

# **SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ**

## **XXXIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin**

**27. - 29.5.2002**

**Skalský Dvůr**

**Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii České společnosti chemické**

**Odbor potravinářské techniky a technologie ČAZV**

**Odbor výživy obyvatelstva a jakosti potravin ČAZV**

**Výzkumný ústav potravinářský Praha**

**Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha**

**Ed. Holasová M., Fiedlerová V., Špicner J.**

**VÚPP, Praha 2002**

**ISBN 80-902671-5-7**

## VÝVOJ ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ ALKYL FENOLŮ VE VZORCÍCH VODNÍHO EKOSYSTÉMU

Čajka T., Šetková L., Hajšlová J.

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

### ÚVOD

Alkylfenol polyethoxyláty patří mezi skupinu celosvětově hojně používaných neionogenních detergentů. Přes 50 let se používají v mnoha průmyslových odvětvích. Jejich použití však není jen v oblastech výroby čistících prostředků, ale také při zpracování vlny, při výrobě kůže, papírů, latexových barev, pesticidů. Dále mohou být používány jako zvlhčující, změkčující a flotační prostředky [1, 2].

Alkylfenol polyethoxyláty vstupují do čistíček odpadních vod, kde dochází k jejich biodegradaci na tři hlavní skupiny sloučenin: (i) alkylfenol polyethoxyláty s kratším ethoxylátovým řetězcem, (ii) alkylfenoxykarboxylové kyseliny a (iii) alkylfenoly, které jsou relativně perzistentní, lipofilní a více toxické než původní ethoxyláty [3].

### VÝSLEDKY A DISKUZE

Byly vyvinuty a z velké části validovány metody pro stanovení vybraných 4-alkylfenolů (4-*terc*-butylfenol, 4-*terc*-oktylfenol, 4-*terc*-nonylfenoly – technická směs isomerů, 4-*n*-oktylfenol, 4-*n*-nonylfenol) v odpadních vodách, odpadních kalech a rybách.

Pro extrakci alkylfenolů z **kapalných matic** se osvědčila opakovaná extrakce kapalina-kapalina (LLE) za použití dichlormethanu jako extrakčního činidla. Tato metoda není časově náročná, jelikož po extrakci následuje ihned chromatografická analýza. Použití izotopově značeného vnitřního standardu D<sub>8</sub>-4-*n*-nonylfenolu přidávaného před plynově chromatografickou analýzou koriguje variabilitu nálezů způsobených matričními efekty.

Jako vhodná extrakční metoda pro stanovení alkylfenolů v **odpadních kalech a rybách** se jeví extrakce sonikací za použití extrakční směsi, kterou tvoří dichlormethan/*n*-hexan (1:1, v/v). Tato technika poskytuje nejen přijatelnou výtěžnost, ale ve srovnání s extrakcí podle Soxhleta se vyznačuje nižšími pozadovými hodnotami. Rovněž zde použití izotopově značeného vnitřního standardu D<sub>8</sub>-4-*n*-nonylfenolu koriguje variabilitu nálezů způsobených matričními efekty.

V případě ryb gelová permeační chromatografie na styrendivinybenzenovém kopolymeru BioBeads SX-3 s mobilní fází cyklohexan/ethylacetát (1:1, v/v) umožnila odstranění většiny lipidických koextraktů (cca 90 %). Jelikož v daném systému dokonalá separace analytů od lipidů není možná, následuje dočištění pomocí extrakce na tuhou fázi. V módu selektivního promývání (analyty jsou zachyceny na daném sorbentu a po vymytí matričních interferentů dojde k eluci cílových analytů) byla testována řada sorbentů (alumina, CN, silika gel, SAX, SDX, C<sub>18</sub>) za použití ethylacetátu jako elučního činidla lipidů a methanolu jako elučního činidla alkylfenolů. V této konfiguraci dosahovalo nejvyšší účinnosti dočištění pomocí neutrální aluminové SPE kolonky.

V případě odpadních kalů byla k přečištění extraktů opět použita technika gelová permeační chromatografie na BioBeads SX-3 s mobilní fází cyklohexan/ethylacetát (1:1, v/v), která zde slouží pro oddělení cílových analytů od řady výšemolekulárních látek, které se při extrakci rovněž izolují, a které by pak mohly při chromatografické analýze ovlivňovat stanovení alkylfenolů (matriční efekty, zanášení analytické kolony).

