

**VILNIAUS UNIVERSITETAS**

Vaida Šmitienė

**ORGANINIŲ ALAVO JUNGINIŲ MIKROEKSTRAKCIJA IR DUJŲ  
CHROMATOGRAFINIS NUSTATYMAS**

Daktaro disertacija

Fiziniai mokslai, chemija (03 P)

Vilnius, 2015

Disertacija rengta 2010-2015 metais Vilniaus universitete

Mokslinis vadovas:

Prof. habil. dr. Vida Vičkačkaitė (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai,  
chemija – 03 P)

## TURINYS

<b>SANTRUMPOS</b> .....	6
<b>ĮVADAS</b> .....	8
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA</b> .....	11
1.1. Organiniai alavo junginiai .....	12
1.1.1. Organinių alavo junginių savybės .....	12
1.1.2. Organinių alavo junginių sintezė.....	13
1.1.3. Organinių alavo junginių panaudojimas.....	15
1.1.4. Organinių alavo junginių paplitimas bei poveikis gyvajai gamtai .....	17
1.2. Organinių alavo junginių nustatymo metodų apžvalga .....	24
1.2.1. Ekstrakcijos būdai .....	24
1.2.1.1. Skysčių – skysčių ekstrakcija .....	25
1.2.1.2. Kietafazė ekstrakcija .....	26
1.2.1.3. Kietafazė mikroekstrakcija.....	27
1.2.1.4. Skystafazė mikroekstrakcija.....	30
1.2.1.4.1. Mikroekstrakcija tirpiklio lašu .....	30
1.2.1.4.2. Skystafazė mikroekstrakcija kapiliare.....	33
1.2.1.4.3. Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija.....	35
1.2.1.4.4. Mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu .....	38
1.2.2. Organinių alavo junginių analizės metodai .....	40
1.2.3. Organinių alavo junginių derivatizavimo metodai .....	42
1.2.3.1. Derivatizacija naudojant $\text{NaBH}_4$ .....	42
1.2.3.2. Alkilinimas Grignard'o reagentais .....	44
1.2.3.3. Derivatizacija tetraalkilboratais.....	46
<b>2. EKSPERIMENTO METODIKA</b> .....	49
2.1. Reagentai.....	49
2.2. Tirpalai .....	50
2.3. Įranga ir aparatūra .....	51
2.4. Dujų chromatografinės-masių spektrometrinės analizės sąlygos.....	51
2.5. Bendra DSSME atlikimo procedūra.....	52
2.6. Bendra MEŠTL atlikimo procedūra .....	53
2.7. Bendra DSSME panaudojant užšaldomą tirpiklį atlikimo procedūra .....	53
2.8. Analizės rezultatų įvertinimas.....	53

2.9. Rezultatų apskaičiavimas priedų metodu .....	55
<b>3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....</b>	<b>56</b>
3.1 Metilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas .....	56
3.1.1. Metilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija .....	56
3.1.1.1. Metilalavo junginių derivatizacija .....	57
3.1.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas .....	59
3.1.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas.....	63
3.1.1.4. Metodo analizės charakteristikos .....	71
3.1.2. Metilalavo junginių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu .....	72
3.1.2.1. MEŠTL sąlygų optimizavimas .....	72
3.1.2.2. Metodo analizinės charakteristikos .....	79
3.1.3. Metilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose .....	80
3.2. Butilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas.....	83
3.2.1. Butilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija .....	83
3.2.1.1. Butilalavo junginių derivatizacija .....	83
3.2.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas .....	85
3.2.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas.....	87
3.2.1.4. Metodo analizės charakteristikos .....	95
3.2.2. Butilalavo junginių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu.....	95
3.2.2.1. MEŠTL sąlygų optimizavimas .....	95
3.2.2.2. Metodo analizinės charakteristikos .....	100
3.2.3. Butilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose .....	102
3.3. Fenilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas .....	103
3.3.1. Fenilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija.....	103
3.3.1.1. Fenilalavo junginių derivatizacija .....	103
3.3.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas.....	105
3.3.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas.....	107
3.3.1.4. Metodo analizės charakteristikos .....	113
3.3.2. Fenilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu .....	114
3.3.2.1. DSSME-ŠTL sąlygų optimizavimas .....	114
3.3.2.2. Metodo analizės charakteristikos .....	118

