, 293, 1997.
- [61] http://www.nitinol.com/
- [62] S. Kujala, A. Pajala, M. Kallioinen, A. Pramila, J. Tuukkanen, J. Ryhänen, Biomaterials 25, 353, 2004.
- [63] L. Setkova, S. Risticevic, C. M. Linton, G. Ouyanga, L. M. Bragg, J. Pawliszyn, Anal. Chim. Acta <u>581</u>, 221, 2007.
- [64] Z. Zhang, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 65, 1843, 1993.
- [65] J. Chen, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 67, 2530, 1995.
- [66] K. Jinno, T. Muramatsu, Y. Saito, Y. Kiso, S. Magdie, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A. 754, 137, 1996.
- [67] C. G. Zambonin, Anal. Bioanal. Chem. <u>375</u>, 73, 2003.
- [68] S. Li, S. G. Weber, Anal. Chem. 69, 1217, 1997.
- [69] H. Fang, M. Liu, Z. Zeng, *Talanta* 68, 979, 2006.
- [70] X. Zhang, S. X, J.-M. Lim, Y.-Ill Lee, *Talanta* <u>99</u>, 270, 2012.
- [71] D.A. Lambropoulou, I.K. Konstantinou, T.A. Albanis, J. Chromatogr. A 1152, 70, 2007.
- [72] E.E. Stashenko, J.R. Martínez, J. Biochem. Biophys. Methods 70, 235, 2007.
- [73] A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marcé, Trends Anal. Chem. 18, 557, 1999.
- [74] E. Baltussen, C. A. Cramers, P.J.F. Sandra, Anal. Bioanal. Chem. <u>373</u>, 3, 2002.
- [75] J. B. Quintana, I. Rodríguez, Anal. Bioanal. Chem. <u>384</u>, 1447, 2006.
- [76] D. Ruthven, Principles of Adsorption and Adsorption Processes. John Wiley & Sons, Nowy Jork, 1984.
- [77] C. Nerín, J. Salafranca, M. Aznar, R. Batlle, Anal. Bioanal. Chem. 393, 809, 2009.
- [78] H. Prosen, L. Zupančič-Kralj, Trends Anal. Chem. 18, 272, 1999.
- [79] M.L. Bao, F. Pantani, O. Griffini, D. Burrini, D. Santianni, K. Barbieri, J. Chromatogr. A 809, 75, 1998.
- [80] H. Doorn, C.B. Grabanski, D.J. Miller, S.B. Hathorne, J. Chromatogr. A 829, 223, 1998.
- [81] L. Pan, M. Adams, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 67, 4396, 1995.
- [82] E. E. Stashenko, J. R. Martinez, Trends Anal. Chem. 23, 553, 2004.
- [83] R. Alzaga, J. M Bayona, J. Chromatogr. A 1042, 155, 2004.
- [84] R. Alzaga, A. Peña, L. Ortiz, J. M. Bayona J. Chromatogr. A 999, 51, 2003.
- [85] I. Rodríguez, E. Rubí, R. González, J. B. Quintana, R. Cela, Anal. Chim. Acta 537, 259, 2005.
- [86] I. S. Lee, S. W. Tsai, Anal. Chim. Acta 610, 149, 2008.
- [87] S. W. Tsai, C. M. Chang, J. Chromatogr. A 1015, 143, 2003.
- [88] C. Pizarro, N. Perez-del-Notario, J. M. Gonzalez-Saiz, J. Chromatogr. A 1143, 26, 2007.

[89] I. Rodríguez, J. Carpinteiro, J. B. Quintana, A. M. Carro, R. A. Lorenzo, R. Cela, J. Chromatogr. A <u>1024</u>, 1, 2004.

- [90] P. D. Okeyo, N. H. Snow, J. Microcolumn. Sep. 10, 551, 1998.
- [91] C. Chafer-Pericas, P. Campins-Falco, R. Herraez-Hernandez, J. Pharm. Biomed. Anal. 40, 1209, 2006.
- [92] J. E. Hong, H. Pyo, S. J. Park, W. Lee, Anal. Chim. Acta. 539, 55, 2005.
- [93] C, Domeno, B. Ruiz, C. Nerin, Anal. Bioanal. Chem. <u>381</u>, 1576, 2005.
- [94] G. Wittmann, H. Van Langenhove, J. Dewulf, J. Chromatogr. A 874, 225, 2000.
- [95] M. N. Sarrión, F. J. Santos, M. T. Galceran, J. Chromatogr. A 859, 159, 1999.
- [96] T. Zimmermann, W. J. Ensinger, T. C. Schmidt, Anal. Chem. 76, 1028, 2004.
- [97] L. Pan, J. M. Chong, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 773, 249, 1997.
- [98] M. L. Bao, F. Pantani, O. Griffini, D. Burrini, D. Santianni, K. Barbieri, J. Chromatogr. A 809, 75, 1998.
- [99] B. Cancho, F. Ventura, M. T. Galceran, J. Chromatogr. A <u>943</u>, 1, 2002.

