

——— Tudományos Diákköri Dolgozat ———

ÜVEGES ZSUZSANNA

**A MEPS™ eljárás alkalmazása klórozott
peszticidek és fenolok együttes GC-MS
vizsgálatában**

Dr. Eke Zsuzsanna

egyetemi adjunktus

Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium

Analitikai Kémiai Tanszék



——— Eötvös Loránd Tudományegyetem ———

——— Természettudományi Kar ——

— Budapest, 2012 —

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4. oldal
2. Célkitűzés	4. oldal
3. Irodalmi áttekintés	5. oldal
3.1 A GC-MS áttekintés	5. oldal
3.2 Mintabeviteli technikák	6. oldal
3.2.1 Split/splitless injektálás	7. oldal
3.2.2 Nagytérfogatú injektálás	8. oldal
3.2.2.1 Mintabevitel oldószer lefűvátás módban	10. oldal
3.2.2.2 Kétlépcsős lefűvátás	12. oldal
3.3 Minta-előkészítési módszerek	13. oldal
3.3.1 A folyadék-folyadék extrakció	13. oldal
3.3.2 MEPS TM	14. oldal
3.4 A célvegyületek	15. oldal
3.4.1 Fenolok	15. oldal
3.4.2 Klórozott peszticidek	16. oldal
4. Kísérleti rész	18. oldal
4.1 Anyagok és eszközök	18. oldal
4.2 A célkomponensek kiválasztása	18. oldal
4.3 Mérési módszer a folyadék-folyadék extrakcióval	20. oldal
4.3.1 A minta-előkészítési lépés	20. oldal
4.3.2 A mérési módszer	20. oldal
4.3.3 A kimutatási határok	21. oldal
4.4 Mérési módszer nagytérfogatú injektálással	22. oldal
4.4.1 A nagytérfogatú injektálás hatékonysága	23. oldal
4.4.2 Mérési módszer a MEPS TM eljárással	25. oldal
4.4.2.1 A töltet és az eluens megválasztása	25. oldal
4.4.2.2 Kondicionálás és mosás	26. oldal
4.4.2.3 A mintafelvétel	26. oldal
4.4.2.4 Vízüntesítés	28. oldal
4.4.2.5 Kimutatási határok a MEPS TM eljárással	28. oldal
4.5 A mérési módszerek összehasonlítása	29. oldal
4.5.1 Kimutatási határok	30. oldal
4.5.2 Egyéb szempontok	32. oldal
5. Összefoglalás	33. oldal
6. Irodalomjegyzék	34. oldal

Rövidítésjegyzék

AMU	Atomi tömegegység
DCM	Diklórmétán
4,4'-DDD	1,1-diklór-2,2-di(4-klórfenil)etán
4,4'-DDE	1,1-diklór-2,2-di(4-klórfenil)etilén
4-4'-DDT	1,1,1-triklór-2,2-di(4-klórfenil)etán
EtAC	Etil-acetát
GC-MS	Gázkromatográf-tömegspektrométer
HCH	Hexaklórciklohexán
IARC	Nemzetközi Rákkutató Testület
LLE	Folyadék-folyadék extrakció
LOD	Detektálási határ
MEPS	Microextraction by Packed Sorbent
PTV	Programozható hőmérsékletű injektor

1. Bevezetés

Napjaink intenzív ipari és mezőgazdasági tevékenysége következtében környezetünket folyamatos, erős és sokrétű terhelés éri, melynek hatásai mind az emberre, mind más élőlényekre, a legtöbb esetben bizonyítottan negatívak. Főleg ez az oka annak, hogy az utóbbi évtizedekben egyre inkább meghatározóvá válik a környezettudatos szemlélet – legyen szó hétköznapi szokásokról, bonyolult technológiai folyamatokról, vagy éppen analitikai mérési módszerekről. A GC-MS áttekintés a takarékosági és környezetvédelmi szempontok előtérbe kerülésével az utóbbi évtized környezetanalitikájának bevett vizsgálati módszere lett. Egy GC-MS áttekintő vizsgálat során több, különböző vegyületcsoportba tartozó komponensek szimultán kimutatása a cél. Ez akár több száz vegyület együttes kimutatását is lehetővé teszi, így minimálisra csökkentve a szükséges mérések számát. A környezetvédelemnek tehát hatékony eszközei lehetnek a GC-MS áttekintő módszerek.

A GC-MS áttekintés alapvető céljaival - gazdaságosság, környezettudatosság – jól összeegyeztethető, viszonylag új minta-előkészítési technológia a MEPSTM. Ez korszerűbb és takarékosabb helyettesítője lehet a vízminták GC-MS áttekintő analízisében elterjedten alkalmazott folyadék-folyadék extrakciónak.

2. Célkritizálás

Munkám alapját egy, a kutatócsoport által fenolokra kidolgozott kezdeti GC-MS áttekintő mérési módszer képezte. A kutatócsoport célja, hogy további vegyületcsaládok bevonásával a módszert bővítse, és egy széleskörűen alkalmazható áttekintő eljárást dolgozzon ki. Ebbe a munkába kapcsolódtam be, és azt vizsgáltam, hogy a fenolok és klórozott peszticidek szimultán kimutatása megvalósítható-e a rendelkezésemre álló GC-MS áttekintő módszerrel. Továbbá, amennyiben szükséges, milyen változtatások vezethetnek megoldásra. Munkám egy köztes lépcsőfokát jelenti egy komplex GC-MS áttekintő módszert kidolgozásának.

Kísérleteim során tehát az említett két vegyületcsalád tagjainak együttes mérési lehetőségeit vizsgáltam. Tanulmányozásuk szükségességét igazolja mind a környezetünkben való előfordulási gyakoriságuk, mind pedig toxicitásuk és perzisztenciájuk. A munka legfőbb nehézségét az jelentette, hogy ezen vegyületek fizikai-kémiai tulajdonságaiban jelentős eltérések vannak.

Az áttekintő vizsgálatok csak a megfelelő detektálási határok (Limit of Detection, LOD) elérése esetén alkalmasak a minták előválogatására. Mivel a végső cél, hogy rutin laboratóriumi eljárásként alkalmazható módszert dolgozzak ki, fontos volt, hogy az előírt határértékeknél kisebb mennyiségek is biztonsággal kimutathatóak legyenek. Azonban az áttekintés jellegéből adódóan a rosszabb érzékenységgel rendelkező SCAN tömegspektrometriás adatgyűjtési módot alkalmaztam. Így a minták precíz és nagyfokú dúsítása a minta-előkészítés során kulcsfontosságú. Elsődleges céljaim között szerepelt tehát, hogy vizsgáljam, milyen kimutatási határok érhetőek el folyadék-folyadék extrakciót, illetve MEPSTM technológiát alkalmazva minta-előkészítésként.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A GC-MS áttekintés

A GC-MS áttekintés egy olyan félkvantitatív analitikai módszer, melynek célja előre nem meghatározott, akár több száz, a közepesen illékony vegyületek (Semivolatile Organic Compounds, SVOC) csoportjába sorolható szennyezők együttes kimutatása (Novák, 2012). Ez egy a vegyületspecifikus gázkromatográfiás elemzéseket megelőzően alkalmazandó vizsgálati módszer, melynek univerzálisnak kell lennie. Alkalmazásával a vegyületspecifikus analitikák száma minimálisra csökkenthető, a vizsgálatok hatékonysága és gazdaságossága pedig összességében növelhető.

Az áttekintés jellemzője, hogy a vele szemben támasztott elvárások alapvetően különböznek egy kvantitatív analitikai vizsgálat követelményeitől. Áttekintő módszer kidolgozása során ugyanis arra törekszünk, hogy a célkomponensek az érvényben lévő határérték alatti koncentrációban is biztonsággal kimutathatóak legyenek. Ekkor céljaink között nem szerepel a pontos mennyiségi meghatározás, a minél alacsonyabb kimutatási határ, illetve a lehető legjobb analitikai teljesítményjellemzők elérése. Mindazonáltal azt is fontos látni, hogy az adott mérési módszer eredményeinek szórása közvetve hatással van az elérhető kimutatási határokra. A módszer lényege tehát, hogy egyazon módszerrel minél többféle vegyület kimutatható legyen.

A bomlás nélkül elpárologtatható szerves komponenseket tartalmazó környezeti vízminták analízise az esetek legnagyobb részében gázkromatográfiásan valósul meg¹. Így a fenolok és klórozott peszticidek vízből történő kimutatására is gázkromatográfot használtam. A gázkromatográfiás oszlopról bizonyos sorrendben eluálódó komponensek detektálásra azonban a mérendő komponensektől illetve céljainktól függően többféle detektort is alkalmazhatunk (lángionizációs-, hővezetőképességi-, elektronbefogási detektor, valamint tömegspektrométer). Az áttekintés jellegéből adódóan a detektornak univerzálisnak kell lennie. Kísérleteim során detektorként tömegspektrométert (MS) alkalmaztam. Az MS a leghatékonyabbnak tekinthető detektor, mely kétféle adatgyűjtési módban, pásztázó (SCAN) és szelektív ionkövetési (SIM) módban használható. SCAN módban egy általunk megadott tömegtartományt pásztázunk folyamatosan, a minőségi azonosítás pedig az adott komponensre jellemző tömegspektrum alapján történik. SIM mód esetén előre ismernünk kell a keresett komponensek retenciós idejét és jellemző ionjaikat. Ezzel ugyan kb. 1-1,5 nagyságrenddel kisebb kimutatási határok érhetők el, azonban az áttekintés során az ismeretlen vegyületek kimutatása a cél, ezért célszerű a SCAN módot alkalmazni.

3.2 Mintabeviteli technikák

A gázkromatográfiának hatékonyság szempontjából az egyik legkritikusabb pontja a mintabevitel. A mintát gőz vagy folyadék formájában juttatjuk az injektorba, ahonnan az elpárologtatást követően a vivőgáz viszi rá az oszlopra. Az injektálással szembeni fő követelmények, hogy pillanatszerű legyen, valamint a minta torzítás, azaz diszkrimináció nélkül kerüljön elemzésre.

Pillanatszerű injektálásra azért van szükség, hogy a felvitt minta keskeny dugót képezzen az oszlop elején. Ekkor kapunk ugyanis keskeny csúcsokat az elválasztás során. A hosszirányú diffúzió miatt ugyanis a minta szélesedik, rontva a csúcsalakokat és az elválasztás hatékonyságát. Ezt a jelenséget a sebességi elmélet magyarázza (Kremmer & Torkos, 2005). A pillanatszerű mintabevitel feltétele kis belső átmérőjű oszlopok (0,53 mm alatt) esetén nehezebben kivitelezhetőek.

¹ Korlátot a megfelelő elpárologtatás miatt a molekulatömeg jelent. Általánosságban a 600 g/mol –nál nagyobb molekulatömegű komponensek gázkromatográfiás mérése származékképzés nélkül nem valósítható meg.

