

STANOVENÍ KARBONYLOVÝCH SLOUČENIN POMOCÍ HPLC/UV

DORŇÁKOVÁ DAGMAR, BAJEROVÁ PETRA* a VENTURA KAREL

Katedra analytické chemie

* *Garant*

ÚVOD

Karboonylové sloučeniny

Karboonylové sloučeniny, které se nacházejí v atmosféře, pocházejí z přirozených a antropogenních zdrojů. Přírodní zdroje vznikají například reakcemi v troposféře, kdy se reaktivní uhlovodíky přemění fotochemickou oxidací na aldehydy. Z nich se následně mohou vytvořit sekundární aerosoly. Mezi hlavní antropogenní zdroj patří průmyslové procesy a emise ¹. Aldehydy a ketony vykazují mnoho chemických vlastností. Většina z nich, jsou těkavé sloučeniny. Látky, které mají nízký počet atomů uhlíku, jsou rozpustné ve vodě ².

Nejznámějším zástupcem těchto sloučenin je formaldehyd. Vzniká v průběhu spalovacích procesů, ale i při rozkladu rostlinných zbytků. Nachází se i v lidské krvi, protože má vliv na metabolismus biosyntézy purinů a některých aminokyselin. Formaldehyd je za normálních podmínek bezbarvý plyn s intenzivním zápachem s následujícími fyzikálními vlastnostmi: bod varu (-19,2 °C), teplota tání (-118,0 °C) a hustota (1400 kg·m⁻³). Je velmi reaktivní a hořlavý. Využívá se hlavně k výrobě močovinoformaldehydové pryskyřice, která se používá jako lepidlo na dřevotřískové desky. Dále se z něj vyrábí hnojiva, papír, pěnové izolace nebo konzervační prostředek v textilním průmyslu. Jeho 37% vodný roztok (tzv. formalín) se používá k uchování biologického materiálu ³. Po proniknutí do organismu se formaldehyd váže na glutathion a pomocí enzymů vznikne kyselina mravenčí. Nebo může reagovat s DNA, RNA a proteiny. Expozici formaldehydu provází řada obtíží. Například astma, dušnost, plicní nedostatečnost, podráždění hrdla očí, únava, nevolnost a další ⁴.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Stanovení aldehydů a ketonů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) probíhá po předchozí derivatizaci s 2,4-dinitrofenylhydrazinem (DNPH), který v kyselém prostředí reaguje s karboonylovými sloučeninami za vzniku příslušných hydrazonů. Mez detekce je závislá na způsobu vzorkování ².

Pasivní vzorkování

Pasivní odběry vzorků, tzv. difuzní metody vzorkování, jsou realizovány pomocí jednoduchých zařízení, které jsou schopny reagovat s analyty z ovzduší. Samotný odběr vzorku je kontrolován fyzikálními procesy. Výhodou těchto metod je nízká cena, jednoduché vybavení, žádné požadavky na napájení a další. Nevýhodou ale mohou být podmínky prostředí jako je teplota, vlhkost, směr větru a jiné okolnosti, které mohou mít vliv na absorpci analytu ^{5,6}.

Pasivní vzorkovač Radiello

Často používaným zástupcem pasivních dozimetrů je pasivní vzorkovač Radiello, který využívá k difúzi molekul přes sběrné médium radiální geometrii. Díky tomu je jeho míra sorpce 3x větší než u axiálních vzorkovačů. Skládá se ze sorpční patrony používané ke sběru vzorků. Jedná se o skleněnou trubici naplněnou sorbentem. Před odběrem vzorků je sorpční patrona opatrně vložena do difúzního tělesa. V současné době jsou dostupné 4 druhy difúzních těles: bílé – má všeobecné využití, modré – hodí se i pro vzorky, které jsou citlivé na světlo, žluté – používá se u vzorků, kde je potřeba snížit vzorkovací frekvenci a stříbrné – válec se silikonovou membránou využívající se pro anestetické plyny. Difúzní těleso je možné připevnit na trojúhelníkovou desku z polykarbonátu vodorovně nebo vertikálně. Konstrukce umožňuje přenos patrony z difúzního tělesa bez dotyku a kontaminace sorbentu. V současnosti existuje víc než 10 druhů sorpčních patron 7-10.