- [100] M. Llompart, M. Lourido, P. Landín, C. García-Jares, R. Cela, J. Chromatogr. A <u>963</u>, 137, 2002.
- [101] W. C. Davis, P.S.S. Vander, M. M. Schantz, S. E. Long, R. D. Day, S. J. Christopher, J. Anal. At. Spectrom. <u>19</u>, 1546, 2004.
- [102] V. Kaur, A. K. Malik, N. Verma, J. Sep. Sci. 29, 333, 2006.
- [103] H. Geppert, Anal. Chem. 70, 3981, 1998.
- [104] S. Motlagh, J. Pawliszyn, Anal. Chim. Acta 284, 265, 1993.
- [105] M. de F. Alpendurada, J. Chromatorgr. A 889, 3, 2000.
- [106] E. Psillakis, N. Kalogerakis, Trends Anal. Chem. 22, 565, 2003.
- [107] W. M. Mullett, J. Pawliszyn, J. Sep. Sci. 26, 251, 2003.
- [108] A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Chem. Soc. Rev. 39(11), 4524, 2010.
- [109] C. Dietz, J. Sanz, C. Cámara, J. Chromatogr. A <u>1103</u>, 183, 2006.
- [110] N. Fontanals, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A <u>1152</u>, 14, 2007.
- [111] R. Barro, S. Ares, C. Garcia-Jares, M. Llompart, R. Cela, J. Chromatogr. A 1045, 189, 2004.
- [112] M. Chai, J. Pawliszyn, Environ. Sci. Technol. 29, 693, 1995.
- [113] J. Ji, C. Deng, W. Shen, X. Zhang, Talanta 69, 894, 2006.
- [114] P. Popp, A. Paschke, Chromatographia 46, 419, 1997.
- [115] R. Batlle, C. Sánchez, C. Nerín, Anal. Chem. 71, 2417, 1999.
- [116] J. Lipinski, Fresenius' J. Anal. Chem. 367, 445, 2000.
- [117] R. Eisert, K. Levsen, Fresenius' J. Anal. Chem. <u>351</u>, 555, 1995.
- [118] A. Boyd-Boland, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 704, 163, 1995.
- [119] F. Hernandez, J. Beltran, F. J. Lopez, J. V. Gaspar, Anal. Chem. 72, 2313, 2000.
- [120] I. Valor, C. Cortada, J. C. Moltó, J. High Resolut. Chromatogr. 19, 472, 2006.
- [121] B. Tang, U. Isacsson, Energy & Fuels 22, 1425, 2008.
- [122] Y. Yang, D. J. Miller, S. B. Hawthorne, J. Chromatogr. A 800, 257, 1998.
- [123] K. D. Buchholz, J. Pawliszyn, Environ. Sci. Technol. 27, 2844, 1993.
- [124] P. Barták, L. Čáp, J. Chromatogr. A, 767 171, 1997.
- [125] M. E. Miller, J. D. Stuart, Anal. Chem. 71, 23, 1999.
- [126] V. Mani, Properties of commercial SPME coatings. W: Application Of Solid-Phase Microextraction. (Praca zbiorowa pod redakcją J. Pawliszyna). Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999.
- [127] Z. Mester, R. E. Sturgeon, J. W. Lam, J. Anal. At. Spectrom. 15, 1461, 2000.
- [128] A. Mohammadi, Y. Yamini, N. Alizadeh, J. Chromatogr. A 1063, 1, 2005.
- [129] J. Wu, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 909, 37, 2001.
- [130] A. Ghassempour, N. M. Najafi, A. Mehdinia, S. S. H. Davarani, M. Fallahi, M. Nakhshab, J. Chromatogr. A <u>1078</u>, 120, 2005.
- [131] N. Alizadeh, H. Zarabadipour, A. Mohammadi, Anal. Chim. Acta 605, 159, 2007.
- [132] J. Wu, W. M. Mullett, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 74, 4855, 2002.
- [133] N. Alizadeh, A. Mohammadia, M. Tabrizchi, J. Chromatogr. A 1183, 21, 2008.
- [134] U. Tamer, N. Ertaş, Y. A. Udum, Y. Şahin, K. Pekmez, A. Yıldız, Talanta 67, 245,2005.
- [135] T. Uğur, Ş. Yücel, E. Nusret, U. Yasemin, P. Kadir, Y. Attila, J. Electroanal. Chem. 570, 6, 2004.
- [136] H. Bagheri, A. Mir, E. Babanezhad, Anal. Chimi. Acta 532, 89, 2005.
- [137] B. J. Yates, K. R. Temsamani, Ö. Ceylan, S. Öztemiz, T. P. Gbatu, R. A. LaRue, U. Tamer, H. B. Mark Jr., *Talanta* <u>58</u>, 739, 2002.
- [138] T. P. Gbatu, O. Ceylan, K. L. Sutton, J. F. Rubinson, A. Galal, J. A. Caruso, H. B. Mark Jr., *Anal. Commun.* <u>36</u>, 203, 1999.
- [139] H. Bagheri, E. Babanezhad, A. Es-haghi, J. Chromatogr. A 1152, 168, 2007.
- [140] G. Wulff, A. Sarhan, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 11, 341, 1972.
- [141] V. Pichon, J. Chromatogr. A 1152, 41, 2007.
- [142] A. Martín-Esteban, Fresenius' J, Anal. Chem. 370, 795, 2001.
- [143] J. Haginaka, J. Sep. Sci. 32, 1548, 2009.
- [144] N. Pérez-Moral, A.G. Mayes, Anal. Chim. Acta 504, 15, 2004.
- [145] N. Pérez-Moral, A. G. Mayes, Biosens. Bioelectron. 21, 1798, 2006.
- [146] A. G. Mayes, K. Mosbach, Anal. Chem. 68, 3769, 1996.
- [147] J. Haginaka, H. Takehiraa, K. Hosoyab, N. Tanaka, J. Chromatogr. A 816, 113, 1998.
- [148] C. He, Y. Long, J. Pan, K. Li, F. Liu, J. Biochem. Biophys. Methods 70, 133, 2007.
- [149] P.A.G. Cormack, A.Z. Elorza, J. Chromatogr. B 804, 173, 2004.
- [150] M. Yoshikawa, Bioseparation 10, 277, 2002.
- [151] R. A. Anderson, M. M. Ariffin, P. A.G. Cormack, E. I. Miller, Forensic Sci. Int. <u>174</u>, 40, 2008.
- [152] A. Kloskowski, M. Pilarczyk, A. Przyjazny, J. Namieśnik, Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 43, 2009.
- [153] X. Hua, G. Daia, J. Huanga, T. Yea, H. Fanb, T. Youwena, Y. Yua, Y. Lianga, J. Chromatogr. A