Ha az oszlopra juttatott komponensek aránya megfelel a mintában találhatóéhoz, a minta torzítatlanul került a kolonnára. Ellenkező esetben diszkriminációról beszélhetünk. Ennek oka leggyakrabban a célkomponensek forráspont-különbsége, aminek következtében a különböző forrásponttal rendelkező vegyületek eltérő mértékben alakulnak gőzzé. Így például, a magas forráspontú vegyületekből lassabb párolgásuk miatt kevesebb jut az oszlopra. Ezzel szemben az illékony anyagok már a forró injektorba való behatolás során elkezdhetnek párologni a fecskendő tűjéből. Ezt nevezzük tú diszkriminációnak (Grob & Biedermann, 1996).

Minimalizálандó ezeket a problémákat, többféle injektálási módszer létezik. Annak függvényében, hogy milyen tulajdonságú vegyületekkel dolgozunk, mi a célunk és milyen kompromisszumot van lehetőségünk kötni annak elérése érdekében, dönthetünk, hogy melyiket a legcélszerűbb alkalmazunk.

3.2.1 Split/splitless injektálás

A kapilláris oszlopokkal egyidőben kifejlesztett split/splitless injektorok kétféle módon használhatóak.

Split módban az injektor hőmérsékletén gőzállapotba kerülő minta nagy része a split ágon távozik és csak a kis hányada kerül a kromatográfiás oszlopra. Ezt a mennyiséget a vivőgáz áramlási sebessége és a split ágon szabályozott áramlási sebesség aránya határozza meg, ez a split arány. A mintaadagolás pillanatszerű, így ez a módszer adja a legélesebb és legszimmetrikusabb csúcsokat. A módszer egyik jelentős hátrányát azonban éppen a rövid mintabevitel adja. Így ugyanis a magas forráspontú vegyületek nem tudnak teljesen elpárologni, ennél fogva analízisük során diszkrimináció léphet fel. Tovább szűkíti a lehetséges alkalmazások körét, hogy mivel a mintának csak a töredéke kerül elemzésre, nyomanalitikai vizsgálatokra kevésbé alkalmas.

A splitless injektálás alkalmazásával éppen ez utóbbi problémát küszöbölhetjük ki. Ekkor ugyanis az injektor split szelepét az injektálás pillanatától adott ideig zárva tartjuk (splitless idő). Így a minta nagyobb része jut az oszlopra, a maradék pedig a splitless idő elteltével a megnyíló split szelepen át lefúvatásra kerül. A mintabevitel azonban itt már nem történik pillanatszerűen. Az ebből adódó csúcskiszélesedés elkerülésére kriofókuszálást alkalmazunk. Ekkor az oszlop kiindulási hőmérsékletét úgy választjuk meg, hogy az alkalmazott oldószer forráspontjánál kb. 20°C-kal alacsonyabb

legyen. Így az oszlop elején lekondenzált oldószer időszakosan duzzasztja állófázist – ezt nevezik oldószerfókusznak – amiben az oldott anyagok oldva maradnak, miközben az oldószer borította szakasz a párolgás következtében egyre rövidül. Ez a módszer tehát koncentrálja a komponenseket, vagyis azok a hőprogram indulása és az oldószer elpárolgása után keskeny dugót képeznek az oszlop elején.

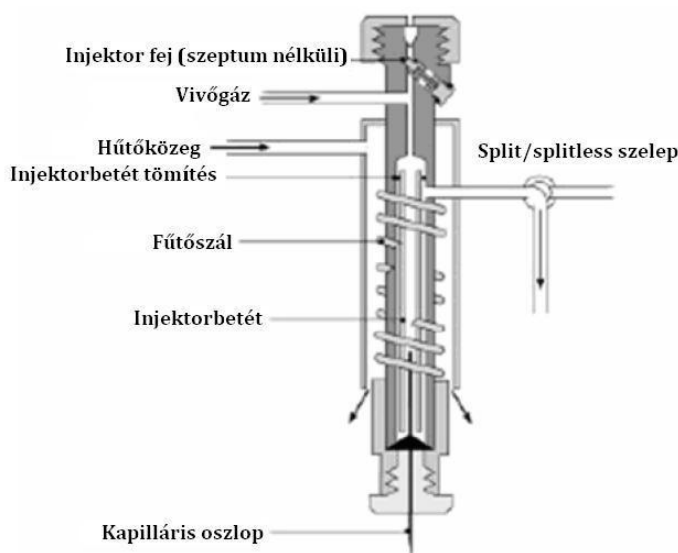
A splitless mintabeviteli technika egyik változata a hideg splitless injektálás. Ennek lényege, hogy az injektálás során a minta az oldószer forráspontja alá hűtött injektorba jut, a felfűtés pedig csak a tű eltávolítása után indul meg. Így minimalizálható a tű-diszkrimináció miatti komponensveszteség. Ezt az injektálási módszert azonban csak programozható hőmérsékletű injektorral valósíthatjuk meg.

3.2.2 Nagytérfogatú injektálás

A nyomanalitikában komoly hátránya a gázkromatográfiának, hogy csak néhány µl mintát képes vizsgálni, ezért a szükséges kimutatási határ eléréséhez komplex minta-előkészítési módszerekre és a minta előzetes koncentrálására van szükség. Az egyik leggyakrabban alkalmazott ilyen minta-előkészítési lépés a bepárlás. Ezek az eljárások azonban idő- és költségigényesek. Nagyobb mintatérfogatok injektálása egyszerűsíthetné és gyorsíthatná a minta-előkészítést, vagy azonos előkészítési lépések mellett csökkenthetné az adott módszer kimutatási határát. A kimutatási határok csökkentése az egyre szigorodó jogszabályok miatt általánosan tekintve is egyre fontosabb cél. Ezt azonban nem csak a detektorok érzékenységének növelésével érhetjük el, hanem a problémát megközelíthetjük a minta-előkészítés illetve a mintabevitel oldaláról is. A nagytérfogatú injektálás megvalósítására számos javaslat született, azonban széles körben leginkább a programozható hőmérsékletű injektor van elterjedőben (Engewald és mtsai, 1999; illetve Hoh & Mastovska, 2008).

Az első, ma használtakhoz hasonló szerkezetű programozható hőmérsékletű injektort (Programmed Temperature Vaporiser, PTV) Poy fejlesztette ki 1981-ben (Poy, 1981). Ez máig a legsokoldalúbban használható, nagytérfogatú injektálásra alkalmas technológia. Lényege, hogy az oldószert a hideg injektorból a split ágon lefűtve a magasabb forráspontú vegyületek az injektorbetétben maradnak, majd az injektor felfűtését követően az oszlopra kerülnek.

A mai programozható hőmérsékletű injektorok a hagyományos injektorokhoz képest lényegesen kisebb térfogatúak, és az alkalmazott injektorbetétek is kisebb átmérővel rendelkeznek abból a célból, hogy dinamikusabban fűthetőek, illetve hűthetőek legyenek. Az injektor hűtése többféle módon lehetséges. Megvalósítható folyékony nitrogénes- vagy széndioxidos hűtéssel, Peltier-típusú hűtőrendszerrel, továbbá léteznek aktív hűtőrendszerrel nem rendelkező rendszerek is. Peltier-típusú hűtőrendszert alkalmazva már határoztak meg fenolokat (Novák, 2012). Ezen hűtőrendszerek működése hőelektromos elveken alapul. A segítségével elérhető minimum hőmérséklet kb. 10°C (Inlets for Capillary Gas Chromatography, GERSTEL, 2007). Napjaink egyik legelterjedtebb PTV injektora a Gerstel Cooled Injection System (CIS™) injektor. Ennek felépítése az 1. ábrán látható.



1. ábra: A Gerstel CIS injektor felépítése

Az injektor különböző injektálási módokban használható (Sample Introduction Techniques For Capillary Gas Chromatography, GERSTEL, 2007). Végezhető vele split és splitless injektálás hagyományos (vagyis forró) és hőprogramozott (hideg) módban; illetve alkalmas nagytérfogatú injektálásra az oldószer lefúvatás üzemmód segítségével. Forró split és splitless módban korlátot jelent, hogy az injektorbetét mérete maximum néhány μl (1-3 μl) minta injektálását teszi lehetővé. Hideg split illetve splitless módot alkalmazva azonban a minta az oldószer forráspontja alá hűtött injektorba jut, így az

illékony komponensek diszkriminációja minimalizálható. A módszer további előnye, hogy a mintában esetlegesen jelen lévő hőbomlásra hajlamos vegyületek kisebb hőterhelésnek vannak kitéve.

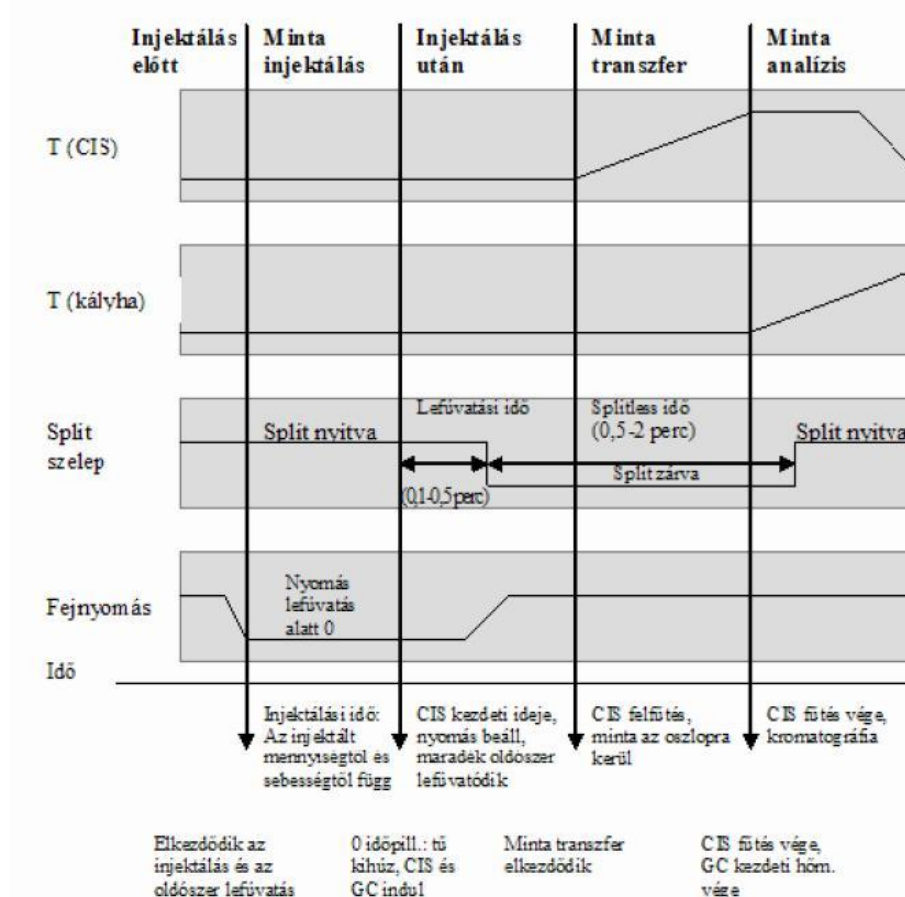
3.2.2.1 Mintabevitel oldószer-lefúvatás módban

PTV injektorral nagytérfogatú injektálást oldószer lefúvatás (solvent vent) üzemmódban végezhetünk. Ennek lényege, hogy a mintát a hideg split vagy splitless módhoz hasonlóan az oldószer forráspontja alá hűtött injektorba juttatjuk, majd az oldószert szelektíven lefúvatjuk a vivőgáz megfelelő áramlási sebességének fenntartásával a split szelepen keresztül. Eközben a magasabb forráspontú vizsgálandó komponensek az injektorbetétben maradnak, ahonnan az injektor felfűtése után kerülnek az oszlopra (Szekeres, 2007). Fontos, hogy az oldószer csak akkor fúvatható le szelektíven, ha forráspontja és a vizsgálandó vegyületek forráspontja között legalább 150°C különbség van (Szekeres, 2007). Az ennél illékonyabb vegyületek a lefúvatás során részlegesen elveszhetnek, ami diszkriminációhoz vezet.