3.3.3. Fenilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose .....	120
<b>IŠVADOS</b> .....	121
<b>AUTORIAUS MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ, APIBENDRINTŲ DAKTARO DISERTACIJOJE, SĄRAŠAS</b> .....	124
<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS</b> .....	126

## SANTRUMPOS

- AAS – atominė absorbcinė spektrometrija
- BAJ – butilalavo junginiai
- DBT – dibutilalavas (*angl.* dibutyltin)
- DCh – dujų chromatografija
- DMT – dimetilalavas (*angl.* dimethyltin)
- DPhT – difenilalavas (*angl.* diphenyltin)
- DSSME – dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija
- FID – liepsnos jonizacinis detektorius (*angl.* flame ionization detector)
- FPD – liepsnos fotometriniis detektorius (*angl.* flame photometric detector)
- ICP-MS – indukuotai sužadintos plazmos masių spektrometrija (*angl.* inductively coupled plasma mass spectrometry)
- KFE – kietafazė ekstrakcija
- KFME – kietafazė mikroekstrakcija
- KFMEM – kietafazė mikroekstrakcija su magnetu
- MAJ – metilalavo junginiai
- MBT – monobutilalavas (*angl.* monobutyltin)
- MEŠTL – mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu
- MMT – monometilalavas (*angl.* monomethyltin)
- MPhT – monofenilalavas (*angl.* monophenyltin)
- MS – masių spektrometrija

OAJ – organinis(-iai) alavo junginys(-iai)

PDMS – polidimetilsiloksanas

PhAJ – fenilalavo junginiai

PVC – polivinilchloridas

SCh – skysčių chromatografija

SFME – skystafazė mikroekstrakcija

SIR – pasirinkto jono matavimas (*angl.* Selected Ion Recording)

SSCh – superkritinių skysčių chromatografija

SSE – skysčių – skysčių ekstrakcija

TBT – tributilalavas (*angl.* tributyltin)

TPhT – trifenilalavas (*angl.* triphenyltin)

TMT – trimetilalavas (*angl.* trimethyltin)

## ĮVADAS

Organiniai alavo junginiai (OAJ) kai kuriuose šaltiniuose yra vadinami naujos kartos medžiagomis. Šių medžiagų pritaikymas yra labai platus: polivinilchlorido stabilizatoriai, medienos konservantai, pesticidai, fungicidai, polimerizacijos katalizatoriai ir t.t. Sąrašas, kur gali būti panaudojami OAJ yra iš tiesų ilgas, nes kai kuriose srityse šie junginiai nepakeičiami, mat reikalingą efektą užtikrina itin maži jų kiekiai. OAJ pradėti sintetinti dar 1936 metais, tad juos vadinti naujos kartos medžiagomis nėra labai tiksliu. Maždaug 1980 m. buvo įrodyta, kad pats alavas bei neorganinės jo formos nėra toksiškos, tuo tarpu OAJ teršia aplinką, sukelia žmogaus sveikatos problemas, yra ypatingai toksiški ir linkę kauptis gyvuosiuose organizmuose.

Dėl plataus pritaikymo pramonėje OAJ aptinkami aplinkoje visame pasaulyje: paviršiniuose bei vandentiekio vandenyse, nuotekose, biologiniuose mėginiuose, tokiuose kaip žuvis, sraigės ir kt. Per vandenį ir mitybos grandinę OAJ patenka į dumblius bei jūros gyvūnų organizmus. Yra nustatyta, kad jau 10 – 50 ng/l tributilalavo junginių koncentracijos gali sukelti kai kurių jūros gyvūnų mirtį. Į žmogaus organizmą šie junginiai patenka taip pat per vandenį bei mitybos grandinę. Trimetilalavo druskų buvo surasta žmonių, kurie tiesiogiai nesusiduria su OAJ, kraujyje bei šlapime. Tad mažiausiai suklystume, jei OAJ pavadintume naujos kartos teršalais.