<u>1217</u>, 5875, 2010

- [154] X. Hu, Y. Hu, G. Li, J. Chromatogr. A <u>1147</u>, 1, 2007.
- [155] E. Turiel, J. L. Tadeo, A. Martin-Esteban, Anal. Chem. 79, 3099, 2007.
- [156] X. Hua, J. Pan, Y. Hua, Y. Huoa, G. Li, J. Chromatogr. A, 1188, 97, 2008.
- [157] D. Djozan, T. Baheri, J. Chromatogr. A 1166, 16, 2007.
- [158] M. K.-Y. Li, N.-Y. Lei, C. Gong, Y. Yu, K.-H Lam, M. H.-W. Lam, H. Yu, P. K. Lam, Anal. Chim. Acta 633, 197, 2009.
- [159] J. He, R. Lv, H. Zhan, H. Wang, J. Cheng, K. Lu, F. Wang, Anal. Chim. Acta 674, 53, 2010.
- [160] E.H.M. Koster, C. Crescenzi, W. den-Hoedt, K. Ensing, G.J. de-Jong, Anal. Chem. 73, 3140, 2001.
- [161] X. Hu, J. Pan, Y. Hu, G. Li, J. Chromatogr. A <u>1216</u>, 190, 2009.
- [162] B. B. Prasad, K. Tiwari, M. Singh, P. S. Sharma, A. K. Patel, S. Srivastava, *J. Chromatogr. A* <u>1198</u>,592, 2008.
- [163] L. Qiu, W. Liu, M. Huang, L. Zhang, J. Chromatogr. A 1217, 7461, 2010.
- [164] T. Jing, Y. Wang, Q. Dai, H. Xia, J. Niu, Q. Hao, S. Mei, Y. Zhou, Biosens. Bioelectron. 25, 2218, 2010.
- [165] V. Pichon, L. Chen, M.-C. Hennion, R. Daniel, A. Martel, F. Le Goffic, J. Abian, D. Barcelo, Anal. Chem. 67, 2451, 1995.
- [166] V. Pichon, L. Chen, N. Durand, F. Le Goffic, M.-C. Hennion, J. Chromatogr. A 725 107, 1996.
- [167] M.-C. Hennion, V. Pichon, J. Chromatogr. A <u>1000</u>, 29, 2003.
- [168] V. Pichon, M. Bouzige, C. Miége, M.-C. Hennion, Trends Anal. Chem. 18, 219, 1999.
- [169] H. Yuan, W. M. Mullett, J. Pawliszyn, Analyst <u>126</u>, 1456, 2001.
- [170] M.L. Nedved, S. Habibi-Goudarzi, B. Ganen, J. Henion, Anal. Chem. 68, 4228, 1996.
- [171] E.V. Reiter, M. Cichna-Markl, N. Tansakul, W-B. Shim, D.-H. Chung, J. Zentek, E. Razzazi-Fazeli, J. Chromatrogr. A <u>42</u>, 7627, 2011.
- [172] F. Pragst, Anal. Bioanal. Chem. 388, 1393, 2007.
- [173] H.L. Lord, M. Rajabi, S. Safari, J. Pawliszyn, J. Pharm. Biomem. Analysis 40, 769, 2006.
- [174] M. E. Queiroz, E. B. Oliveira, F. Breton , J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 1174, 72, 2007.
- [175] A. R. Chaves, M. E. C. Queiroz, J. Chromatogr. B 928, 37, 2013.
- [176] D. S. Hage, J. Chromatogr. B 715, 3, 1998.
- [177] J. S. Hoos, H. Sudergat, J. P. Hoelck, M. Stahl, J. S. B. de Vlieger, W. M. A. Niessen, H. Lingeman, H. Irth, J. Chromatogr. B <u>830</u>, 262, 2006.
- [178] S. Hofacker, M. Mechtel, M. Mager, H. Kraus, Prog. Org. Coat. 45, 159, 2002.
- [179] S. L. Chong, D. Wang, J. D. Hayes, B. W. Wilhite, A. Malik, Anal. Chem. 69, 3889, 1997.
- [180] K. Alhooshani, T.-Y. Kim, A. Kabir, A. Malik, J. Chromatogr. A 1062, 1, 2005.
- [181] T.-Y. Kim, K. Alhooshani, A. Kabir, D. P. Fries, A. Malik, J. Chromatogr. A 1047, 165, 2004.
- [182] M. M. Collinson, Trends Anal. Chem. 21, 30, 2002.
- [183] I. C. Tilgner, P. Fischer, F. M. Bohnen, H. Rehage, W. F. Maier, Microporous Mater. 5, 77, 1995.
- [184] A. L. Lopes, F. Augusto, J. Chromatogr. A 1056, 13, 2004.
- [185] Z. Zeng, W. Qiu, Z. Huang, Anal. Chem. 73, 2429, 2001.
- [186] Z. Wang, C. Xiao, C. Wu, H. Han, J. Chromatogr. A 893, 157, 2000.
- [187] Z. Zeng, W. Qiu, M. Yang, X. Wei, Z. Huang, F. Li, J. Chromatogr. A <u>934</u>, 51, 2001.
- [188] T. P. Gbatu, K. L. Sutton, J. A. Caruso, Anal. Chim. Acta 402, 67, 1999.
- [189] Y. Hu, Y. Fu, G.-K. Li, Anal. Chim. Acta <u>567</u>, 211, 2006.
- [190] D. Wang, J. Xing, J. Peng, C. Wu, J. Chromatogr. 1005, 1, 2003.
- [191] L. Yun, Anal. Chim. Acta 486, 63, 2003.
- [192] R. G. da Costa Silva, F. Augusto, J. Chromatogr. A 1072, 7, 2005.
- [193] J. Yu, C. Wu, J. Xing, J. Chromatogr. A 1036, 101, 2004.
- [194] C. Basheer, S. Jegadesan, S. Valiyaveettil, H. K. Lee, J. Chromatogr. A 1087, 252, 2005.
- [195] V. G. Zuin, A. L. Lopes, J. H. Yariwake, F. Augusto, J. Chromatogr. A 1056, 21, 2004.
- [196] M. Azenha, C. Malheiro, A. F. Silva, J. Chromatogr. A 1069, 163, 2005.
- [197] J. Yu, L. Dong, C. Wu, L. Wu, J. Xing, J. Chromatogr. A 978, 37, 2002.
- [198] X. Li, Z. Zeng, J. Zhou, Anal. Chim. Acta 509, 27, 2004.
- [199] F. Zhou, X. Li, Z. Zeng, Anal. Chim. Acta 538, 63, 2005.
- [200] M. Liu, Z. Zeng, Y. Lei, H. Li, J. Sep. Sci. 28, 2306, 2005.
- [201] L. Xiu-juan, X. Rui-min, L. Hai-bing, Zeng Zhao-rui, J. Wuhan Univ. Natur. Sci. Ed. 8, 1153, 2003.
- [202] X. Li, Z. Zeng, S. Gao, H. Li, J. Chromatogr. A 1023, 15, 2004.
- [203] W. Wang, S. Gong, Q. Cao, Y. Chen, X. Li, Z. Zeng, Chromatographia 61, 75, 2005.
- [204] C. Dong, Z. Zeng, X. Li, *Talanta* <u>66</u>, 721, 2005.
- [205] L. Cai, S. Gong, M. Chen, C. Wu, Anal. Chim. Acta 559, 89, 2006.
- [206] R. Liu, J. Liu, Y. Yin, X. Hu, G. Jiang, Anal. Bioanal. Chem. 393, 871, 2009.