A mintabevitel történhet gyorsan, egyszeri vagy ismételt injektálásokkal, illetve vezérelt sebességű injektálással is (Abdel-Rehim, 2003). Az ismételt injektálás lényege, hogy a nagyobb térfogatú mintát kis mennyiségekben juttatjuk be a műszerbe, ügyelve arra, hogy az oldószer két injektálás között lefúvatásra kerüljön. Vezérelt sebességű injektálás során a mintát folyamatosan, egy meghatározott sebességgel juttatjuk az injektorba, ahol ez alatt folyamatosan történik a lefúvatás a split szelepen keresztül, ugyanakkor a célkomponensek az injektor betét felületén maradnak. A cél olyan beállítások kialakítása, amikor az oldat megfelelő sebességgel áramlik ki a fecskendőből ahhoz, hogy a folyadék az injektorbetét falán filmet képezzen, és az injektor hőmérséklete valamint a vivőgáz áramlási sebességének hatására az oldószer folyamatosan párolog el a filmből és távozik a split ágon át, míg a fecskendőből érkezik az utánpótlás (Engewald & Teske, 1999; valamint Stan & Linkerhagner, 1996).

A 2. ábra a PTV nagytérfogatú injektálás folyamatát mutatja be. Az injektálás megkezdésekor az injektor hőmérséklete az oldószer forráspontjához igazítottan hideg (annál 30 °C-kal alacsonyabb), a kályha a kezdeti hőmérsékleten áll és a split szelep nyitva van. Ahogy az oldat az injektorba jut, megkezdődik a lefúvatás. PTV CISTM injektort használva lehetőségünk van ún. „stop flow” üzemmódban injektálni. Ekkor a

lefúvatás alatti fejnyomás közel megegyezik a légköri nyomással. Így a lefúvatás hatékonysága növelhető, hiszen kisebb nyomáson alacsonyabb az oldószer forráspontja. Továbbá minimalizálhatjuk az oszlopra feleslegesen kerülő oldószer mennyiségét (Szekeres, 2007). Az injektálás befejeztével a split szelep még nyitva marad, hogy az injektorban maradt fölös oldószer is lefúvatásra kerüljön, majd zárul, elindul az injektor fűtése és megkezdődik a minta oszlopra juttatása. A splitless idő eltelte után a split szelep újra nyit, hogy az injektorban maradt anyagok eltávozhassanak (hogy ne terheljék az oszlopot) és megindul az oszloptér felfűtése is. Az injektor programjának lejártával annak fűtése megszűnik, miután pedig a termosztát visszahűlt a kiindulási hőmérsékletre, bekapcsol az injektor hűtése és beállítja azt az injektálási hőmérsékletre².



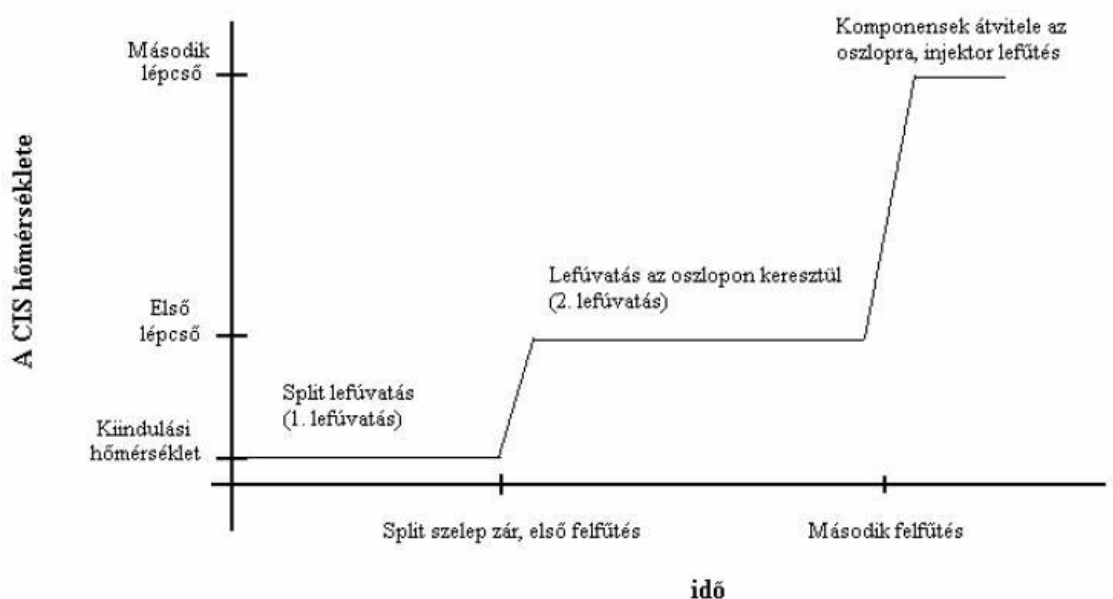
2. ábra: A nagyterfogatú injektálás részfolyamatai időben

² Az injektor injektálás alatti, kezdeti hőmérsékletét az oldószer forráspontjától függően állítjuk be. Az injektor hőmérsékletének kb. 30 °C-kal kell alacsonyabbnak lennie, mint az oldószer forráspontja.

3.2.2.2 A kétlépcsős lefűtatás

Illékonyabb komponensek (melyek forráspontja kevesebb, mint 150 °C-al magasabb az oldószerénél) vizsgálata esetén azonban problémát okoznak a vezérelt sebességű, oldószer lefűtatásos injektálás során fellépő veszteségek. E veszteségek minimalizálására alkalmazhatjuk a nagytérfogatú injektálás egy speciális módszerét, a kétlépcsős lefűtatásnak nevezett eljárást (Szekeres, 2007). A módszer (lásd 3. ábra) elméleti alapját az képezi, hogy az illékonyabb komponensek visszatartásában meghatározó szerepet játszik a párolgó oldószer utolsó néhány mikrolitere. Az oldószer injektálás közben történő lefűtatását úgy optimáljuk, hogy a split szelep zárása előtt még néhány μl maradjon az injektorban. A visszamaradó oldószer az oszlop irányában fűtatjuk le. Mivel az oszlopon csak alacsony áramlási sebesség biztosítható, a második lefűtatáshoz meg kell emelni az oldószer gőznyomását. Ezt az injektor programjában egy második hőmérsékleti lépcső beiktatásával tehetjük meg. Az illékony komponensek a második lefűtatással az alacsony kezdeti hőmérsékletű oszlopra jutnak, ahol ennek köszönhetően fókuszálódnak az oldószerrel felduzzasztott állófázisban, így csökkentve minimálisra a diszkriminációt. Az injektor véghőmérsékletére fűtve a magasabb forrásponttal rendelkező komponensek is az oszlopra jutnak, majd ezt követően az oszloptér felfűtésével megkezdődik a minta analízise.

Az eljárást komplikálja, hogy a split szelep külön nem programozható, ugyanakkor a második lefűtatásnál az elsővel ellentétben zárva kell lennie. Ezt úgy oldhatjuk meg, hogy a splitless lefűtatást, az injektor felfűtésének idejét, illetve a valódi splitless szakaszt egyaránt a splitless idő részének tekintjük. Ezt tehát úgy kell megadni, hogy mindezen időtartamokat beleszámoljuk.



3. ábra: A kétlépcsős lefűtás

3.3 Minta-előkészítési módszerek

Egy analitikai vizsgálat eredményességére jelentős befolyással van az alkalmazott minta-előkészítési módszer. Ennek ugyanis fontos szerepe van a minta tisztításában (a célvegyületek elválasztása a mátrixtól), koncentráálásában, és a mérőműszerrel való kompatibilissé tételében. A megfelelő minta-előkészítési módszer megválasztásában fontos szempont, hogy a vizsgálandó mintában jelen lévő célkomponensek illékonyága milyen. Közepesen illetve kevésbé illékony vegyületeket³ tartalmazó vízminta esetén a folyadék-folyadék extrakció (LLE), a szilárd fázisú extrakció (SPE), a szilárd fázisú mikroextrakció (SPME), és a membránsegített oldószeres extrakció (MASE) vezethet célra.

3.3.1 Folyadék-folyadék extrakció

Vízminták szerves komponenseinek extrahálására használt kevés eszközt igénylő, rendkívül elterjedten alkalmazott módszer. Lényege, hogy választótölcser rázatásával nagyfelületű érintkezést biztosíthatunk a nem elegyedő vizes és szerves fázisok között,

³ Modellvegyületeim közepesen illékonyak. Kevésbé illékonyak pl. a poliklórozott bifenilek.

így elérve, hogy az apoláris komponensek megoszlási hányadosuknak megfelelően a szerves fázisba kerüljenek át. A kevésbé apoláris anyagok átoldódását kisózással segíthetjük, ami az oldott mátrixkomponensek miatti habzást is gátolja. Tovább növelhetjük az extrakció hatásfokát akkor, ha többször kis mennyiségű oldószerrel rázzuk ki a mintánkat (Kremmer & Torkos, 2005). A módszer hátránya, hogy nem lehet automatizálni, sok esetben szükség van az extraktum dúsítására, illetve nagy az idő- és oldószerigénye. Ez utóbbi abból a szempontból is számottevő, hogy a használt szerves oldószerek környezet- és egészségkárosítóak.