Při výpočtech koncentrací látek zachycených na sorbentu je nutné zahrnout i klimatické podmínky, které mají na vzorkování zásadní vliv. Jedná se zejména o teplotu. Proto se pro výpočet reálného průtoku vzorkování přepočítá na reálnou teplotu podle následující rovnice (1):

$$Q_T = Q_{298} \left(\frac{T}{298} \right)^{0,35} \quad (1)$$

Pro výpočet skutečného obsahu znečišťujících látek v životní prostředí se používá vzorec pro hmotnostní koncentraci (2):

$$c = \frac{m}{Q_T \times t} \quad (2)$$

kde: Q_T je rychlost vzorkování při teplotě T [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$], T je teplota vzorkování [K], Q_{298} je referenční rychlost vzorkování při $T = 298$ K, t je čas [min] a m je hmotnost [$\mu\text{g} \cdot \text{vzorek}^{-1}$] 10.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Chemikálie

Demineralizovaná voda, acetonitril Sigma Aldrich (Bellefonte, PA, USA) – CHROMASOLV gradient grade, vzorky, roztok standardů (Carb Method 1004 DPNH mix 2) Supelco (Bellefonte, PA, USA) o koncentraci $30 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ v acetonitrilu - obsahující: formaldehyd-2,4-DNPH; acetaldehyd-2,4-DNPH; akrolein-2,4-DNPH; aceton-2,4-DNPH; propionaldehyd-2,4-DNPH; krotonaldehyd-2,4-DNPH; methakrolein-2,4-DNPH; 2-butanon-2,4-DNPH; butyraldehyd-2,4-DNPH; benzaldehyd-2,4-DNPH; valeraldehyd-2,4-DNPH; m-tolualdehyd-2,4-DNPH; hexaldehyd-2,4-DNPH.

Příprava kalibračních roztoků

Kalibrační roztoky byly připraveny ředěním základního standardního roztoku do acetonitrilu podle tabulky 1. Použité roztoky měly následující koncentrace:

- základní standardní roztok: $30 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
- pomocný standardní roztok 1: $3 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
- pomocný standardní roztok 2: $0,3 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

Tabulka 1: Příprava kalibračních roztoků k analýze

c [μg/ml]	Přídavek standardu a doplnění na 0,5 ml acetonitrem [μl]	Použitý standard
30	-	-
3	50	základní standardní roztok
1	17	základní standardní roztok
0,75	125	pomocný standardní roztok 1
0,6	100	pomocný standardní roztok 1
0,3	50	pomocný standardní roztok 1
0,15	25	pomocný standardní roztok 1
0,03 - LOQ	50	pomocný standardní roztok 2

Odběr vzorků a jejich příprava k analýze

V obci Častolovice v Pardubickém kraji se nachází výrobní závod Divize Isover, Saint-Gobain Construction Products CZ a.s., kde se vyrábí tepelné izolace. Odběr vzorků ovzduší pro analýzu byl proveden na 3 místech v okolí firmy Saint-Gobain v obci Častolovice (1. rozhraní pozemku firmy – směr obec Častolovice, GPS souřadnice 50°7'37,4"N, 16°10'3,1"E; 2. Rodinný dům – Masarykova 303, 517 50 Častolovice, GPS souřadnice 50°7'48.004"N, 16°10'30.511"E; 3. Areál ZŠ a MŠ Častolovice, Komenského 209, 517 50 Častolovice, GPS souřadnice 50°7'54.981"N, 16°11'0.990"E). Údaje o klimatických podmínkách byly získány z meteorologické stanice umístěné ve firmě Saint-Gobain (GPS souřadnice 50°7'36.701"N, 16°9'42.308"E). Celkem byly provedeny 3 etapy odběrů, z nichž každá trvala jeden týden (PO-PÁ). Pro záchyt škodlivin byla použita metoda pasivní dozimetrie a vzorkovač Radiello s modrým difúzním tělesem a tuhým sorbentem Florisilem, který obsahoval derivatizační činidlo 2,4-dinitrofenylhydrazin. Karbonylové sloučeniny z ovzduší reagovaly s tímto činidlem za vzniku příslušných 2,4-dinitrofenylhydrazonů. Vzorkovače byly umístěny v ochranném boxu na dobře větratelných místech a v takové výšce, aby se zabránilo úmyslnému poškození. Po dokončení odběru vzorků byly vzorkovače rozloženy a patronky se sorbentem byly vyjmuty z difúzního tělesa a vloženy do ochranného skleněného pouzdra a umístěny do chladu, kde zůstaly až do doby analýzy. Desorpce byla provedena přidáním 2 ml acetonitrilu a probíhala za občasného míchání cca 30 minut. Takto připravené vzorky byly následně analyzovány.