- [207] E. Aguilera-Herrador, R. Lucena, S. Cardenas, M. Valcarcel, Trends Anal. Chem. 29, 602, 2010.
- [208] R.J. Soukup-Hein, M.M. Warnke, D.W. Armstrong., Annu. Rev. Anal. Chem. 2, 145, 2009.
- [209] H. Weingärtner, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 47 654, 2008.
- [210] M. Roth, J. Chromatogr. A 1216, 1861, 2009.
- [211] J.G. Huddleston, H.D. Willauer, R.P. Swatloski, A.E. Visser, R.D. Rogers, Chem. Commun <u>1127</u>,1765, 1998.
- [212] J. D. Holbrey, K. R. Seddon, Clean Prod. Proc. 1, 223, 1999.
- [213] T.D. Ho, A.J. Canestraro, J.L. Anderson, Anal. Chim. Acta 695, 18, 2011
- [214] J.F. Liu, N. Li, G.B. Jiang, J.M. Liu, J.A. Jonsson, M.J. Wen, J. Chromatogr. A 1066, 27, 2005.
- [215] Y.N. Hsieh, P.C. Huang, I.W. Sun, T.J. Whang, C.Y. Hsu, H.H. Huang, C.H. Kuei, Anal. Chim. Acta 557, 321, 2006.
- [216] F. Zhao, Y.J. Meng, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A <u>1208</u>, 1, 2008.
- [217] C.M. Graham, Y. Meng, T. Ho, J. Anderson, J. Sep. Sci. 34, 340, 2011.
- [218] E. Wanigasekara, S. Perera, J. A. Crank, L. Sidisky, R. Shirey, A. Berthod, D. W. Armstrong, *Anal. Bioanal. Chem.* <u>396</u>, 511, 2010.
- [219] Y. He, J. Pohl, R. Engel, L. Rothman, M. Thomas, J. Chromatogr. A 1216, 4824, 2009.
- [220] M. Liu, X. Zhou, Y. Chen, H. Liu, X. Feng, G. Qiu, F. Liu, Z. Zeng, Anal. Chim. Acta 683, 96, 2010.
- [221] J. López-Darias, V. Pino, J.L. Anderson, C.M. Graham, A.M. Afonso, J. Chromatogr. A <u>1217</u>, 1236, 2010.
- [222] R. Amini, A. Rouhollahi, M. Adibi, A. Mehdinia, J. Chromatogr. A <u>1218</u>, 130, 2011.
- [223] X. Zhou, X. Shao, J. Shu, M. Liu, H. Liu, X. Feng, F. Liu, *Talanta* <u>89</u>, 129, 2012.
- [224] J. Feng, M. Sun, J. Li, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A <u>1227</u>, 54, 2012,
- [225] J. Feng, M. Sun, X. Wang, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. 1245, 32, 2012.
- [226] J. López-Darias, V. Pino, Y. Meng, J.L. Anderson, A.M. Afonso, J. Chromatogr. A <u>1217</u>, 7189, 2010.
- [227] L. Pang, J. Liu, J. Chromatogr. A, <u>1230</u>, 8, 2012,
- [228] A. Martin-Calero, J.H. Ayala, V. González, A.M. Afonso, Anal. Bioanal. Chem. 394, 937, 2009.
- [229] Y. Meng, V. Pino, J.L. Anderson, Anal. Chem. 81, 7107, 2009,
- [230] P. Yang, C.W. Lau, X. Liu, J.Z. Lu, Anal. Chem. 79, 8476, 2007.
- [231] B-T. Zhang, X. Zheng, H.-F. Li, J.-M. Lin, Anal. Chim. Acta <u>784</u>, 1, 2013.
- [232] J. X. Wang, D. Q. Jiang, Z. Y. Gu, X. P. Yan, J. Chromatogr. A <u>1137</u>, 8, 2006.
- [233] J. Lu, J. Liu, Y.Wei, K. Jiang, S. Fan, J. Liu, G. Jiang, J. Sep. Sci. 30, 2138, 2007.
- [234] F. Wu, W. Lu, J. Chen, W. Liu, L. Zhang, Talanta 82, 1038, 2010.
- [235] K. Pyrzynska, Chemosphere <u>83</u>, 1407, 2011.
- [236] X. Liu, Y. Ji, Y. Zhang, H. Zhang, M. Liu, J. Chromatogr. A <u>1165</u>, 10, 2007.
- [237] Q. Li, X. Wang, D. Yuan, J. Chromatogr. A 1216, 1305, 2009.
- [238] Q. Li, X. Ma, D. Yuan, J. Chen, J. Chromatogr. A 1217, 2191, 2010.
- [239] L. Chen, W. Chen, C. Ma, D. Du, X. Chen, Talanta 84, 104, 2011.
- [240] Z. Es'haghi, Z. Rezaeifar, G.-H. Rounaghi, Z. A. Nezhadi, M. A. Golsefidi, Anal. Chim. Acta <u>689</u>, 122, 2011.
- [241] A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, G. Rounaghi, H. Eshtiagh-Hosseini, Anal. Chim. Acta 720, 134, 2012.
- [242] A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, G. Rounaghi, H. Eshtiagh, J. Chromatogr. A 1218, 5757, 2011.
- [243] H. Asadollahzadeh, E. Noroozian, , Sh. Maghsoudi, Anal. Chim. Acta 669, 32, 2010.
- [244] Q. Liu, J. Shi, , G. Jiang, Trends Anal. Chem. 37, 1, 2012.
- [245] J. Chen, J. Zou, J. Zeng, X. Song, J. Ji, Y. Wang, J. Ha, X. Chen, Anal. Chim. Acta 678, 44, 2010.
- [246] Y.-B. Luo, B.-F. Yuan, Q.-W. Yu, Y.-Q. Feng, J. Chromatogr. A <u>1268</u>, 9, 2012.
- [247] J. Zou, X.H. Song, J.J. Ji, W.C. Xu, J.M. Chen, Y.Q. Jiang, Y.R. Wang, X. Chen, J. Sep. Sci. 34,2765, 2011.
- [248] H. Zhang, H.K. Lee, J. Chromatogr. A <u>1218</u>, 4509, 2011.
- [249] S.L. Zhang, Z. Du, G.K. Li, Anal. Chem. 83, 7531, 2011.
- [250] V. K. Ponnusamy, J.-F. Jen, J. Chromatogr. A <u>1218</u>, 6861, 2011.
- [251] Q. Wu, C. Feng, G. Zhao, C. Wang, Z. Wang, J. Sep. Sci. 35, 193, 2012.
- [252] L. Xu, J. Feng, J. Li, X. Liu, S. Jiang, J. Sep. Sci. 35, 93, 2012.
- [253] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* <u>359</u>, 710,1992.
- [254] J.S. Beck, J.C. Vartuli, W.J. Roth, M.E. Leonowicz, C.T. Kresge, K.D. Schmitt, C.T.-W. Chu, D.H Olson,
- E.W. Sheppard, S.B. McCullen, J.B. Higgins, J.L. Schlenker, J. Am. Chem. Soc. <u>114</u>, 10834, 1992.
- [255] X.-Z. Du, Y.-R. Wang, X.-J. Tao, H.-L. Deng, Anal. Chim. Acta 543, 9, 2005.
- [256] P. Hashemi, M. Shamizadeh, A. Badiei, P. Z. Poor, A. R. Ghiasvand, A. Yarahmadi, Anal. Chim. Acta 646, 1, 2009.
- [257] M. B. Gholivand, M. M. Abolghasemi, P. Fattahpour, Anal. Chim. Acta 704, 174, 2011.
- [258] H. Bagheri, A. Roostaie, J. Chromatogr. A <u>1238</u>, 22, 2012.
- [259] M. Saraji, B. Farajmand, Anal. Chim. Acta 721, 61, 2012.
- [260] R. Aranda, P. Kruus, R. C. Burk, J. Chromatogr. A 888, 35, 2000.