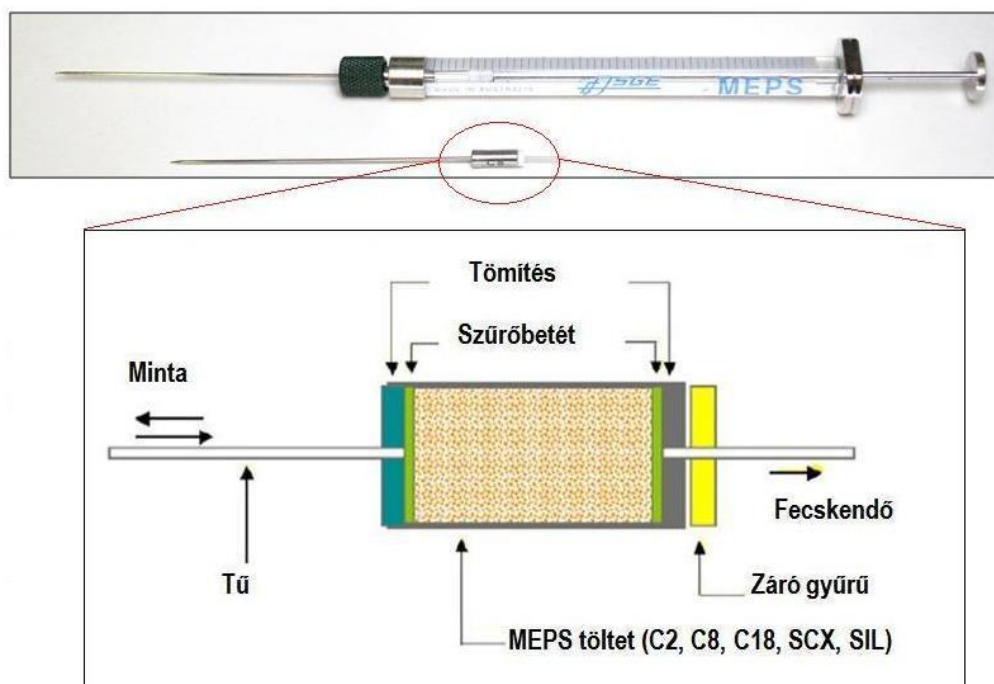
4. ábra: Rázótölcsér

3.3.2 MEPSTM

A MEPSTM (Microextraction by Packed Sorbent) egyike az utóbbi években megjelent minta-előkészítési technológiáknak. Úgy tekinthetünk erre a módszerre, mint a szilárd fázisú extrakció (SPE) miniaturizált változatára. Az 1-4 mg tömegű szorbens a tűben helyezkedik el, amely 100-250 µl térfogatú fecskendőhöz csatlakoztatható. A szorbens lehet C2, C8, C18, ioncserélő vagy módosítatlan szilikagél, valamint polimer alapú is (pl. PS-DVB, MIPs). A minta oldatának tölteten történő átpumpálásakor a célkomponensek abszorbeálódnak a kiválasztott állófázison. Az extrakció hatásfoka az átpumpálások számának növelésével növelhető. Az extrakciót követően a kötődött szennyező anyagok, illetve a minta mátrixa megfelelően választott oldószeres mosással eltávolítható, a célkomponenseket pedig közvetlenül eluálhatjuk folyadék- vagy gázkromatográfiás injektorba (Abdel-Rehim, 2004).

A technológia előnye, hogy automata mintaadagoló segítségével a teljes extrakciós folyamat kivitelezhető, így viszonylag alacsony költségek mellett jutunk egy időtakarékos és automatizált módszerhez. Az eljárás minta- és oldószer-igénye is rendkívül alacsony a korábbi módszerekhez képest, így ez a minta-előkészítési módszer sokkal inkább összeegyeztethető lehet a GC-MS áttekintés alapvető céljaival, mint az oly széleskörűen használt folyadék-folyadék extrakció. A szorbens a minta tulajdonságainak függvényében többször használható. Előnyös tulajdonságainak köszönhetően az utóbbi években egyre szélesebb körben alkalmaznak MEPS technológiát, számos publikáció jelent meg vizelet- (Beqqali & Abdel-Rehim, 2007) és

vérplazma-minták (Abdel-Rehim és mtársai, 2004) feldolgozásáról, továbbá környezeti vízminták elemzéséről is (Prietro, 2010; valamint Abdel-Rehim és mtársai, 2006).



5. ábra: A MEPS fecskendő felépítése

3.4 A célvegyületek

A GC-MS áttekintés lényege, hogy hatékony és gyors módszerek segítségével minél kevesebb mérésből minél többféle vegyületcsalád tagjai kimutathatóak legyenek. Mivel a munkám alapját fenolokra már optimált GC-MS mérési módszer képezi, a célom pedig az, hogy megtaláljam ezek és a klórozott peszticidek közös mérési paramétereit, ebben a fejezetben mindkét vegyületcsoport tulajdonságait bemutatom.

3.4.1 Fenolok

A fenolok olyan hidroxivegyületek, melyekben az OH csoport közvetlenül egy benzolgyűrűhöz kapcsolódik. Az aromás gyűrűhöz kapcsolódó további szubsztituensek minősége, mennyisége, valamint a létező sokféle izomer miatt számos fenol vegyületet ismerünk.

A fenolok kivétel nélkül toxikus vegyületek, illetve egyes klórfenolok az IARC (Nemzetközi Rákkutató Ügynökség) besorolása szerint lehetséges karcinogének. Szennyeződésekkel gyakran találkozhatunk környezetünkben, ugyanis ipari felhasználásuk meglehetősen széleskörű, többek között peszticidként is használhatóak egyes vegyületeik (Vermeulen, 2005). Számos vegyület perzisztenciája, jelentős bioakkumulációs faktora és reakciókészsége miatt az esetleges szennyezések súlyos következményekkel járhatnak. A fenolok környezeti mintákból való kimutatása tehát igen fontos feladat, ennek elsődleges eszközei pedig a folyadékkromatográfiás és gázkromatográfiás vizsgálatok.

A fenolok vízből történő meghatározása az MSZ 1484-9:2009 és MSZ EN 12673:2000 magyar szabványok alapján savanyított mintából, extrakciót és bepárlást⁴ követően történik GC-MS műszerrel.

A fenolok vízmintából való extrahálását megelőzően, vagy az extraktum koncentrációját követően az irodalom alapján az esetek nagy részében származékképzést alkalmaznak (Torkos és mtsai, 2008; illetve Jaber és mtsai, 2007). A GC-MS áttekintésben azonban előre nem ismert minőségű szennyezők kimutatása a cél, így a származékképzés lépése nem célszerű a minta-előkészítés során. A fenolok mérése származékképzés nélkül is megvalósítható (Vermeulen és mtsai, 2005).

3.4.2 Klórozott peszticidek

A klórtartalmú növényvédő-szerek a 20. század második felében (1950-1970 között) rendkívül elterjedten használt vegyszerek voltak mind a nagy gazdaságokban, mind a kisebb, egyéni kertekben (Darvas & Székács, 2006). Ezek jelentették akkor a korszerű megoldást a kártevők ellen és így a termelés biztonságát, amely látványosan meg is emelkedett. Tapasztalatok hiányában azonban nem gondoltak a lehetséges veszélyekre, illetve a szükséges vizsgálati módszerekkel és követelményrendszerrel sem rendelkeztek ahhoz, hogy fény derülhessen a kockázatokra. Ma már a készítmények forgalomba hozatala előtt nem kerülhető meg a szűrő rendszer, amely kötelezővé teszi, hogy az anyagok felhasználásából eredő esetleges veszélyeket előre behatárolhassuk,

⁴ Az extrakció történhet apoláris oldószerrel (pl. hexán) vagy apoláris szilárd fázison (pl. C18 vagy sztirol-divinil-benzol töltetű SPE oszlop). Illetve gyakran végzett bepárlási módszer pl. a nitrogénáramban végzett koncentráció.

illetve hogy az ebből eredő várható kockázatokat a lehető legkisebb mértékre csökkenthessük.

Karcinogén és mutagén hatásaikon túl, fontos sajátossága ezeknek a vegyületeknek, hogy nehezen bomlanak le a talajban és a vizekben, így rendkívül perzisztensnek minősülnek. Felezési idejük tehát hosszú, illetve eltérő közegekben és szövetekben eltérő. A levegőben napokig, a vizekben és a talajban azonban akár évtizedekig is kimutathatóak maradnak, és sok esetben bomlástermékeik (pl. DDT, amelynek legstabilabb metabolitja a DDE) is veszélyesek. Ezt alátámasztják az OÉTI (Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet) 1960 óta, emberi zsírszövetből rendszeresen végzett DDT-tartalomméréseinek eredményei is. Ezek azt bizonyítják, hogy a zsírolható DDT és származékai, illetve egyéb klórozott szénhidrogének a mai napig jelen vannak a hazai lakosság zsírszöveteiben, és az anyatejben is, bár a szintek folyamatosan csökkennek (Sohár & Matyasovszky, 2003).

1968. január 1-jétől a világon elsőként Magyarországon vonták vissza a dieldrin, a tiszta HCH és DDT hatóanyagú készítmények felhasználását, gyártását és behozatalát. A meglevő készletek felhasználását DDT–lindán kombinációk formájában 1970-ig engedélyezték (Pethő, 2011).

A növényvédő-szereket csoportosíthatjuk felhasználásuk, kémiai osztályuk, alkalmazási módjuk és toxicitásuk szerint. Felhasználásukat tekintve az általam vizsgált vegyületek a rovarirtó-szerek, vagyis az inszekticidek közé tartoznak. Megjegyzendő, hogy míg régebben a kémiai osztályozásnak komoly jelentősége volt (különösen analitikai módszerek esetében), napjainkra ez a felosztás alkalmatlanná vált amiatt, hogy a molekulák többféle funkciós csoportot is tartalmazhatnak. Ennél fogva sok vegyület legalább kettő, de esetleg még több kémiai osztályba is besorolható lenne. Hatásmechanizmusukat tekintve a szerves klórvegyületek idegméregnek számítanak, melyek egyéb élőlényekre nézve is toxikusak.

A klórozott peszticideket az érvényben lévő MSZ EN ISO 6468 és MSZ 448-42 magyar szabványok szerint elektronbefogásos detektorral vizsgálják hexánnal végzett folyadék-folyadék extrakciót és bepárlást követően. A szakirodalomban azonban számos példa található arra is, hogy tömegspektrometriásan határozzák meg ezeket a vegyületeket (Aguilar és mtsai, 1998; Shahin-Jonsson, 2004).