Dėl neigiamo poveikio aplinkai organiniai alavo junginiai kaip prioritetinės pavojingos medžiagos 2000 m. buvo įtraukti į Europos Sąjungos Teršalų emisijos registrą bei Bendrąją vandens politikos direktyvą. Pastarosios direktyvos tikslas - sustabdyti prioritetinių kenksmingųjų medžiagų išleidimą į vandenį ir padėti pasiekti, kad šių medžiagų koncentracijos jūrų aplinkoje priartėtų prie foninių verčių.

Labiausiai iš visų OAJ yra paplitę metilalavo junginiai. Visi OAJ, išskyrus metilalavo junginius, yra gaunami sintezės būdu ir į aplinką patenka dėl žmogaus veiklos, o štai metilalavo junginiai yra gaunami gamtoje ir biotinio bei abiotinio metilinimo metu. Taip pat tai - kitų organinių alavo



junginių skilimo produktai, todėl jų kiekiai aplinkoje yra sunkiai kontroliuojami, bet turi būti stebimi, o esant ypatingai situacijai - priimami atitinkami aplinkosauginiai sprendimai.

Iš visų OAJ didžiausią neigiamą poveikį aplinkai daro tributilalavas (TBT), jis ilgus metus buvo naudojamas gaminant dažus, skirtus padengti laivų paviršius. Tokie dažai turėjo ypatingai didelę paklausą, nes apsaugodavo laivo korpusą nuo apaugimo dumbliais. Deja, laivai buvo dengiami nauju dažų sluoksniu virš vandens, o senas dažų sluoksnis neretais atvejais buvo šalinamas nuo laivo korpuso tiesiai į vandenį, tad per visus tuos metus, kuomet tokie dažai buvo naudojami, milžiniški kiekiai TBT pateko į vandenynus.

1982 m. Prancūzija tapo pirmąja šalimi, kurioje buvo uždrausta naudoti TBT neapaugančių dažų gamyboje. Tarptautinė Jūrų Organizacija 2001 m. priėmė nutarimą, kad nuo 2008 m. visame pasaulyje nebegalima naudoti dažų, kurių sudėtyje yra TBT ir jau nuo 2003 metų buvo uždrausta tokiais dažais prekiauti ar juos gaminti. Visos Europos Sąjungos (ES) narės privalo kontroliuoti OAJ kiekius aplinkoje. Lietuva tapdama ES nare taip pat įsipareigojo vykdyti ES teisinius reikalavimus, susijusius su vandenų apsauga.

Projekto „Vandens aplinkai pavojingų medžiagų nustatymas Lietuvoje“ metu (2005 – 2007 m.) pavojingų medžiagų tyrimų rezultatai parodė, kad didžiausią susirūpinimą Lietuvos mastu vandens aplinkai kelia būtent organiniai alavo junginiai. Projekto pabaigoje buvo suformuluota ES rekomendacija Lietuvai, kuo skubiau įtraukti į aplinkos stebėsenos programą Lietuvoje iki tol nekontroliuotus OAJ.

2010 m. gegužės mėnesį LR aplinkos ministras pasirašė įsakymą, kuriame nurodoma, kad visų pirma tributilalavo junginiai, o greta ir trifenilalavo junginiai yra įtraukiami į sąrašą pavojingų medžiagų, kurios gali būti išleidžiamos su nuotekomis iš tam tikrų pramonės sektorių Lietuvos teritorijoje ir turi būti kontroliuojami jų kiekiai, o palaiptui šių medžiagų patekimas į aplinką turi būti visiškai nutrauktas. Nuo 2010 m. Lietuvos aplinkos apsaugos agentūra vykdydama aplinkos monitoringo programą stebi TBT kiekius Kuršių mariose bei nuotekose.