- [261] H. B. Wan, H. Chi, M. K. Wong, C. Y. Mok, Anal. Chim. Acta 298, 219, 1994.
- [262] A. Rahimi, P. Hashemi, A. Badiei, P. Arab, A. R. Ghiasvand, Anal. Chim. Acta 695, 58, 2011.
- [263] C. Xiao, S. Han, Z. Wang, J. Xing, C. Wu, J. Chromatogr. A <u>927</u>, 121, 2001.
- [264] T. Górecki, P. Martos, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 70, 19, 1998.
- [265] F. Guo, T. Górecki, D. Irish, J. Pawliszyn, Anal. Commun. 33, 361, 1996.
- [266] M. A. Farajzadeh, N. A. Rahmani, Talanta 65, 700, 2005.
- [267] M. A. Farajzadeh, N. A. Rahmani. Anal. Sci. 20, 1359, 2004.
- [268] D. Djozan, L. Abdollahi, Chromatographia 57, 799, 2003.
- [269] D. Djozan, Y. Assadi, S. H. Haddadi, Anal. Chem. 73, 4054, 2001.
- [270] T.-H. Ding, H.-H. Lin, C.-W. Whang, J. Chromatogr. A, 1062, 49, 2005.
- [271] J. O'Reilly, Q. Wang, L. Setkova, J. P. Hutchinson, Y. Chen, H. L. Lord, C. M. Linton, J. Pawliszyn, J. Sep. Sci. 28, 2010, 2005.
- [272] D. Vuckovic, E. Cudjoe, D. Hein, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 80, 6870, 2008.
- [273] D. Vuckovic, Trends Anal. Chem. 45, 136, 2013.
- [274] S.M.Z. Hossain, B. Bojko, J. Pawliszyn, Anal Chim. Acta 776, 41, 2013.
- [275] F. S. Mirnaghi, M. R. N. Monton, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A <u>1246</u>, 2, 2012.
- [276] F. S. Mirnaghi, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 1261, 91, 2012.
- [277] F. S. Mirnaghi, F. Mousavi, S. M. Rocha, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A <u>1276</u>, 12, 2013.
- [278] R. Vatinno, D. Vuckovic, C. G. Zambonin, J. Pawliszyn, J Chromatogr. A 1201, 215, 2008.
- [279] S. Risticevic, V. H. Niri, D. Vuckovic, Anal. Bioanal. Chem. 393, 781, 2009.
- [280] J. P. Hutchinson, L. Setkova, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A <u>1149</u>, 127, 2007.
- [281] Y. Chen, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 78, 5222, 2006.
- [282] Z. Zhang, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 67, 34, 1995.
- [283] K.-J. Chia, T.-Y. Lee, S.-D. Huang, Anal. Chim. Acta 527, 157, 2004.
- [284] E. Carasek, J. Pawliszyn, J. Agric. Food Chem. 54, 8688, 2006.
- [285] Y. Chen, F. Begnaud, A. Chaintreau, J. Pawliszyn, J. Sep. Sci. 30, 1037, 2007.
- [286] A. R. Ghiasvand, S. Hosseinzadeh, J.Pawliszyn, J. Chromatogr. A 1124, 35, 2006.
- [287] E. Carasek, E. Cudjoe, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 1138, 10, 2007.
- [288] J.A. Koziel, S.H. Haddadi, W. Koch, J. Pawliszyn, J. Sep. Sci. 32, 1975, 2009.
- [289] R. Eisert, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 69, 3140, 1997.
- [290] H. Kataoka, Anal. Bioanal. Chem. 373, 31, 2002.
- [291] Y. Picó, M. Fernández, M.J. Ruiz, G. Font, J. Biochem. Biophys. Methods 70, 117, 2007.
- [292] C. Basheer, H.K. Lee, J. Chromatogr. A <u>1047</u>, 189, 2004.
- [293] H. Kataoka, J. Pawliszyn, Chromatographia 50, 532, 1999.
- [294] B.C.D. Tan, P. J. Marriott, H. K. Lee, P. D. Morrison, Analyst 124, 651, 1999.
- [295] H. Kataoka, S. Narimatsu, H. L. Lord, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 71, 4237, 1999.
- [296] H. Kataoka, H. L. Lord, S. Yamamoto, S. Narimatsu, J. Pawliszyn J. Microcol. Sep. 12, 493, 2000.
- [297] W. M. Mullett, P. Martin, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 73, 2383, 2001.
- [298] J. C. Wu, H. L. Lord, J. Pawliszyn, H. Kataoka, J. Microcol. Sep. 12, 255, 2000.
- [299] J. Wu, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 73, 55, 2001.
- [300] J. Wu, Z. Mester, J. Pawliszyn, Anal. Chim. Acta 424, 211, 2000.
- [301] M.E.C. Queiroz, F. M. Lancas, *Quim Nova* 28, 880, 2005.
- [302] S. Bigham, J. Medlar, A. Kabir, C. Shende, A. Alli, A. Malik, Anal. Chem. 74, 752, 2002.
- [303] Y. Shintani, X. Zhou, M. Furuno, H. Minakuchi, K. Nakanishi, J. Chromatogr. A <u>985</u>, 351, 2003.
- [304] M. M. Zheng, B. Lin, Y. Q. Feng, J. Chromatogr. A <u>1164</u>, 48, 2007.
- [305] Y. Fan, Y.-Q. Feng, S.-L. Da, Z. H. Wang, Talanta 65, 111, 2005.
- [306] Y. Fan, M. Zhang, Y.-Q. Feng, J. Chromatogr. A 1099, 84, 2005.
- [307] Y. Fan, Y.-Q.Feng, S.-L. Da, X.-P. Gao, Analyst 129, 1065, 2004.
- [308] Y. Gou, R. Eisert, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 873, 137, 2000.
- [309] Y. Saito, K. Jinno, J. Chromatogr. A 1000, 53, 2003.
- [310] Y. Saito, Y. Nakao, M. Imaizumi, T. Takeichi, Y. Kiso, K. Jinno, Fresenius J. Anal. Chem. 368, 641, 2000.
- [311] Y. Saito, M. Kawazoe, M. Hayashida, K. Jinno, Analyst <u>125</u>, 807, 2000.
- [312] Y. Hu, Y. Wang, Y. Hu, G. Li, J. Chromatogr. A <u>1216</u>, 8304, 2009.
- [313] Q. Zhong, Y. Hu, Y. Hu, G. Li, J. Chromatogr. A <u>1241</u>, 13, 2012.
- [314] X. Hu, T. Ye, Y. Yu, Y. Cao, C. Guo, J. Chromatogr. A <u>1218</u>, 3935, 2011.
- [315] G. Liljegren, J. Pettersson, K.E. Markides, L. Nyholm, Analyst 127, 591, 2002.
- [316]Y. Şahin, B. Ercan, M. Şahin, Appl. Poly. Sci. 108, 3298, 2008,
- [317] J.C. Wu, W.M. Mullett, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 74, 4855, 2002.
- [318] X. Chai, Y. He, D. Ying, J. Jia, T. Sun, J. Chromatogr. A <u>1165</u>, 26, 2007.