4. Kísérleti rész

4.1 Anyagok és eszközök

Munkám során Agilent 6890 gázkromatográfot és Agilent 5973 inert tömegszelektív detektort használtam. A készülék CTC Combi PAL automata mintaadagolóval és a 3.2.2-es fejezetben már bemutatott nagyterfogatú injektáláshoz szükséges Peltier-hűtéssel ellátott Gerstel CISTM 4 injektorral volt felszerelve. Kísérleteimhez DB-5 MS (fenil- (5%) metil-sziloxán állófázis) oszlopot, vivőgázként pedig 5.0-ás tisztaságú He-t használtam. Ionforrásként elektronütközéssel ionizációt (EI), analizátorként pedig az analitikai célú GC-MS rendszerekben legelterjedtebb kvadrupól tömegszűrőt alkalmaztam.

A mért vegyületek standard oldatait metanolban, diklórmétánban és hexánban oldva készítettem el, oldódási tulajdonságaiknak megfelelően. Az oldatok koncentrációi 1-10 mg/ml közöttiek. Ezekből állítottam elő hígítással a 0,5-50 mg/l-es mix-törzsoldatokat, melyekkel később dolgoztam. A 100 µl-es MEPS fecskendő, valamint a kiválasztott C8 típusú töltetek az SGE Analytical Science gyártmányai, míg a felhasznált standard oldatok a Supelco készítményei voltak.

4.2 A célkomponensek kiválasztása

A módszer kidolgozásához elengedhetetlen volt egy szűkebb vegyületcsoport önkényes kialakítása, úgy beválogatva a már kiválasztott vegyületcsaládból az egyes komponenseket, hogy azok jól reprezentálják az egész családot. A válogatás szempontjai voltak tehát a komponensek szerkezeti és bizonyos kémiai tulajdonságai, mint például a forráspont, polaritás, és vízzoldhatóság.

A fenolok esetében kutatócsoportunk egyik tagja, Novák Márton korábbi munkájának köszönhetően rendelkezésemre állt egy már válogatott komponensekből álló 10 tagú célcsoport.

A klórozott peszticidek modellvegyületeinek kiválogatását abból a 8270D jelű EPA szabványból (US EPA METHOD 8270D) végeztem, mely alapján a fenolok válogatása is történt korábban. A klórozott növényvédő-szerek vízzoldhatósága általában meglehetősen kicsi (lásd: 1. táblázat), így ez nem jelentett szűrési szempontot a

válogatás során. A komponenseket úgy választottam ki, hogy kémiai felépítésüket tekintve tükrözzék a teljes vegyületcsalád változatosságát. Így a végleges listában találhatóak szénhidrogén típusú (pl. DDT és metabolitjai, valamint a két hexaklórciklohexán (HCH)), kéntartalmú (endoszulfánok), és oxigéntartalmú (heptaklór-epoxid) peszticidek is. Szempont volt továbbá, hogy mely standardek álltak rendelkezésemre, illetve az egyes vegyületek felhasználási gyakorisága milyen volt az elmúlt évtizedekben.

Végül a 1. táblázatban látható 10 fenol és 16 klórozott növényvédő-szer került kiválasztásra.

1. táblázat: A modell-komponensek illetve néhány tulajdonságuk

		Rövidítés	CAS-szám	Molekulatömeg (g/mol)	Forráspont (°C, 1 atm nyomáson)	Vízdoldhatóság (mg/l; 25 °C-on)	log Kov
KLÓROZOTT PESZTICIDEK							
1	hexaklóretán	HKE	67-72-1	237	186	50	4.04
2	2,6-diklórfenol	2,6-DKF	87-65-0	163	219	1000	2.64
3	hexaklórciklopentadién	HKCPD	77-47-4	273	239	0.805	5.04
4	alfa-HCH	α-HCH	319-84-6	291	288	2	3.80
5	gamma-HCH	γ-HCH	58-89-9	291	323	10	3.55
6	heptaklór	HK	76-44-8	373	-	0.056	6.10
7	heptaklór-epoxid	HKE	1024-57-3	389	426	0.35	5.40
8	endoszulfán I	ES-I	959-98-8	407	290-350	0.33	4.74
9	4,4-DDE	4,4-DDE	72-55-9	242	316	0.07	6.51
10	dieldrin	D	60-57-1	381	385	0.125	5.40
11	endoszulfán II	ES-II	33213-65-9	407	290-350	0.32	4.79
12	4,4-DDD	4,4-DDD	72-54-8	320	193	0.09	6.02
13	kepon	K	143-50-0	491	434	2.7	5.41
14	4,4-DDT	4,4-DDT	50-29-3	354	185	0.05	6.91
15	metoxiklór	MK	72-43-5	346	436	0.1	5.08
16	mirex	M	2385-85-5	546	485	0.085	6.89
FENOLOK							
17	fenol	F	108-95-2	94	182	80000	1.5
18	2-klórfenol	2-KF	95-57-8	128	175	28500	2.15
19	2-krezol	2-MF	95-48-7	108	191	20000	1.98
20	2-nitrofenol	2-NF	88-75-5	139	214-216	2000	1.77
21	2,4-dimetilfenol	2,4-DMF	106-67-9	122	212	5000	2.35
22	2,4-diklórfenol	2,4-DKF	120-83-2	163	210	4500	3.17
23	2,4,6-triklórfenol	2,4,6-TKF	88-06-2	197	246	800	3.69
24	2,4-dinitrofenol	2,4-DNF	51-25-5	184	351	6000	1.53
25	2,3,4,6-tetraklórfenol	2,3,4,6-TKF	58-90-2	232	268	1000	4.45
26	pentaklórfenol	PKF	87-86-5	266	266	20	5.18

4.3 Mérési módszer folyadék-folyadék extrakcióval

4.3.1 A minta-előkészítési lépés

A folyadék-folyadék extrakció elvégzéséhez a vizsgálandó minta térfogata 500 ml volt. Ezt 500 ml desztillált víz megfelelő koncentrációban történő adalékolásával állítottam elő. A már vizsgálandó vegyületeket tartalmazó vízmintához – a 3.3.1 fejezetben leírt okok miatt - 150 g NaCl-t adtam, majd 2*10 ml diklórmétánnal, részletenként 5 perces rázással végeztem az extrakciót. Miután a szerves és a vizes fázis megfelelően elváltak egymástól, az extraktumot főzőpohárba engedtem és 2-3 g Na₂SO₄-tal vízmentesítettem. Az így előállt szuszpenziót 0,45 µm-es cellulóz alapú szűrőpapíron szűrtem. Végül ezt az oldatot nitrogénáramban történő bepárlással 1 ml végtérfogatra koncentráltam. Ebből az oldatból 1 µl-t injektáltam hideg splitless üzemmódban.

4.3.2 A mérési módszer

Az előállított koncentrált minta injektálását programozható hőmérsékletű injektorral végeztem, a splitless üzemmód egy speciális változatát, a hideg splitless módot alkalmazva (lásd: 3.2.1 fejezet). Az extrakciót diklórmétánnal végeztem, a mintabevitel ennek megfelelően a 10°C hőmérsékletű injektorba történt pillanatszerű, 50µl/s-os sebességgel. A beállításokat összefoglalva a következő táblázatok mutatják:

2. táblázat: A hideg splitless üzemmód injektor beállításai

Oldószer	DCM (1 µl)		
	Felfűtési sebesség	Hőmérsékleti lépcsők	Időtartamok
CIS hőprogram	-	10 °C	0 perc
	10 °C /s	300 °C	3 perc
Injektálási sebesség	50 µl/s		

3. táblázat: A hideg splitless üzemmód oszlop-beállításai

Oszlop	DB5-MS (fenil- (5%) metil-sziloxán állófázis)		
Oszlop paraméterek	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm		
Vivőgáz	5.0-ás tisztaságú He		
Vivőgáz áramlási sebessége	1.0 ml/perc		
Hőmérsékletprogram	Felfűtési sebesség	Hőmérsékleti lépcsők	Időtartamok
	-	50 °C	2 perc
	10 °C/p	300 °C	3 perc

A splitless idő két perc volt. Ez idő alatt az injektor fűtése már tartott, az oszlop felfűtése azonban csak a splitless idő letelte után indult meg. A tömegspektrométert SCAN módban használtam, 50-550 AMU⁵ (Atomic Mass Unit) tömegtartományban.

A mérést az oldatsorozat legteljesebb tagjával kezdtem, majd egyre finomabb lépésekkel haladtam az alacsonyabb koncentrációk felé. Azt a legkisebb koncentrációt kerestem, melyet még biztonsággal ki lehet mutatni a vizsgálat során. A koncentrációk, melyekkel dolgoztam: 1 mg/l, 100 µg/l, 50 µg/l, 20 µg/l, 10 µg/l, 5 µg/l, 3 µg/l, 1 µg/l, 0,5 µg/l, és 0,1 µg/l.

4.3.3 Kimutatási határok

A kísérletezés során a legalacsonyabb koncentráció, amit ezzel a minta-előkészítési eljárással biztosan ki tudtam mutatni a célkomponensek több, mint felének esetében 0,5 µg/l volt. 0,1 µg/l koncentrációban már egyetlen komponenst sem lehetett azonosítani. Az eredményeket az 4. táblázatban foglaltam össze.

⁵ Egy kémiai elem vagy molekula tömegét a tömegspektrometriában megállapodás szerint AMU-ban adjuk meg. 1 AMU a ¹²C atom tömegének 1/12-ed része.

4. táblázat: A folyadék-folyadék extrakcióval elért kimutatási határok vegyületenként

Sorrend	Vegyület	LOD µg/l
1	fenol	25
2	2-klórfenol	15
3	2-krezol	15
4	hexaklóretán	2
5	2-nitrofenol	25
6	2,4-dimetilfenol	10
7	2,4-diklórfenol	10
8	2,6-diklórfenol	10
9	hexaklórciklopentadién	75
10	2,4,6-triklórfenol	5
11	2,4-dinitrofenol	1000
12	2,3,4,6-tetraklórfenol	10
13	alfa-HCH	1
14	pentaklórfenol	10
15	gamma-HCH	1
16	heptaklór	0,5
17	heptaklór-epoxid	0,5
18	endoszulfán I	0,5
19	4,4-DDE	0,5
20	dieldrin	0,5
21	endoszulfán II	0,5
22	4,4-DDD	0,5
23	kepon	0,5
24	4,4-DDT	0,5
25	metoxiklór	0,5
26	mirex	0,5

Kimutatási határok megállapításában nem elhanyagolandó tényező a jel-zaj arány. Az adott mérési módszer érzékenysége ugyanis akkor lehet maximális, ha a jel-zaj arány is az. Ezt többek között a hőmérséklet, az áramlási sebesség, továbbá a koncentráció is befolyásolja. Kísérleteim során a koncentráció csökkenés hatása jól megfigyelhető volt, azonban a jel-zaj arány egyik koncentráción sem volt rosszabb 3:1-nél, a vizsgálatot tehát zaj nem zavarta.