Analýza vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií

Měření probíhalo na kapalinovém chromatografu Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Jednotlivé části kapalinového chromatografu byly: degasér (DGU-20A5R), 2 pumpy (LC-30AD), autosampler (SIL-30AC), detektor (UV/VIS SPD-M30A), termostat (CTO-20AC), předkolona (Supelguard™ Ascentis™ RP-Amide, 2 cm x 4,0 mm, 5 μm), kolona (ASCENTIS® RP-Amide, 15 cm x 4,6 mm, 3 μm). Průtok kolonou byl nastaven na 1,5 ml·min⁻¹. Pro práci byla použita gradientová eluce. Celkový čas analýzy byl 50 minut. Mobilní fáze se skládala z acetonitrilu a demineralizované vody. Gradient mobilní fáze byl nastaven následovně: do 5 minut analýzy

bylo v mobilní fázi 40 % acetonitrilu a 60 % vody. V průběhu 30 minut stoupal gradient acetonitrilu na 70 %. Poté gradient 5 minut klesal na hodnotu 40 % acetonitrilu. Pro detekci byl použit detektor s diodovým polem, který měřil vlnové délky v rozsahu od 200 do 600 nm, vyhodnocení jednotlivých složek bylo provedeno při vlnové délce 360 nm. Teplota termostatu byla nastavena na 40 °C. Do přístroje bylo dávkováno 20 µl roztoků standardů popřípadě vzorků.

Všechny roztoky standardů a vzorků byly analyzovány při uvedených podmínkách.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Retenční časy včetně rovnic kalibračních závislostí jednotlivých složek obsažených v komerčně dostupném standardu znázorňuje tabulka 2.

Tabulka 2: Retenční časy standardů 2,4-dinitrofenyl hydrazonů a rovnice kalibračních závislostí

	Standard	t_R [min]	Rovnice kalibrační závislosti
1.	Formaldehyd-2,4-DNPH	8,76	$y = 460102x - 3673,9$
2.	Acetaldehyd-2,4-DNPH	12,01	$y = 264768x - 3031,6$
3.	Aceton-2,4-DNPH	15,17	$y = 279769x - 2844,2$
4.	Akrolein-2,4-DNPH	16,08	$y = 328490x - 1796,4$
5.	Propionaldehyd-2,4-DNPH	17,30	$y = 241460x - 3157,1$
6.	Krotonaldehyd-2,4-DNPH	20,11	$y = 229389x - 2773,6$
7.	Methakrolein-2,4-DNPH	20,70	$y = 208083x - 1884,1$
8.	2-Butanon-2,4-DNPH	21,36	$y = 233954x - 1626,3$
9.	Butyraldehyd-2,4-DNPH	21,82	$y = 194563x - 2418,8$
10.	Benzaldehyd-2,4-DNPH	24,50	$y = 120065x - 1533,0$
11.	Valeraldehyd-2,4-DNPH	26,30	$y = 154491x - 2039,7$
12.	m-Tolualdehyd-2,4-DNPH	28,34	$y = 91483x - 1188,0$
13.	Hexaldehyd-2,4-DNPH	30,52	$y = 136822x - 1839,4$

Množství látek ve vzorcích a výpočet koncentrací

Roztoky vzorků byly analyzovány stejným způsobem, jako standardy. Podle retenčních časů standardů byly nalezeny odpovídající karbonylové sloučeniny ve vzorcích a následně odečteny jejich plochy a vypočítány příslušné koncentrace. V analyzovaných vzorcích v různých etapách měření byl kvantifikován formaldehyd, acetaldehyd a aceton. Žádné další karbonylové sloučeniny nebyly detekovány.

Z výsledků chromatografických analýz a tabelovaných hodnot rychlosti vzorkování pro jednotlivé standardy při teplotě 298 K a tlaku 101,3 kPa byly vypočítány konečné koncentrace látek v ovzduší na jednotlivých místech odběru. Při výpočtu byl použit vzorec

pro vzorkovací průtok Q z rovnice (1) a pro výpočet koncentrace látek byl použit vzorec (2). Průměrné hodnoty teplot v daném odběrovém období potřebné pro výpočet byly získány z meteorologické stanice umístěné v areálu firmy.