- [319] J. Zeng, J. Chen, X. Song, Y. Wang, J. Ha, X. Chen, X. Wang, J. Chromatogr. A <u>1217</u>, 1735, 2010.
- [320] X. Liu, X. Wang, F. Tan, H. Zhao, X. Quan, J. Chen, L. Li, Anal. Chim. Acta <u>727</u>, 26, 2012.
- [321] J. Zeng, J. Zou, X. Song, J. Chen, J. Ji, B. Wang, Y. Wang, J. Ha, X. Chen, J. Chromatogr. A <u>1218</u>, 191, 2011.
- [322] Q. Li, Y. Ding, D. Yuan, Talanta 85, 1148, 2011.
- [323] A. Kloskowski, M. Pilarczyk, J. Namieśnik, Anal. Chem. <u>81</u>, 7363, 2009.
- [324] A. Kloskowski, J. Namieśnik, M. Pilarczyk, PL Patent, P-387789.
- [325] D. Louch, S. Motlagh, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 64, 1187, 1992.
- [326] T. Górecki, X. Yu, J. Pawliszyn, Analyst 124, 643, 1999.
- [327] T. Górecki, Solid versus liquid coatings. W: Application of Solid-Phase Microextraction. (Praca zbiorowa pod redakcją J. Pawliszyna). Royal Society of Chemistry RSC, Cambridge, 1999.
- [328] J. N. Lee, C. Park, G. M. Whitesides, Anal. Chem. 75, 6544, 2003.
- [329] http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spme/selecting-spme-fiber.html
- [330] C. Shende, A. Kabir, E. Townsend, A. Malik, Anal. Chem. 75, 3518, 2003.
- [331] B.C.D. Tan, P. J. Marriott, H. K. Lee, P. D. Morrison, Analyst <u>124</u>, 651, 1999.
- [332] M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher, Prog. Polym. Sci. 35, 1217, 2010.
- [333] Y. Zhu, C. Gao, J. Shen, Biomaterials 23, 4889, 2002.
- [334] I. Engelberg, J. Kohn, Biomaterials 12, 292, 1991.
- [335] Y. Meng, V. Pino, J. L. Anderson, Anal. Chim. Acta <u>687</u>, 141, 2011.
- [336] J. López-Darias, J. L. Anderson, V. Pino, A. M. Afonso, Anal. Bioanal. Chem. 401, 2965, 2011.
- [337] M. Wasielewska, A. Banel, B. Zygmunt, Int. J. Environ. Sci. Develop. 4, 221, 2013.
- [338] M. Wasielewska, B. Zygmunt, J. L. Anderson, Chromatographia 77, 151, 2014.
- [339] T. D. Ho, W. T.S. Cole, F. Augusto, J. L. Anderson, J. Chromatogr. A 1298, 146, 2013.
- [340] A. Berthod, E. Y. Zhou, K. Le, D. W. Annstrong, Anal. Chem. 67, 849, 1995.
- [341] Supelco Bulletin 880, The Retention Index System in Gas Chromatography: McReynolds Constants, Supelco, Bellefonte, USA
- [342] V. Pacakova, K. Stulik, J. Jiskra, J. Chromatogr. A 754, 17, 1996.
- [343] S. Król, B. Zabiegala, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 29, 1092, 2010.
- [344] Measurement of organic pollutants in water and wastewater (praca zbiorowa pod redakcją C. E. Hall) American Society for Testing and Materials ASTM STP, Philadelphia, 1978.
- [345] U. S. Environmental Protection Agency, Methods for the determination of organic compounds in drinking water, EPA-600/4-88/039. Cincinnati, 1991.
- [346] V. Muzyka, S. Veimer, N. Schmidt, Sci. Total. Environ. 35, 103, 1998.
- [347] D. Stoye, Paints and Coatings. W: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (Praca zbiorowa). Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- [348] M. A. Parra, L. González, D. Elustondo, J. Garrigó, R. Bermejo, J. M. Santamaría, Sci. Total. Environ. 370, 157, 2006.
- [349] R. Barro, J. Regueiro, M. Llompart, C. Garcia-Jares, J. Chromatogr. A <u>1216</u>, 540, 2009.
- [350] P. Wang, W. Zhao, Atmos. Res. 89, 289, 2008.
- [351] H. Sabik, R. Jeannot, B. Rondeau, J. Chromatogr. A <u>885</u>, 217, 2000.
- [352] Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption. Off. J. L 330 (1998) 32.
- [353] U. S. Environmental Protection Agency, List of Contaminants and their MCLs, Washington, 2010.
- [354] R. Eisert, K. Levsen, J. Chromatogr. A <u>737</u>, 59, 1996.
- [355] R. Eisert, K. Levsen, J. Am. Soc. Mass Spectr. 6, 1119, 1995.
- [356] C. Aguilar, S. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R. M Marcé, J. Chromatogr. A 795, 105, 1998.
- [357] N. Sauret-Szczepanski, P. Mirabel, H. Wortham, Environ. Pollut. 139, 133, 2006.
- [358] C. G. Zambonin, F. Palmisano, J. Chromatogr. A 874, 247, 2000.
- [359] C. Gonçalves, M. F Alpendurada, J. Chromatogr. A 963, 19, 2002.
- [360] S. Frías, M.A. Rodríguez, J.E. Conde, J.P. Pérez-Trujillo, J. Chromatogr. A <u>1007</u>, 127, 2003.
- [361] C. Cháfer-Pericás, R. Herráez-Hernández, P. Campíns-Falcó, J. Chromatogr. A 1125, 159, 2006.
- [362] E. Passeport, A. Guenne, T. Culhaoglu, S. Moreau, J.M. Bouyé, J. Chromatogr. A 1217, 5317, 2010.
- [363] S. Huang, H. Huang, Y. Sung, Talanta 64, 887, 2004.
- [364] I. J. Barnabas, J. R Dean, I. A Fowlis, S. P. Owen, J. Chromatogr. A 705, 305, 1995.
- [365] C. Rocha, E. A. Pappas, C. Huang, Environ. Pollut. <u>152</u>, 239, 2008.
- [366] D. Djozan, B. Ebrahimi, Anal. Chim. Acta <u>616</u>, 152, 2008.
- [367] D. Djozan, M. Mahkam, B. Ebrahimi, J. Chromatogr. A <u>1216</u>, 2211, 2009.
- [368] D. Djozan, B. Ebrahimi, M. Mahkam, M. A. Farajzadeh, Anal. Chim. Acta 674, 40, 2010.
- [369] A. Mohammadi, A. Ameli, N. Alizadeh, Talanta 78, 1107, 2009.
- [370] StatSoft. Elektroniczny Podręcznik Statystyki PL, Krakow, WEB: http://www.statsoft.pl/textbook/stathome.html
- [371] M. Czaplicka, Sci. Total. Environ. 322, 21, 2004.

- [372] A.O.Olaniran, E.O.Igbinosa, Chemosphere <u>83</u>, 1297, 2011.
- [373] C. Mahugi Santana, Z. Sosa Ferrera, M. E. Torres Padrón, J. J. Santana Rodríguez, Molecules 14, 298, 2009.
- [374] World Health Organization, Guidelines for Drinking Water Quality, Health Criteria and Other Supporting Information. Geneva, 1993.
- [375] U. S. Environmental Protection Agency, List of Drinking Water Contaminants & MCLs. Washington, 2004.
- [376] European Commission, 1998. Council Directive 98/83/EC, Official Journal of the European Commission L330, 32
- [377] U. S. Environmental Protection Agency, Federal Register. EPA Method 604. Washington, 1984.
- [378] U. S. Environmental Protection Agency, Federal Register. EPA Method 8041. Washington, 1995.
- [379] N. G. Simões, V. V. Cardoso, E. Ferreira, M. J. Benoliel, C. M.M. Almeida, Chemosphere 68, 2007, 501.
- [380] A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marce, J. Chromatogr. A <u>953</u>, 79, 2002.
- [381] E. González-Toledo, M.D. Prat, M.F. Alpendurada, J. Chromatogr. A 923, 45, 2001.
- [382] M. Mousavi, E. Noroozian, M. Jalali-Heravi, A. Mollahosseini, Anal. Chim. Acta 581, 71, 2007.
- [383] H Bagheri, E. Babanezhad, F. Khalilian, Anal. Chim. Acta <u>616</u>, 49, 2008.
- [384] H. Liu, J. Li, X. Liu, S. Jiang, Talanta 78, 929, 2009.
- [385] J. Feng, M. Sun, L. Xu, S. Wang, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1268, 16, 2012.

### Streszczenie

Wiele spośród związków zaliczanych do organicznych zanieczyszczeń środowiska podejrzewanych jest o działanie niekorzystne na zdrowie człowieka. Z tego powodu emisja tych związków podlega ograniczeniom prawnym, zgodnie z którymi dopuszczalna zwartość związków mających niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka w wodzie pitnej i próbkach żywności jest bardzo niska. W konsekwencji monitorowanie zawartości tego typu związków wymaga procedur analitycznych ze wstępnym etapem izolacji/wzbogacania analitów, gdyż większość technik analitycznych jest niedostatecznie czuła do bezpośredniego oznaczania związków obecnych w próbkach w ilościach śladowych czy ultraśladowych. Szczególnie przydatną i proekologiczną techniką, stosowaną na etapie przygotowania próbki przed analizą chromatograficzną jest technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) charakteryzująca się dużą prostotą i posiadająca wiele zalet, które umożliwiają pobieranie próbek szerokiej gamy analitów z mediów charakteryzujących się złożonym składem.