4.4 Mérési módszer nagytérfogatú injektálással

Nagytérfogatú injektálás alkalmazása a 3.2.2-es fejezetben leírtakon túl azért célszerű, mert gázkromatográfiás elemzésekhez kapcsoltan a MEPSTM eljárás számos előnye csak ezzel az injektálási módszerrel kamatoztatható. A nagytérfogatú injektálás paramétereit adott üzemmódban minden oldószerre külön szükséges optimalni, hiszen bizonyos nyomás- és hőmérsékleti körülmények között eltérően viselkedhetnek. A

diklórmetános és az etil-acetátos oldatok ilyen módú injektálásának optimált paraméterei Novák Márton munkája alapján rendelkezésemre álltak. Ezek a paraméterek az 5. táblázatban láthatóak összefoglalva.

5. táblázat: Az injektálási beállítások a két oldószerre

Oldószer	DCM (100 µl)			EtAc (100 µl)		
	Felfűtési sebesség	Hőmérsékleti lépcsők	Időtartamok	Felfűtési sebesség	Hőmérsékleti lépcsők	Időtartamok
CIS hőprogram	-	10 °C	1.13 perc	-	30 °C	1.59 perc
	12 °C /s	40 °C	3 perc	12 °C /s	75 °C	3 perc
	12 °C /s	280 °C	10 perc	12 °C /s	280 °C	10 perc
	stop flow 1.13 perc			stop flow 1.59 perc		
Injektor beállítás	stop flow 1.13 perc			stop flow 1.59 perc		
Injektálási sebesség	1.48 µl/s			1.05 µl/s		
Lefúvatási sebesség	120 ml/perc			120 ml/perc		

4.4.1 A nagyterfogatú injektálás hatékonysága

Hogy láthassuk, a nagyterfogatú injektálás során milyen veszteségeket szenvednek a vizsgált komponensek, célszerű a mintabevitel hatékonyságát megvizsgálni. Ehhez elsőként azt kell meghatározni, hogy a komponensek adott anyagmennyiség esetén, 1 µl hideg splitless injektálással mekkora jelet adnak. Az injektálási hatékonyság meghatározásának módja, hogy a két módszerrel eltérő térfogatú, de azonos anyagmennyiségű oldatot injektáltam, majd a tapasztalt csúcsterületek hányadosa mutatja meg a nagyterfogatú injektálás hatékonyságát. Ezt nevezzük látszólagos visszanyerésnek⁶. Ezt a vizsgálatot a fenolok esetében 1 és 100 mg/l, a peszticidek esetében pedig 0,5 és 50 mg/l koncentrációjú diklórmetános mix-oldatokkal végeztem, sorrendben 100 és 1 µl injektálásával.

A hideg splitless injektálás során a korábban leírtaknak megfelelően, a minta az oldószer forráspontjához (a DCM forráspontja: 40 °C) igazított hőmérsékletű injektorba jut nagy sebességgel (2. táblázat). Ekkor a split szelep zárva van, majd a tű eltávolítása után indul meg a felfűtés a beállított maximum hőmérsékletre, esetemben 280°C-ra.

⁶ A visszanyerést a két módszerrel tapasztalt csúcsterületek viszonyításával vizsgáltam. 100%-nak a hideg splitless injektálással kapott csúcsterületeket vettem, és ehhez viszonyítottam százalékosan a nagyterfogatú injektálással kapott csúcsterületeket.

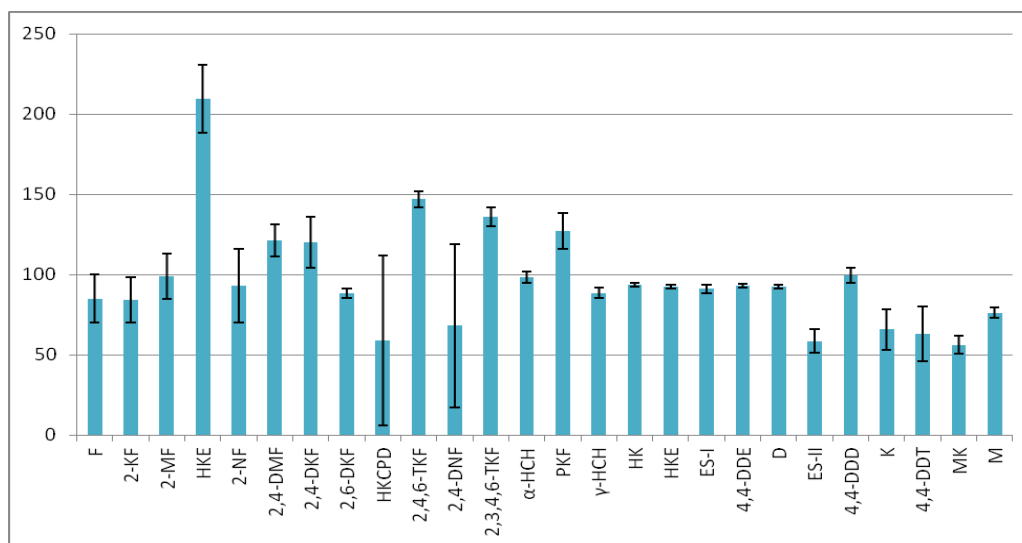
A nagyterfogatú injektálást a kétlépcsős oldószer lefűvátás módszerével végeztem, 100 µl mintatérfogattal. Ekkor a minta szintén az oldószer forráspontjához igazított hőmérsékletű injektorba jut (lásd: 5. táblázat), ahol az injektálás ideje alatt az oldószer szelektíven lefűvatható a split szelepen keresztül a vivőgáz optimált áramlási sebességével. Az injektálás idejének elteltével egy közbenső hőmérsékletre, az oldószer forráspontjával megegyező hőmérsékletre fűt fel az injektor. Az injektálás a diklórmétán esetében 1,13 percig tart. Ezt a közbenső hőmérsékletet az injektor 3 percig tartja, majd 12°C/s hőmérsékleti gradienssel éri el a véghőmérsékletet, a 280°C-ot.

Mindkét injektálási módszer esetében a termosztát hőprogramja 50°C-ról indul, majd 10°C/perces felfűtési sebességgel egyenletesen éri el a végső 300°C-ot. Gyorsabb gradienst, illetve közbenső lépcsőt nem iktattam a hőprogramba, mivel a célkomponenseim széles tartományt fednek le a kromatogramon. Ezért, például ha nagyobb gradienst alkalmaznék, túlságosan összeecsúsznának a csúcsok, csökkentve ezzel az elválasztás hatékonyságát. A pontos paraméterek a 6. táblázatban láthatóak összefoglalva.

6. táblázat: A gázkromatográfiás paraméterek

Oszlop	DB5-MS (fenil- (5%) metil-sziloxán állófázis)			
Oszlop paraméterek	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm			
Vivőgáz	5.0-ás tisztaságú He			
Vivőgáz áramlási sebessége	1.0 ml/perc			
Hőmérsékletprogram	Felfűtési sebesség	Hőmérsékleti lépcsők	Időtartamok	
	-	50 °C	Hideg splitless	LVI
			2 perc	6,50 ill. 7,02 perc (DCM-EtAc)
	10 °C/p	300 °C	3 perc	3 perc

6. ábra: A nagyterfogatú injektálás hatékonyságának és szórásának (%) szemléltetése a százalékos látszólagos visszanyerések függvényében.



A fenolok esetén a relatív standard deviáció értékek jelentősebbek a nagyterfogatú injektálás esetén, azonban áttekintő módszer lévén, nem elvárás, hogy a lehető legalacsonyabb szórás elérésére törekedjünk. Két komponens rendelkezik kiugró szórással: a hexaklórciklopentadién és a 2,4-dinitrofenol. A visszanyerések közötti kiugró érték (a hexaklóretán esetén, rövid jelölése: HKE) alapján azt a következtetést vonhattam le, hogy a 100 %-nak vett hideg splitless injektálás során is éri veszteség a komponenseket. A legtöbb esetben a visszanyerések 100 % körül vannak. A nagyterfogatú injektálás módszere megfelelő arra, hogy a MEPSTM technikával előkészített vízmintákat ezzel vizsgáljam.

4.4.2 A MEPSTM minta-előkészítési eljárás

4.4.2.1 A töltet és az eluens megválasztása

Ahogy az 1. táblázatban feltüntettem, célvegyületeim között az egyik legjelentősebb eltérés polaritásukban van. Míg a fenolok oktanol-víz megoszlási hányadosa többnyire 1-3 között található, addig a klórozott peszticidek esetében ez az érték átlagban 5 körüli. A kereskedelmi forgalomban lévő töltetek (szilika, C2, C8, C18, SCX) közül a C8 és az SCX lehet megfelelő, hogy a polaritás szempontjából ily széles skálán változó komponenseket együttesen extrahálhassam. A C18-as töltet a polárisabb ($\log K_{ov} < 2,5$) fenolok extrahálására nem alkalmas. A szilika, ha nincs valamilyen alkil

csoporttal módosítva, szintén nem használható. C8-as töltettel már vizsgálták sikeresen a fenolokat (Novák, 2012), ezért végül ezzel a típusú töltettel kezdtem meg kísérleteimet.

Eluensnek olyan oldószert volt célszerű alkalmaznom, amely mindkét célcsoport tagjait megfelelően oldja. Két oldószerezrel végeztem kísérleteket - az etil-acetáttal és a diklórmétánnal – melyeket a használatukkal elérhető kimutatási határok alapján hasonlítottam.

4.4.2.2 Kondicionálás és mosás

Használat előtt meghatározó lépés a töltet kondicionálása. Vízminták és C8-as szorbens esetén ehhez a metanol és a víz többszöri átpumpálása a megfelelő (Prietro és mtársai, 2010; valamint Abdel-Rehim és mtársai, 2006). Így méréseim megkezdése előtt 5*100 µl-t alkalmaztam mindkét oldószereből. Később, folyamatos használat esetén – vagyis ha a töltet nem szárad ki - elegendő az injektálás előtt 100 µl metanol átpumpálása a tölteten.

A töltet mosása minden injektálást követően szükséges lépés, mivel a valós vízminták jelentős mátrixtartalommal illetve szennyezéssel bírhatnak. Ehhez a megfelelő mosó oldószert a metanol és maga az eluens. Mindkét oldószereből 3*70 µl-t alkalmaztam mosásként. Így a kondicionálás és a mosás során összesen 510 µl oldószert használtam fel, ami rendkívül takarékosnak tekinthető.

4.4.2.3 A mintafelvétel

A minta tölteten való átpumpálásának kivitelezésére két módszer terjedt el: a folyamatos és a megszakított pumpálás. A megszakított pumpálás során a minta felszívását követően a fecskendő ürítése nem a mintát tartalmazó fiolába, hanem egy másik gyűjtő fiolába történik. Folyamatos pumpálásnál a felszívott mintát a mintatartó fiolába engedjük vissza. Ebben az esetben a tű a mintafelvétel alatt nem hagyja el a mintatartó fiola térfogatát. A szakirodalom szerint vízminták előkészítésénél, a legtöbb esetben, folyamatos átpumpálással magasabb extrakciós hatásfok érhető el (Vlocková és mtársai, 2011; valamint Novák, 2012). Ezért méréseim során én is ezt a módszert alkalmazom.