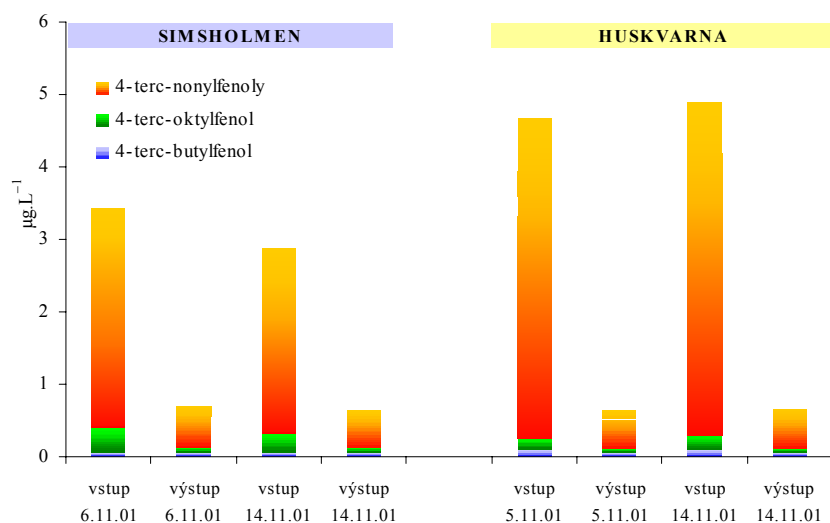
Cílové analyty neobsahují žádné hetero atomy či funkční skupiny, které by umožňovaly jejich více či méně selektivní detekci „konvenčními“ detektory využívaných jinak v reziduální analýze perzistentních organických polutantů. Aplikace hmotnostní spektrometrie je proto jediným vhodným řešením.

Byla testována vysokorozlišovací plynová chromatografie (HRGC) ve spojení s nízkorozlišovacím hmotnostně-selektivním detektorem (LRMS) s ionizací nárazem elektronů (EI) se dvěma typy hmotnostních analyzátorů (kvadrupól a iontová past).

**Obrázek 1** dokumentuje výskyt alkylfenolů v odpadních vodách ze dvou švédských lokalit: Huskvarna a Simsholmen. Zatímco na vstupu do čističky odpadních vod se výskyt sumy alkylfenolů pohyboval v intervalu  $2,9 - 4,8 \mu\text{g.L}^{-1}$  a byl pozorován rozdíl mezi sledovanými lokalitami, na výstupu již tento rozdíl znát nebyl a koncentrace alkylfenolů se pohybovaly v úzkém intervalu  $0,6 - 0,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

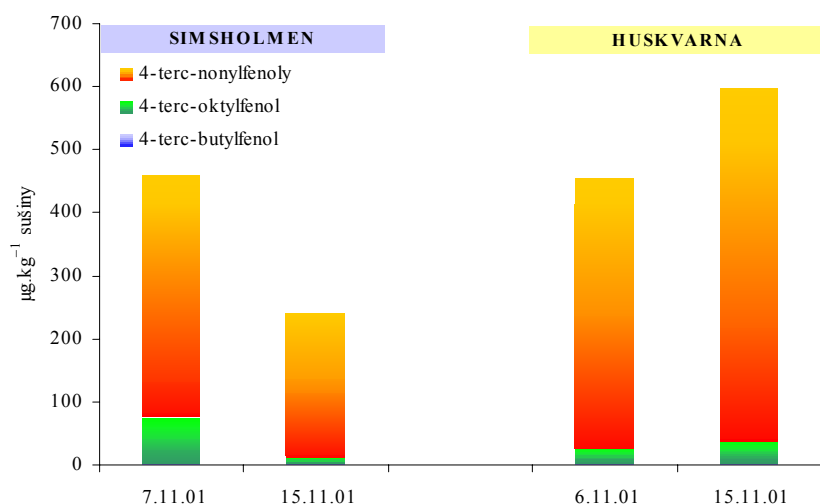
Čistírenská technologie vedla v obou případech k výrazné eliminaci obsahu alkylfenolů o více než 77 % v případě lokality Simsholmen a o 86 % v případě lokality Huskvarna.