OAJ analizei reikalingi tikslūs ir jautrūs nustatymo metodai. Dėl didelės skiriamosios gebos ir greito atskyrimo dažniausiai šių junginių identifikavimui taikomas dujų chromatografinis atskyrimas. Šiuo metodu galima nustatyti ne tik bendrą alavo kiekį, bet ir identifikuoti jo formas. OAJ aplinkoje aptinkami joninėje formoje (oksidai, hidroksidai ir kt.), todėl prieš atliekant dujų chromatografinę analizę būtina atlikti derivatizaciją, kurios metu suformuojami lagesni ir termiškai stabilesni junginiai. Dažniausiai taikomi derivatizacijos būdai – alkilimas Grignard'o reagentu arba boratais bei hidridų formavimas natrio borhidridu.

Dažniausiai OAJ koncentracijos aplinkoje būna labai mažos, todėl analizių sukonzentravimui ir izoliavimui nuo trukdančios matricos yra naudojami įvairūs ekstrakcijos metodai. Klasikiniai skysčių - skysčių ir kietafazės ekstrakcijos metodai užima daug laiko ir reikalauja didelio kiekio brangių ir kenksmingų aplinkai organinių tirpiklių. Siekiant išvengti minėtų trūkumų, yra sukurtos miniatiūrizuotos ekstrakcijos technikos: kietafazė mikroekstrakcija bei skystafazė mikroekstrakcija, pvz., dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija (DSSME). DSSME yra paprastas, greitas, pigus, draugiškas aplinkai, patikimas, lengvai pritaikomas konkrečioms analitėms ekstrakcijos metodas. Antra vertus, DSSME bei kitų skysčių-skysčių mikroekstrakcijos metodų pritaikymo galimybės organinių alavo junginių analizei yra mažai ištirtos. Tai nulėmė šio disertacinio darbo tikslą.

**Šioje daktaro disertacijoje apibendrintų mokslinių tyrimų tikslas – ištirti mikroekstrakcijos metodų galimybes greitai ir efektyviai organinių alavo junginių ekstrakcijai, paruošti ir pritaikyti mikroekstrakcijos metodikas vandeninių mėginių analizei.**

### **Disertacinio darbo uždaviniai:**

1. Optimizuoti organinių alavo junginių derivatizacijos bei dujų chromatografinio-masių spektrometrinio nustatymo sąlygas.
2. Ištirti dispersinės skysčių – skysčių mikroekstrakcijos metodo, mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu metodo ir dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos panaudojant užšaldomą tirpiklio lašą metodo galimybes ekstrahuoti organinius alavo junginius bei paruošti metodikas organinių alavo junginių nustatymui.
3. Palyginti paruoštas organinių alavo junginių mikroekstrakcijos metodikas.
4. Tinkamiausias organinių alavo junginių mikroekstrakcijos metodikas pritaikyti realių vandens mėginių analizei.

### **Ginamieji disertacijos teiginiai:**

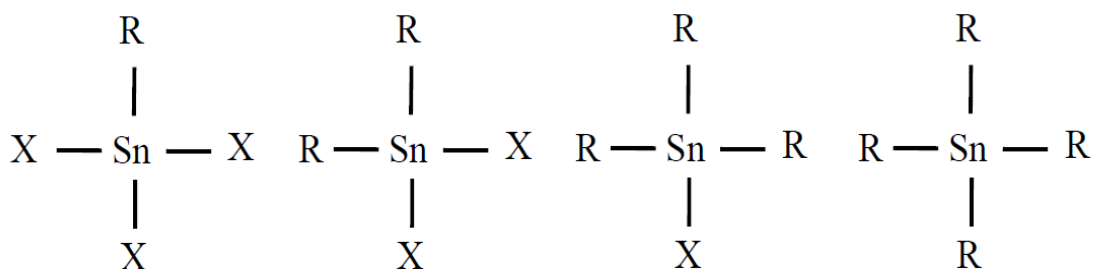
1. Dujų chromatografija – masių spektrometrija yra jautrus ir atrankus derivatizuotų organinių alavo junginių nustatymo metodas.
2. Organinių alavo junginių ekstrakcija gali būti atliekama dispersinės skysčių - skysčių mikroekstrakcijos, mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu bei dispersinės skysčių – skysčių mikroekstrakcijos panaudojant užšaldomą tirpiklio lašą metodais.
3. Dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija yra tinkamiausias iš tirtų mikroekstrakcijos metodų nustatant organinius alavo junginius realiuose vandens mėginiuose.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Organiniai alavo junginiai