A MEPSTM eljárással feldolgozott minta mennyisége általában 1-1,5 ml vagy ritkább esetben 10 ml (Abdel-Rehim és mtsai, 2003; 2006). A nagyobb mintamennyiség előnye, hogy a kimutatási határok csökkenthetőek. Hátrány, hogy nagyszámú átmozgatást szükséges alkalmazni a megfelelő extrakciós hatásfok eléréséhez. Ennél fogva a töltet mechanikai terhelése is növekszik, ami csökkentheti élettartamát. Továbbá a nagyszámú átmozgatás a minta-előkészítés idejét is megnöveli. Esetemben azonban a gázkromatográfiás hőmérsékletprogram a sok komponens és széles forráspont-tartományuk miatt viszonylag hosszú (35 perc), így ennek idejét a minta-előkészítéshez szükséges idő nem haladja meg jelentősen. A céljaimnak megfelelően alacsony kimutatási határok elérése érdekében a nagyobb térfogatból történő extrakció kulcsfontosságú volt, ezért a feldolgozandó minta térfogatát a lehető legnagyobbra, 20 ml-re választottam meg. Ebben a tekintetben korlátot a műszer mintatartójának kialakítása okozott. A legnagyobb térfogatú fiola, amit a tálcára helyezhetek, 20 ml-es.

Irodalmi adatok alapján fenolok esetén a minta kb. 400-szoros átmozgatásával közelíthetjük a maximális kinyerést (Novák, 2012). Klórozott peszticidek MEPSTM eljárással történő előkészítéséről nem találtam publikációt. Az átpumpálások számán túl a felszívási sebesség is jelentősen befolyásolhatja a mérési eredményeket. Ennek oka, hogy az átpumpálás során a fecskendőben csökkent nyomású gőztér alakul ki. A 15 és 20 µl/s-os felszívási sebességet a folyadékfront nem tudja követni a töltet ellenállása miatt, ami nagy hibával terhelheti az eredményeket. Ennek oka, hogy a felszívott mintatérfogat reprodukálhatatlanná válik. A probléma kiküszöbölésére kutatócsoportunk egyik tagja dolgozott ki egy módszert, melynek lényege, hogy eltérő térfogatokat különböző sebességekkel szív fel, ezzel csökkentve a felszaporodó gőztér térfogatát. Mindezek fényében az alkalmazott extrakció részlépései: 100 µl felszívása 99 alkalommal, 10 µl/s sebességgel, majd ezt követi egy kisebb mintatérfogat, 20 µl gyorsabb átpumpálása, 20 µl/s sebességgel, 20 alkalommal. Ezt a ciklust háromszor ismételt meg. A program utolsó lépése a már leírt vízmentesítő levegő átszívása. Ezt követi végül az eluens felszívása (100 µl) és az elúció, ami a MEPSTM esetében egyben az injektálást is jelenti.

4.4.2.4 Vízmentesítés

Vízminták szilárd fázisú extrakcióval történő feldolgozásánál, így a MEPSTM esetében is komoly problémák forrása lehet a töltet pórusaiban, illetve a pórusok közötti térben maradó víz. Ezért az eluátum vagy a töltet vízmentesítése elengedhetetlen lépés a minta-előkészítési folyamat során. A szakirodalomban a probléma megoldására elsősorban levegő átszívást alkalmaznak. Egyes szerzők (Prieto és mtársai, 2011) befolyásoló körülményként említik az átszívás sebességét és számát. Más publikációkban (Abdel-Rehim és mtársai, 2006) azonban ezeket nem tartják optimalizálható paraméternek. Ennek ellenére a legtöbb publikációban közel megegyeznek az alkalmazott levegő átszívási beállítások. Ezek szerint 5-10*100 µl levegő 10-20 µl/s-os sebességű átpumpálásával vízmentesíthető a töltet. Méréseim során a biztosan elegendő 30*100 µl levegő átpumpálását alkalmaztam 20 µl/s-s sebességgel.

4.4.2.5 Kimutatási határok a MEPSTM minta-előkészítési eljárással

A kimutatási határokat mindkét eluens alkalmazására megállapítottam. Az előállított oldatsorozat koncentrációi: 1 mg/l, 100 µg/l, 75 µg/l, 50 µg/l, 20 µg/l, 10 µg/l, 5 µg/l, 1 µg/l, 0.5 µg/l, 0.1 µg/l, 0.05 µg/l, 0.03 µg/l és 0.02 µg/l. Mindkét oldószert alkalmazva azt tapasztaltam, hogy a fenolok nagyságrendekkel rosszabb kimutatási határokkal rendelkeznek, mint a klórozott peszticidek. Az eredmények a 7. táblázatban láthatóak összefoglalva.

7. táblázat: A MEPS minta-előkészítési eljárással elért kimutatási határok, diklórmetánnal és etil-acetáttal eluálva

Sorrend	Vegyület	LOD - DCM ($\mu\text{g/l}$)	LOD - EtAc ($\mu\text{g/l}$)
1	fenol	75	75
2	2 klórfenol	20	20
3	2 krezol	20	20
4	hexaklóretán	10	5
5	2 nitrofenol	200	200
6	2,4 dimetilfenol	10	10
7	2,4 diklórfenol	10	2
8	2,6 diklórfenol	10	2
9	hexaklórciklopentadién	20	20
10	2,4,6 triklórfenol	10	1
11	2,4 dinitrofenol	300	300
12	2,3,4,6 tetraklórfenol	10	0,5
13	α -HCH	0,05	0,5
14	pentaklórfenol	0,5	0,5
15	γ -HCH	0,05	0,5
16	heptaklór	0,03	0,5
17	heptaklór-epoxid	0,02	0,02
18	endosulfan I	0,05	0,02
19	DDE	0,1	0,02
20	dieldrin	0,02	0,02
21	endosulfan II	0,05	50
22	DDD	0,1	0,02
23	kepon	5	5
24	DDT	0,1	0,02
25	metoxiklór	0,05	0,02
26	mirex	0,1	0,02

A fenolok között több komponens esetében kisebb kimutatási határ érhető el etil-acetáttal történő leoldás esetén, mint diklórmetánnal. A klórozott peszticidek jelentős részénél szintén az etil-acetát bizonyult a hatékonyabb oldószernek. A komponensek, melyek számára a diklórmetán a megfelelőbb eluens: az α -HCH, a heptaklór és az endoszulfán II.

4.5 A mérési módszerek összehasonlítása

Az analitikai mérési módszerek jellemzésének egyik lehetősége, ha az alkalmazásukkal elérhető kimutatási határokat állapítjuk meg, és ezek alapján hasonlítjuk az egyes eljárásokat. A kimutatási határt munkám során elegendő volt úgy értelmezni, mint az a legkisebb anyagmennyiség, amely még detektálható, de nem feltétlenül kvantifikálható. Pontos definíciója szerint az a koncentráció, amelyhez

tartozó válaszjel értéke megegyezik a vak minta közepes válaszjelének, és a vak minta válaszjel háromszoros tapasztalati szórásának összegével.

4.5.1 A kimutatási határok

A GC-MS áttekintő módszer akkor alkalmazható sikeresen a környezetvédelmi gyakorlatban, ha az elérhető kimutatási határok a vonatkozó határértékek alatt vannak.

A 8. táblázatban is látható, hogy a leírt folyadék-folyadék extrakcióval csak a klórozott peszticidekre összegparaméterként vonatkozó 0,5 µg/l érhető el. Ez azonban nem tekinthető elfogadhatónak. Egyenkénti kimutatási határuknak 0,5 µg/l alattinak kell lennie, hogy az összegük ezt ne haladja meg. A fenolok kimutatási határai nem közelítették a határértékeket. A folyadék-folyadék extrakciós minta-előkészítési módszer alkalmazása tehát nem kielégítő.

A MEPSTM technikát alkalmazva azt tapasztaltam a fenolok esetében, hogy etil-acetátot alkalmazva eluensként több modell-vegyületnél is alacsonyabb kimutatási határok voltak elérhetőek, mint diklórmetánnal. Azonban határértékeik alatti kimutatásuk a bemutatott módszerrel nem teljesült.

A klórozott peszticideket tekintve a modell-vegyületek legtöbbször az elért kimutatási határ a vonatkozó határérték alatt van mindkét eluens esetében. Ez alól kivételt képeznek az illékonyabb hexaklóretán, a 2,6-diklórfenol és a hexaklórciklopentadién, valamint ezeken kívül a kepon. Ezen vegyületek kimutatási határai egyik eluenssel sem érik el a határértékeiket. Továbbá a mirex, illetve a 4,4-DDT és metabolitjai, a 4,4-DDE és 4,4-DDD azok a vegyületek, amelyek LOD értékei diklórmetánnal történő eluálás esetén megegyeznek a határértékeikkel. Így a mintavétel, a minta-előkészítés illetve a kromatográfiás mérés hibájából adódóan lehetséges, hogy a gyakorlatban ezen vegyületek határérték alatti kimutatása nem sikeres. Etil-acetátot alkalmazva viszont ezek kimutatási határa is a rájuk vonatkozó határérték alatt van.

Az eredmények azt mutatják, hogy a polárisabb fenolok esetében egyik mérési módszer sem vezetett célra. A folyadék-folyadék extrakcióval és hideg splitless injektálással alacsonyabbak ezen vegyületek kimutatási határai. Ez alól kettő fenol vegyület képez kivételt. A legtöbb klórt tartalmazó 2,3,4,6-tetraklórfenol és

pentaklórfenol⁷. A klórozott peszticidek esetében szintén nem kielégítőek az eredmények. A MEPSTM eljárással és nagyterfogatú injektálással elért kimutatási határok ugyan a legtöbb esetben határérték alatt vannak, azonban áttekintő vizsgálat lévén ez nem elégséges. A klórozott peszticidek esetében a folyadék-folyadék extrakcióval elért kimutatási határok jobban közelítik a határértékeket, mint a fenolok MEPSTM technikával elért kimutatási határai. Ezért, érdemes lehet a folyadék-folyadék extrakciót alkalmazó módszert tovább fejleszteni, és a minta-előkészítés során előállt extraktumból nagyobb mintaterfogatok injektálásával csökkenteni a kimutatási határokat.