Osiągnięcie wysokiej selektywności i wydajności procesu ekstrakcji analitów w dużym stopniu zależy od rodzaju zastosowanego materiału sorpcyjnego, gdyż niewielka objętość fazy sorpcyjnej osadzonej na włóknie ekstrakcyjnym wpływa na ograniczoną ilość analitów zatrzymanych na włóknie ekstrakcyjnym. Do ekstrakcji analitów z próbek wodnych wykorzystywane są włókna urządzenia do SPME dostępne handlowo, jednakże włókna te posiadają szereg ograniczeń (niewielkie powinowactwo do polarnych analitów, konkurowanie analitów i składników matrycy o miejsca aktywne adsorbenta, istotny wpływ matrycy na przebieg procesu ekstrakcji oraz niekompletna desorpcja analitów z włókna). Z tego powodu jednym z głównych kierunków rozwoju techniki SPME jest opracowywanie nowych układów sorpcyjnych do izolacji/wzbogacania analitów, co było głównym celem przeprowadzonych badań.

Cel ten zrealizowano poprzez opracowanie procedur i przygotowanie trzech nowych dwufazowych układów sorpcyjnych wg koncepcji membranowej wersji techniki SPME. Jako fazy ekstrakcyjne zastosowano materiały sorpcyjne w formie pseudocieczy (ciała stałego posiadającego właściwości cieczy) eliminując wady wynikające z zastosowania adsorbentów jako faz ekstrakcyjnych, podjęto także próbę zastosowania cieczy jonowych w tej koncepcji ze względu na ich szczególne właściwości, co może przyczynić się do dużego postępu w zakresie badań nad rozszerzeniem możliwości zastosowania urządzenia do SPME w praktyce analitycznej. Na warstwie materiału sorpcyjnego osadzano także powłokę hydrofobowej membrany, która zapewnia możliwość zastosowania włókien SPME do bezpośredniej ekstrakcji analitów z mediów polarnych przy jednoczesnym wyeliminowaniu ryzyka częściowego rozpuszczenia czynnika ekstrakcyjnego w próbce oraz stwarza możliwość wprowadzenia do techniki SPME zupełnie nowych rodzajów materiałów, które ze względu na niską temperaturę topnienia bądź też rozpuszczalność w wodzie nie były do tej pory brane pod uwagę w tego typu zastosowaniach. W przeprowadzonych badaniach wyznaczono także temperatury topnienia i polarność stosowanych sorbentów oraz dokonano określenia powinowactwa sorbentów do wskazanych grup analitów. Przygotowane włókna ekstrakcyjne zastosowano następnie w procesie ekstrakcji analitów z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska o zróżnicowanej polarności i lotności (lotne związki organiczne, triazyny, fenole) z wykorzystaniem techniki M-SPME przed ich analiza chromatograficzna. Uprzednio dokonano optymalizacji warunków prowadzenia procesu ekstrakcji analitów, wyznaczono wartości liczbowe wybranych parametrów walidacyjnych opracowanych procedur analitycznych oraz porównano wydajności procesu ekstrakcji wybranych analitów bezpośrednio z próbki i z fazy nadpowierzchniowej, oraz wydajności procesu ekstrakcji dla różnych pokryć włókna ekstrakcyjnego.

Osiągnięcie granic wykrywalności całej procedury analitycznej na poziomie ppb czyni z membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej sprawne, proekologiczne narzędzie analityczne znajdujące zastosowanie na etapie przygotowania próbek do analizy chromatograficznej. Zastosowanie technik bezrozpuszczalnikowych w analityce przyczyni się do dużych ekonomicznych oszczędności związanych z zakupem rozpuszczalników o wysokiej czystości, kosztami zorganizowania systemu zbierania i utylizacji zlewek rozpuszczalnikowych oraz pozwoli na zmniejszenie ekspozycji personelu laboratoryjnego na pary szkodliwych związków. Technika M-SPME może być wykorzystana w każdym laboratorium analitycznym wykonującym analizy chromatograficzne z zastosowaniem techniki SPME na etapie przygotowania próbki, m.in. laboratoriach zajmujących się rutynową kontrolą i oceną stanu środowiska. Zastosowanie techniki MSPME w trakcie procedury oznaczania związków z grupy organicznych zanieczyszczeń środowiska dostarczy informacji niezbędnych dla wiarygodnej oceny stanu środowiska i zmian w nim zachodzących, a uzyskana szeroka baza danych może posłużyć do opracowania solidnych podstaw zarządzania zasobami środowiska.

# Summary

Many of the organic compounds classified as environmental pollution are suspected for the adverse effect on human health. For this reason emission of these compounds is restricted by law, according to which the permissible concentration of compounds having an adverse effect on human health in drinking water and food samples is very low. As a result, monitoring of the contents of these compounds requires analytical procedures with the preliminary step of the isolation/enrichment of the analytes, because most of analytical techniques are insufficiently sensible for direct determination of compounds presented in the sample in trace or ultra-trace amounts. Particularly useful and ecofriendly technology used in the sample preparation step prior to chromatographic analysis is a solid phase microextraction technique(SPME) characterized by a high simplicity and having many advantages, which allows sampling a wide variety of analytes from media with complex matrix composition.

Achieving a high selectivity and efficiency of the analytes extraction depends mostly on the type of absorbent material, since the low volume of the extraction phase deposited on the fiber involves the limited amount of the isolated analytes. Commercially available SPME fibers are used for the extraction of analytes from water samples, however these fibers have a number of limitations (low affinity for polar analytes, competition of matrix components and analytes of the adsorbent active sites, significant impact of the matrix component for extraction process and the incomplete desorption of analytes from the fiber). For this reason one of the main directions of development of the SPME technique is to introduce new sorption systems for the isolation/enrichment of analytes, which was the main objective of this research.

This object was achieved through the development of procedures and the preparation of three new two-phase sorption systems by the concept of a membrane version of the SPME technique. Sorbent materials in the form of pseudoliquids (solid having the properties of a liquid) were used as extraction sorbents, eliminating the drawbacks of adsorptive mechanism of extraction. An attempt has been also made to apply ionic liquids in this concept due to their particular properties, which may contribute to significant progress in research of implementation of SPME technique for analytical practice. An hydrophobic membrane was deposited on a layer of absorbent material, providing the possibility of using SPME fibers for direct extraction of analytes from polar media, eliminating the risk of partial dissolution of the extraction agent in the sample and creating the possibility to introduce new materials types in the SPME technique (having low melting temperature or water soluble), which have not been so far taken into consideration in this type of applications. In the presented study melting point, polarity and the affinity of sorbents for variety groups of analytes were determined. Prepared fibers were used for the extraction of organic analytes from the group of the environmental pollution of various polarity and volatility (volatile organic compounds, triazines, phenols) using M-SPME technique prior to chromatographic analysis. Previously optimization of the conditions of extraction process was made, values of selected validation parameters of the analytical procedures were determined and the comparison of efficiency of the extraction process directly from the sample and from the headspace above the medium, and the efficiency of the extraction process for the various fiber coatings were made.