### 1.1.1. Organinių alavo junginių savybės

Organiniai alavo junginiai – tai cheminės medžiagos, kurių bendra formulė yra  $R_nSnX_{4-n}$  ( $n = 1, 2, 3, 4$ ; R – organinis pakaitas; X – anijonas, pavyzdžiui, halogenidas, oksidas (=O), hidroksidas (-OH) ar kita funkcinė grupė) [1]. Organiniame alavo junginyje yra nors vienas kovalentinis Sn – C ryšys. Atsižvelgiant į organinių pakaitų, esančių prie alavo atomo, skaičių, OAJ yra grupuojami į mono-, di-, tri- ir tetra- pakeistus organinius alavo junginius (1.1 pav.) [2]. Junginiuose, kuriuose alavo oksidacijos laipsnis +2, alavo atomas yra stabilizuojamas dideliais organiniais ligandais arba ciklopentadieno žiedu. Tokie junginiai neturi plataus praktinio pritaikymo [3]. Šiame darbe bus nagrinėjami tik tie OAJ, kuriuose alavo oksidacijos laipsnis +4, nes jie yra plačiai naudojami ir daro didelį poveikį žmogui bei jo aplinkai.



**1.1 pav.** Mono-, di-, tri- ir tetra- pakeisti alavo organiniai junginiai [4].

OAJ istorija prasidėjo 1849 m., kuomet seras Edward'as Frankland'as susintetino pirmąjį organinį alavo junginį – dietilalavo diiodidą ( $Et_2SnI_2$ ) [3]. Iki 1900 m. buvo paskelbti 37 darbai apie OAJ sintezę [5]. Nuo XX a. antros pusės OAJ chemija vystėsi sparčiausiai, buvo sintetinami vis nauji junginiai, atrandamos naujos OAJ pritaikymo galimybės [6]. Šiandien yra žinoma daugiau nei 800 įvairių OAJ, tačiau skirtingai nei praeitame amžiuje, šių dienų tikslas – ne OAJ pritaikymo paieškos, bet minėtų junginių kiekio aplinkoje stebėjimas bei kontroliavimas.

Kovalentinis ryšys Sn – C pasižymi dideliu stabilumu vandeninėje terpėje bei deguonies atmosferoje. Kai kurių šaltinių duomenimis, jis išlieka stabilus net esant aukštai temperatūrai (iki 200 °C). Tačiau ryšys Sn – C gali būti lengvai suardomas veikiant UV spinduliuote, stipriomis rūgštimis bei elektrofiliniais reagentais. Nuo Sn – C ryšių kiekio ir organinio pakaito prie Sn atomo prigimties priklauso OAJ cheminės ir fizikinės savybės. Kuo junginyje yra daugiau Sn – C ryšių ir kuo ilgesnė organinio pakaito grandinė, tuo OAJ mažiau tirpus vandenyje [7]. Priklausomai nuo bendros OAJ struktūros, jų tirpumas svyruoja nuo labai mažo (apie 1 mg/l), pvz., oktilalavo junginių, iki labai didelio (apie 100 g/l), pvz., metilalavo junginių (1.1 lentelė) [8].

### 1.1 lentelė

Cheminės mono- ir dipakeistų organinių alavo chloridų savybės [9].