Obdobný výskyt alkylfenolů v odpadních vodách byl zaznamenán v řadě studií. Německá studie, která si rovněž všimla poklesu obsahu alkylfenolů v odpadních vodách na vstupu a výstupu z čističek odpadních vod, uvádí snížení výskytu těchto látek o 30 – 75 % v závislosti na ročním období [4]. Obdobná studie realizovaná v Kanadě uvádí pokles obsahu 4-alkylfenolů o 49 % [5].



**Obrázek 1** Výskyt vybraných alkylfenolů v odpadních vodách ve Švédsku

Výskyt alkylfenolů v odpadních kátech z čističky odpadních vod se pohyboval v intervalu  $241 - 599 \mu\text{g.kg}^{-1}$  sušiny (**Obrázek 2**). Zvýšený obsah analytů byl zaznamenán v lokalitě Huskvarna, což přímo koreluje s vyššími nálezy v odpadních vodách z této lokality.



**Obrázek 2** Výskyt vybraných alkylfenolů v odpadních sedimentech ve Švédsku

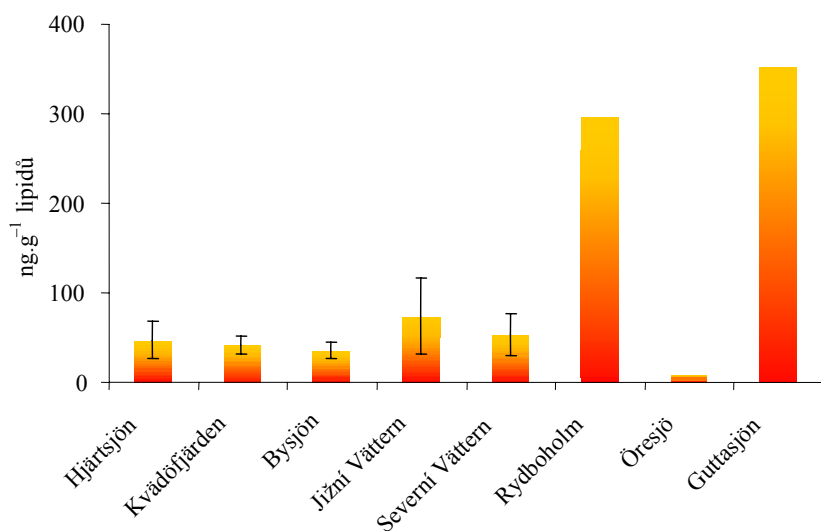
Ve vzorcích švédského vodního ekosystému byl sledován výskyt 4-terc-oktylfenolu v rybách (**Tabulka 1**).

**Tabulka 1** Charakteristika vzorků ryb pro stanovení 4-terc-oktylfenolu

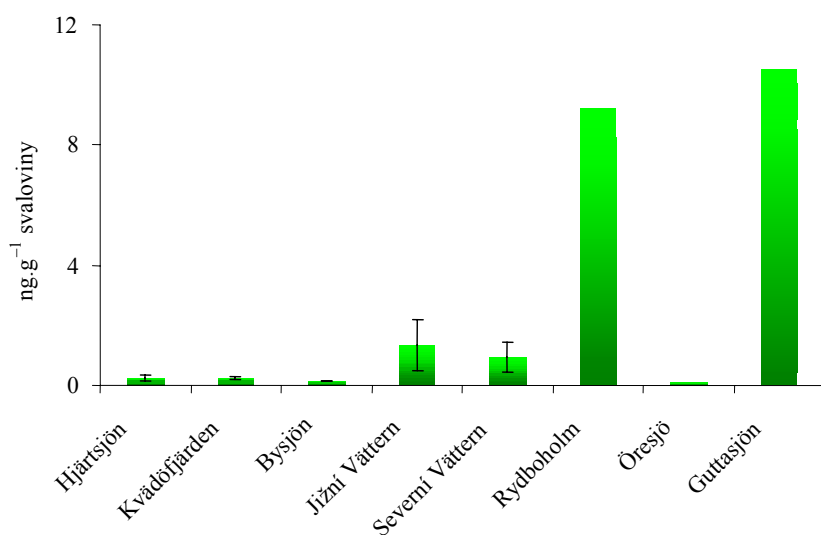
lokality	druh ryby
jezero Hjärtsjön	okoun říční
Baltické moře (Kvädöfjärden)	okoun říční
jezero Bysjön	okoun říční
jezero Jižní Vättern	siven arktický, okoun říční
jezero Severní Vättern	siven arktický, okoun říční
řeka Viskan, odběrová místa: Rydboholm, Guttasjön, Öresjö	cejn velký