Reaching the limit of quantification at a ppb level makes the membrane phase microextraction technique an efficient, environmentally friendly analytical tool applicable in the preparation of samples for chromatographic analysis. The use of solvent-free techniques in the environmental analysis may lead to major economic savings, associated with the purchase of high purity solvents, the costs of organizing the collection and disposal system of solvent wastes and allow to reduce the exposure of the laboratory personnel to vapors of harmful compounds. M-SPME technique can be used in any analytical laboratory performing chromatographic analysis using the SPME technique at the sample preparation step, among others laboratories involved in routine monitoring and evaluation of the environment. Application of M-SPME technique in the procedure of determination of the organic environmental pollution may provide the information necessary for a reliable assessment of the environment and changes therein, and the resulting wide database that can be used to develop a foundation of environmental management.

# **Dorobek naukowy**

### **Publikacje:**

- A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Chem. Soc. Rev., <u>39</u>, 4524, 2010. (IF 24,892)
- A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, *Talanta*, <u>87</u>, 1, 2011. (IF 3,498)
- A. Spietelun, A. Kloskowski, W. Chrzanowski, J. Namieśnik, Chem. Rev., 113, 1667, 2013. (IF 41, 298)
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Analyst, <u>138</u>, 5099, 2013. (IF 3,969)
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, J. Chromatogr. A, 1321, 1, 2013, (IF=4,612)
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Talanta*, <u>119</u>, 34, 2014. (IF 3,498)
- A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Analityka, 3, 30,2010

#### w przygotowaniu:

• Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, A. Spietelun, J. Namieśnik, Application of new sorption system based on polycaprolactone for determination of triazines in water samples using Membrane-Solid Phase Microextraction, *Anal. Bioanal. Chem.*- praca w recenzji

# Materiały konferencyjne:

#### wystąpienia opublikowane w całości:

- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, Membrane-SPME the best 'green' sample preparation technique for the gas chromatographic determination polar organic pollutants in polar media. Conference papers of 14th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers "Advancees in Chemical and Mechanical Engineering". Gdansk, 5-7.05.2011, s. 243-249.
- A. Spietelun, Determination of volatile organic compounds using solventless sample preparation techniques and gas chromatography, Conference papers of 15th International Symposium of Students and Young Mechanical Engineers "Advancees in Chemical and Mechanical Engineering", Gdańsk, 16-19.05.2012, s. 209-214.

#### wystąpienia opublikowane w formie streszczenia:

- A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Wykorzystanie membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (M-SPME) z fazy nadpowierzchniowej do oznaczania lotnych związków organicznych w wodzie. Materiały VIII Polskiej Konferencji Chemii Analitycznej "Analityka dla społeczeństwa XXI wieku" Kraków, 4-9.07.2010, s. 185.
- A. Spietelun, M. Pilarczyk, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Izolowanie i oznaczanie organicznych zanieczyszczeń środowiska w próbkach wodnych za pomocą techniki membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej M-SPME i chromatografii gazowej, Materiały IX Konferencji Chromatograficznej "Chromatografia? To przecież codzienność!" Poznań, 26-29.06.2011, s. 100.
- A. Spietelun, A. Kloskowski, M. Pilarczyk, J. Namieśnik, Achievements in green sample preparation for the gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of abstracts 14th Asian Chemical Congress 2011 (14 ACC), Bangkok, 05-08.09.2011. s.379 i 1220.
- A. Spietelun, A. Kloskowski, M. Pilarczyk, J. Namieśnik, Application of a novel double layer sorbent system in a membrane- solid-phase microextraction technique for the isolation and preconcentration of organic pollutants in water samples, Book of abstracts 16th European Conference on Analytical Chemistry (EA16), Belgrad, 11-15.09.2011, s. 163.
- J. Namieśnik, A. Spietelun, A. Kloskowski, M. Pilarczyk, Achievements in green sample preparation for the gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of abstracts 3rd Asia-Oceania Conference on Green and Sustainable Chemistry, Melbourne, Australia, 4-7.12.2011, s. 56.
- A. Spietelun, A. Kloskowski, M. Pilarczyk, J. Namieśnik, Application of novel double layer sorbent system in membrane solid-phase microextraction technique for the isolation of volatile organic compounds in water samples, Book of abstracts 14th The International Symposium on Extraction Technologies (ExTech), Messina, 24-26.09.2012, s. 155
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Application of green sample preparation techniques for the isolation, preconcentration and gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of abstracts 6th Shanghai International Symposium on Analytical Chemistry, Szanghaj, 16-18.10.2012, s. 45

- J. Namieśnik, A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, Application of green sample preparation techniques for the isolation, preconcentration and gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of abstracts Analytica Vietnam 3nd International Trade Fair for Laboratory Technology, Analysis, Biotechnology and Diagnostics, Ho Chi Minh City, 17-19.04.2013, s. 2
- Ł. Marcinkowski, A. Spietelun, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Zastosowanie zielonych technik mikroekstrakcji do pobierania oraz izolacji/wzbogacania analitów z próbek środowiskowych. Nowe rozwiązania metodyczne i aparaturowe, Materiały VI Konferencji Chromatograficznej: Zastosowanie technik chromatograficznych w analizie środowiskowej i klinicznej, Łódź, 15-17.05.2013
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, M. Pilarczyk, J. Namieśnik, Application of novel polycaprolactone/polydimethylsiloxane fibers in Membrane- Solid Phase Microextraction technique for the isolation and preconcentration of organic pollutants in water samples, Book of abstracts 6th Black Sea Basin Conference On Analytical Chemistry, Trabzon, 10-14.09.2013
- L. Marcinkowski, A. Spietelun, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Recent advances in green microextraction techniques for the isolation, preconcentration and gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of Workshop on Green Analytical Chemistry, Valencia, 9-10.09.2013, s. 12
- A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Recent advances in green microextraction techniques for the isolation, preconcentration and gas chromatographic determination of organic environmental pollutants, Book of 8th International Conference on Instrumental Methods od Analysis: Modern Trends and Applications, Thessaloniki, 15-19.09.2013, s. 132

### Rozdziały w książce - dziele zbiorowym:

w przygotowaniu:

• A. Kloskowski, Ł. Marcinkowski, A. Spietelun, J.Namieśnik, Green aspects of miniaturized sample preparation techniques (Praca zbiorowa pod redakcją F. Pena-Pereira). Versita Publishing, 2013

## Nagrody i wyróżnienia:

- Stypendium z programu MISTRZ, realizowanego przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (2011)
- Stypendium z funduszu własnego rektora na sfinansowanie wyjazdu na konferencję zagraniczną (2011)
- Stypendium za osiągnięcia naukowe w ramach Projektu "Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii" (2011/2012)
- Zwiększenie stypendium doktoranckiego z dotacji projakościowej (2010/2011) oraz (2013/2014)
- Stypendium "InnoDoktorant stypendia dla doktorantów, VI edycja" współfinansowane przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego (2014)

### Udział w realizacji projektach grantowych:

 Grant Narodowego Centrum Nauki na zrealizowanie projektu pt. "Opracowanie nowych układów sorpcyjnych do izolowania, pobierania próbek i oznaczania organicznych zanieczyszczeń środowiska za pomocą membranowej mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej i chromatografii gazowej"- kierownik projektu