Ukázkový příklad: Výpočet koncentrace formaldehydu (etapa 1, 1. odběrové místo)

- Zachycené množství (z rovnice regrese)

Plocha píku formaldehydu: 277716 [mV·s]

$$y = 460102x - 3673,9$$

$$x = \frac{y + 3673,9}{460102} \cdot f_{z\check{r}}$$

$$x = \frac{277716 + 3673,9}{460102} \cdot 2$$

$$x = 1,22 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$$

- Reálný průtok vzorkování

$$Q_T = Q_{298} \left(\frac{T}{298} \right)^{0,35} = 99 \left(\frac{284,6}{298} \right)^{0,35} = 97,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$$

- Hmotnostní koncentrace

$$c = \frac{m}{Q_T \times t} = \frac{1,2}{97,4 \times 5900} = 2,09 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$$

Ve vzorcích v etapě 1 byly kvantifikovány 3 látky. Koncentrace formaldehydu se pohybovala v rozmezí od 2,09 do 2,26 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$. Acetaldehyd byl přítomen v koncentracích od 1,23 do 1,43 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ a aceton od 2,65 do 3,09 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$. Koncentrace ostatních látek byly nižší než limit kvantifikace. V etapě 2 nebyly nalezeny žádné karbonylové sloučeniny v koncentraci vyšší než 0,06 $\mu\text{g} \cdot \text{vzorek}^{-1}$. Ve třetí etapě byl kvantifikován pouze formaldehyd, a to v koncentracích od 1,09 do 1,45 $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$.

ZÁVĚR

Odběr vzorků pro analýzu probíhal ve spolupráci s firmou Saint-Gobain Construction Products CZ, a.s. První odběrové místo se nacházelo v blízkosti firmy, kde se předpokládala nejvyšší koncentrace polutantů. Druhým místem byl rodinný dům, jehož obyvatelka si několikrát stěžovala na zápach údajně pocházející ze zmiňované firmy. V areálu MŠ a ZŠ byl vzorkovač umístěn proto, aby se vyloučila možnost negativního vlivu látek na zdraví dětí. Práce s difúzním vzorkovačem byla velmi jednoduchá. Po vložení sorpční patrony do difúzního tělesa byl vzorkovač našroubován na nosnou desku, která byla poté umístěna do ochranného boxu. Příprava vzorků k analýze byla rychlá a nenáročná. Spočívala ve vymytí získaného derivátu acetonitrilem.

Pro analýzu byla vybrána vysokoúčinná kapalinová chromatografie s obrácenými fázemi. Pro vyhodnocení byla použita metoda kalibrační křivky. Při samotném výpočtu koncentrací látek ve vzorcích se braly v úvahu i meteorologické podmínky v době odběru vzorků, a to zejména teplota, která má vliv na rychlost vzorkování.

V prvním týdnu měření se ve všech vzorcích vyskytoval formaldehyd, acetaldehyd a aceton. Ve druhé etapě měření však žádné látky kvantifikovány nebyly. Při posledním odběru byl zachycen pouze formaldehyd, jehož koncentrace v blízkosti firmy byla nižší než u ostatních míst.

Dle zákona o ochraně ovzduší č. 201/2012 Sb. ze dne 2. 5. 2012 nejsou emisní limity pro formaldehyd stanoveny. Jednotlivé stacionární zdroje znečišťování ovzduší jsou posuzovány dle limitních hodnot, které jim stanoví příslušný Krajský úřad v rámci povolení provozu zdroje nebo integrovaného povolení. Státní zdravotní ústav v Praze stanovil referenční hmotnostní koncentraci pro formaldehyd $60 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Z naměřených výsledků tak vyplývá, že i když byla tato látka v ovzduší nalezena, její množství nepřekračuje v žádném odebraném vzorku limitní mez.

LITERATURA

1. Czaplicka M., Jaworek K., Wochnik A.: Arch. Environ. Prot. 40, 21 (2014).
2. Patnaik P.: *Handbook of Environmental Analysis: Chemical Pollutants in Air, Water, Soil, and Solid Wastes*. 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton 2010.
3. Rovira J., Roig N., Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L.: J. Environ. Sci. Health. Part A Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng. 51, 357 (2016).
4. Ferus M., Cihelka J., Civiš S.: Chem. Listy 102, 417 (2008).
5. Górecki T., Namiesnik J.: TrAC, Trends Anal. Chem. 21, 276 (2002).
6. Wilford B.H., Harner T., Zhu J.P., Shoeib M., Jones K.C.: Environ. Sci. Technol. 38, 5312 (2004).
7. Namiesnik J., Zabiegala B., Kot-Wasik A., Partyka M., Wasik A.: Anal. Bioanal. Chem. 381, 279 (2005).
8. *What is radiello® diffusive sampling?*
Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/radiello-air-sampler/diffusive-sampling-system.html>.
9. Pennequin-Cardinal A., Plaisance H., Locoge N., Ramalho O., Kirchner S., Galloo J.C.: Atmos. Environ. 39, 2535 (2005).
10. *Radiello® Diffusive Sampling System*, Sigma–Aldrich Co. 2010.
Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/countries/germany/Radiello-IXV.pdf>.