8. táblázat: Az elért LOD értékek mindkét minta-előkészítési módszer esetén és a vonatkozó határértékek

Sorrend	Vegyület	Kimutatási határok (µg/l)			Határérték (µg/l)	
		LLE	MEPS DCM	EtAc	Vegyületenként	Összegparaméterként
1	fenol	25	75	75	20	-
2	2-klórfenol	15	20	20	5	-
3	2-krezol	15	20	20	5	-
4	hexaklóretán	2	10	5	0,1	0,5
5	2-nitrofenol	25	200	200	-	-
6	2,4-dimetilfenol	10	10	10	-	-
7	2,4-diklórfenol	10	10	2	1	-
8	2,6-diklórfenol	10	10	2	1	-
9	hexaklórciklopentadién	75	20	20	0,1	0,5
10	2,4,6-triklórfenol	5	10	1	1	-
11	2,4-dinitrofenol	1000	300	300	-	-
12	2,3,4,6-tetraklórfenol	10	10	0,5	1	-
13	α-HCH	1	0,05	0,5	0,1	0,5
14	pentaklórfenol	10	0,5	0,5	0,5	-
15	γ-HCH	1	0,05	0,5	0,1	0,5
16	heptaklór	0,5	0,03	0,5	0,03	0,5
17	heptaklór-epoxid	0,5	0,02	0,02	0,03	0,5
18	endoszulfán I	0,5	0,05	0,02	0,1	0,5
19	4,4-DDE	0,5	0,1	0,02	0,1	0,5
20	dieldrin	0,5	0,02	0,02	0,03	0,5
21	endoszulfán II	0,5	0,05	50	0,1	0,5
22	4,4-DDD	0,5	0,1	0,02	0,1	0,5
23	kepon	0,5	5	5	0,1	0,5
24	4,4-DDT	0,5	0,1	0,02	0,1	0,5
25	metoxiklór	0,5	0,05	0,02	0,1	0,5
26	mirex	0,5	0,1	0,02	0,1	0,5

⁷ Nagyobb klórtartalmuk miatt ugyanis polaritásuk kisebb, mint a többi válogatott fenol vegyületé.

4.5.2 Egyéb szempontok

A minta-előkészítési technikákat az alkalmazásukkal elérhető kimutatási határokon túl más szempontok szerint is hasonlítottam. Az eljárások minta- és oldószerigényeit tekintve, a folyadék-folyadék extrakció során lényegesen nagyobb mennyiségek használatára van szükség. Folyadék-folyadék extrakció során a szükséges oldószer-mennyiség 30 ml, míg a MEPSTM esetén csupán 600 µl. Fontos szempont az automatizálhatóság, mely a MEPSTM esetén valósulhat csak meg. A MEPSTM továbbá lényegesen költséghatékonyabb, valamint idő-és munkaerő takarékosabb. Míg egy folyadék-folyadék extrakcióval történő minta-előkészítés kb. 2-3 órát vesz igénybe, addig az automatizált MEPSTM szilárd fázisú mikroextrakció időigénye kb. 1 óra. Ezenfelül, több minta egymást követő mérése esetén a MEPSTM időigénye lefedi a párhuzamosan futó gázkromatográfiás analízis idejét. Vagyis ekkor jelentős az időnyereség a folyadék-folyadék extrakcióhoz képest, ami az analitikai vizsgálatokban szintén nagy előny.

5. Összefoglalás

Tudományos diákköri munkám során egy áttekintő vizsgálat kidolgozásának első lépéseit tettem meg. A módszer célkomponensei között megtalálhatóak a környezetünkben leggyakrabban előforduló toxikus fenol és klórozott peszticid vegyületek. E célkomponensek fizikai-kémiai tulajdonságaiban jelentős eltérések vannak, ami a munka nehézségét jelentette. Kísérleteim GC-MS módszeren alapultak, melyet sajátos áttekintő jellege miatt a minták precíz előkészítése és nagyfokú koncentrálása kell, hogy megelőzze. Két analitikai eljárással kísérleteztem. A szabványokban szereplő és a gyakorlatban elterjedt folyadék-folyadék extrakcióval előkészített mintát hideg splitless módszerrel injektáltam. A viszonylag új technológiának számító MEPSTM szilárdfázisú mikroextrakcióval előkészített mintát nagy térfogatban, kétlépcsős oldószer lefúvatással juttattam az oszlopra. Az elért kimutatási határok alapján azt a következtetést vontam le, hogy ezekkel a módszerekkel nem teljesíthető a célvegyületek szimultán határérték alatti kimutatása. Bár a MEPSTM számos előnnyel bír a környezettudatosság tekintetében, az áttekintő módszer sikeres kidolgozásához érdemes a folyadék-folyadék extrakcióval kapott extraktum nagytérfogatú injektálásával is kísérletezni.

Rövid távú terveim között szerepel, hogy vizsgáljam, ez utóbbi módszerrel csökkenthető-e a kimutatási határok. Továbbá célom az áttekintés bővítése további vegyületcsaládokra.

6. Irodalomjegyzék

1. ABDEL-REHIM M. 2003: New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry – *Journal of Chromatography B*, 801. pp. 317-321.
2. ABDEL-REHIM M. – ALTUN Z. – BLOMBERG L. 2004: Microextraction in packed syringe (MEPS) for liquid and gas chromatography applications II. Determination of ropivacaine and its metabolites in human plasma samples using MEPS with liquid chromatography/tandem mass spectrometry – *Journal of Mass Spectrometry*, 39. 1488-1493.
3. ABDEL-REHIM M. – EL-BEQQALI A. – KUSSAK A. 2006: Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas-chromatography-mass spectrometry. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water – *Journal of Chromatography A*, 1114. pp.234-238.
4. ABDEL-REHIM M. – EL-BEQQALI A. 2007: Quantitative analysis of methadone in human urine samples by microextraction in packed syringe-gas chromatography-mass spectrometry (MEPS-GC-MS) – *Journal of Separation Science*, 30. pp. 2501-2505.
5. C. AGUILAR – F. BORULL – R.M. MARCÉ 1997: Determination of pesticides in environmental waters by solid phase extraction and gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection – *Journal of Chromatography A*, 771. pp. 221-231.
6. C. AGUILAR – S. PENALVER – E. POCURULL – F. BORULL – R.M. MARCÉ 1998: Solid phase microextraction and gas chromatograph with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous samples – *Journal of Chromatography A*, 795. pp. 105-115.
7. Cooled Injection Systems 2007 – *GERSTEL*, Germany, 58 p.
8. DARVAS B. – SZÉKÁCS A. 2006: A növényvédőszer-felhasználás alakulása – In. Darvas B. és Székács A. (szerk.): *Mezőgazdasági ökotoxikológia - l'Harmattan*, Budapest, pp.21-26.

9. ENGEWALD W. – TESKE J. – EFER J. 1999: Programmed temperature vaporiser-based injection in capillary gas chromatography – *Journal of Chromatography A*, 856. pp. 259-278.
10. GROB K. – BIEDERMANN M. 1996: Vaporising systems for large volume injection or on-line transfer into gas chromatography: classification, critical remarks and suggestions – *Journal of Chromatography A*, 750. 11-23.
11. HOH E. – MASTOVSKA K. 2008: Large volume injection techniques in capillary gas chromatography – *Journal of Chromatography A*, 1186. pp. 2-15.
12. Inlets for Capillary Gas Chromatography 2007 – GERSTEL, Germany, 62 p.
13. JABER F. – SCHUMMER C. – AL CHAMI J. – MIRABEL P. – MILLET M. 2007: Solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for analysis of phenols and nitrophenols in rainwater, as their t-butyldimethylsilyl derivatives – *Anal Bioanal Chem*, 387. pp. 2527-2535.
14. KREMMER T. – TORKOS K. 2010: Elválasztástechnikai módszerek elmélete és gyakorlata – *Akadémiai Kiadó*, Budapest, 273 p.
15. MAGYAR SZABVÁNY MSZ 1484-9:2009
16. MAGYAR SZABVÁNY MSZ 448-42
17. MAGYAR SZABVÁNY MSZ EN 12673:2000
18. MAGYAR SZABVÁNY MSZ EN ISO 6468
19. NOVÁK M. 2012: A MEPS (Microextraction By Packed Sorbent) minta-előkészítési módszer alkalmazása környezeti vízminták GC-MS áttekintésében – *Eötvös Loránd Tudományegyetem*, Budapest, pp. 49.
20. PETHŐ Á. 2011: A környezetben tartósan megmaradó szerves szennyező (POPs) növényvédő szerek hazai felhasználása 1950 és 2010 között – *Biokontroll*, pp. 12-22.
21. POY E.S. – VISANI F. – TERROSI F. 1981: Application of the split/splitless injector to environmental analysis – *Journal of Chromatography A*, 217. pp. 91-98.
22. PRIETRO A. – SCHRADER S. – MOERDER M. 2010: Determination of organic pollutants and emerging compounds in wastewater and snow samples using multiresidue protocols on the basis of microextraction by packed sorbents coupled to large volume injection gas chromatography-mass spectrometry – *Journal of Chromatography A*, 1217. pp. 6002-6011.

23. Sample Introduction Techniques for Capillary Gas Chromatography 2007 – GERSTEL, Germany, 66 p.
24. SHAHIN L. – JONSSON S. 2004: Analysis of some chlorinated pesticides in Jordanian ground and surface waters by solid phase extraction and mass spectrometric detection – a method development – *Linköping University*, Sweden, 58 p.
25. SOHÁR P. – MATYASOVSKY K. 2003: A perzisztens szerves vegyületek (POP-ok) jellemzése, előfordulása, élelmiszerekben mérhető szintjeik, étrendi bevitelük és egészségügyi kockázatuk – In. Páldy A. és Vaskövi B. (szerk.): A perzisztens szerves vegyületek előfordulása és környezet-egészségügyi jelentősége – *Fodor József Országos Közegészségügyi Központ*, Budapest, 2. függelék
26. STAN H.J. – LINKERHAGNER M. 1996: Large volume injection in residue analysis with capillary gas chromatography using a conventional autosampler and injection by programmed-temperature vaporization with solvent venting – *Journal of Chromatography A*, 727. pp. 275-289.
27. SZEKERES Z. 2007: Gyors gázkromatográfia és nagyterfogatú injektálás alkalmazási lehetőségei széles forráspont-tartományú minták esetén – *Eötvös Loránd Tudományegyetem*, Budapest, 49 p.
28. TORKOS K. – RIKKER T. – KOVÁCS Á. – KENDE A. – MÖRTL M. – VOLK G. 2008: Determination of phenols and chlorophenols as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography-mass spectrometry – *Journal of Chromatography A*, 1194. pp. 139-142.
29. VERMEULEN A. – WELVAERT K. – VERCAMMEN J. 2005: Evaluation of a dedicated gas chromatography-mass spectrometry method for the analysis of phenols in water – *Journal of Chromatography A*, 1071. pp. 41-46.
30. US EPA METHOD 8270D: Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS)
31. VLCKOVÁ H. – SOLICHOVÁ D. – BLAHÁ M. – SOLICH P. – NOVÁKOVÁ L. 2011: Microextraction by packed sorbent as sample preparation step for atorvastatin and its metabolites in biological samples – Critical evaluation – *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55. pp. 301-308.