Obsah tohoto analytu byl nejvyšší v lokalitách Rydboholm a Guttasjön. Obě lokality se nachází poblíž řeky Viskan pod výstupy z čističek odpadních vod, které jsou zřejmě zdrojem kontaminace (**Obrázek 3, 4**). Na druhou stranu výskyt 4-terc-oktylfenolu v lokalitě Öresjö (rovněž okolí řeky Viskan) dosahoval pouze pozadových hodnot.

Výskyt 4-terc-oktylfenolu byl u ryb ve švédských jezerech nízký ve srovnání s dříve uvedenými kontaminovanými lokalitami.



**Obrázek 3** Výskyt 4-*tert*-oktylfenolu v rybách ve Švédsku (vyjádřeno na lipidy)



**Obrázek 4** Výskyt 4-*tert*-oktylfenolu v rybách ve Švédsku (vyjádřeno na svalovinu)

Jako alternativa k použití kvadrupólového hmotnostního analyzátoru (HP 5973 MS, Hewlett-Packard, USA) byl testován hmotnostní analyzátor iontová past (Polaris Q, Finnigan, USA), především v módu MS/MS, kdy jsou molekuly vzorku ionizovány v iontovém zdroji a specifické (mateřské) ionty jsou izolovány a pak následně fragmentovány na ionty dceřinné. Dochází tak ke zvýšení selektivity detekce a ke snížení chemického šumu. Tento mód byl testován u 4-*tert*-butylfenolu a 4-*tert*-oktylfenolu, jelikož se jedná o látky, kde je potřeba (především při analýzách vzorků ryb) dosáhnout dobrých detekčních limitů, a rovněž jsou to látky, jejichž nejintenzivnější iont  $m/z$  135 je ještě vhodný pro tuto techniku (s klesající hodnotou  $m/z$  klesá selektivita). Použitím tohoto módu bylo dosaženo nižších detekčních limitů oproti módu SIM. Mez stanovitelnosti (LOQ) činila pro 4-*tert*-oktylfenol 18 ng.g<sup>-1</sup> lipidů v případě použití kvadrupólu (mód SIM), resp. 25 ng.g<sup>-1</sup> lipidů při použití iontové pasti (mód MS/MS).

## ZÁVĚR

Zavedení a validace vhodných analytických metod pro stanovení poměrně netradičních environmentálních kontaminantů – alkylfenolů otevírají prostor pro sledování zátěže vodního ekosystému těmito sloučeninami. Na úplný závěr je nutno poznamenat, že kontaminace životního prostředí alkylfenoly se zřejmě netýká pouze vod a ryb, ale dle nedávno prezentované německé studie, rovněž řady potravin [6]. Potřeba vhodných analytických metod je tak nezbytná pro sledování eventuální zátěže populace těmito kontaminanty.

## REFERENCE

- [1] D.T. Bennie, C.A. Sullivan, H.-B. Lee, T.E. Peart, R.J. Maguire: *Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great Lakes basin and the upper St. Lawrence River*, Sci. T. Environ. 193, 263-275, 1997
- [2] T.L. Keith, Sh.A. Snyder, C.G. Naylor, Ch.A. Staples, Ch. Summer, K. Kannan, J.P. Giesy: *Identification and quantitation of nonylphenol ethoxylates and nonylphenol in fish tissues from Michigan*, Environ. Sci. Technol. 35, 10-13, 2001
- [3] R. Renner: *European bans on surfactant trigger transatlantic debate*, Environ. Sci. Technol. 31, 316A-320A, 1997
- [4] W. Körner, U. Bolz, W. Süßmuth, G. Hiller, W. Schuller, V. Hanf, H. Hagenmaier: *Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany*, Chemosphere 40, 1131-1142, 2000
- [5] H.B. Lee, T.E. Peart: *Determination of 4-nonylphenol in effluents and sludge from sewage treatment plants*, Anal. Chem. 67, 1976-1980, 1995
- [6] K. Günther, V. Heinke, B. Thiele, E. Kleist, H. Prast, T. Räcker: *Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food*, Environ. Sci. Technol. 36, 1676-1680, 2002