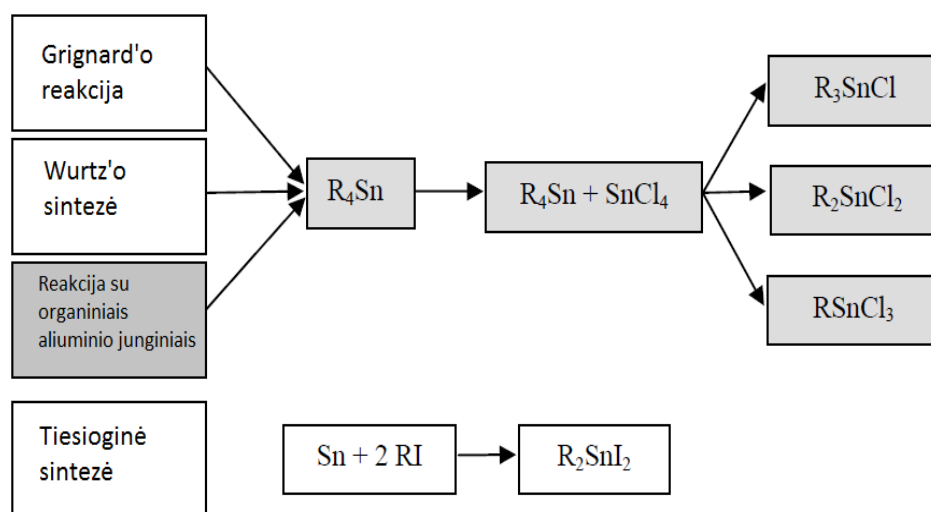
	MMT	DMT	MBT	DBT	MOT	DOT
Cheminė formulė	CH <sub>3</sub> SnCl <sub>3</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SnCl <sub>2</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> SnCl <sub>3</sub>	(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>2</sub> SnCl <sub>2</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> SnCl <sub>3</sub>	(C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> ) <sub>2</sub> SnCl <sub>2</sub>
CAS Nr.	993-16-8	753-73-1	1118-46-3	683-18-1	3091-25-6	3542-36-7
Molekulinė masė	240.8	219.7	282.2	303.8	338.3	416
Lydymosi temperatūra, °C	47	105	-63	40	10	47
Virimo temperatūra, °C	173	189	250	250	250	250
Tirpumas, mg/L	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>5</sup>	8.2	36	0.1	1.0
Garų slėgis 25°C, Pa	33.3	30.0	5.84	0.15	0.55	1.35x10 <sup>-4</sup>

#### 1.1.2. Organinių alavo junginių sintezė

Kai kurie metilalavo junginiai (MAJ) susidaro gamtoje biometilinimo proceso metu [10]. Neorganinių Sn (IV) junginių metilinimą inicijuoja metilkobalto aminos (CH<sub>3</sub>B<sub>12</sub>, vitamino B<sub>12</sub> metilo kofermentas). Monometilalavas gaunamas, kai CH<sub>3</sub>B<sub>12</sub> demetilinamas alavo chloridu (SnCl<sub>2</sub>) vandeniniame HCl tirpale, dalyvaujant oksidatoriui Fe<sup>3+</sup> arba Co<sup>3+</sup>. Neorganines divalentes alavo druskas vandeninėje terpėje iki monometilalavo (IV) junginių taip pat metilina metiljodidas (CH<sub>3</sub>I), kuris randamas

vandenynuose, kaip natūralus jūros dumblių produktas, o tuo tarpu Sn (IV) junginiai su metiljodidu nereaguoja. Kai kurios *Pseudomonas* bakterijos taip pat gali suformuoti įvairius metilalavo (IV) junginius. Didžioji dalis gamtiniuose vandenyse ir nuosėdose randamų metilalavo junginių susidaro šio biologinio proceso metu [11].

Visi kiti OAJ – tai sintetinės medžiagos, kurias galima gauti įvairiais būdais: tiesiogiai (iš elementinio alavo, vykstant reakcijai  $\text{Sn} + 2\text{RX} \rightarrow \text{R}_2\text{SnX}_2$ , kur R – alkilo grupė, o X – anijonas) ir netiesiogiai (iš kitų alavo junginių, dažniausiai iš turinčių Sn – Cl, Sn – O ar Sn – H ryšius), vykdamas reakcijas su Grignard'o, Wurtz'o ar organiniais aliuminio reagentais (1.2 pav.) [12].



**1.2 pav.** Organinių alavo junginių sintezės būdai [4].

Sintezės metu, kuomet OAJ gaunami netiesioginiu būdu, vyksta dvi reakcijos. Pirmiausiai yra sudaromi kovalentiniai ryšiai Sn – C (tetraalkilalavas), t.y. vyksta reakcija tarp alavo tetrachlorido ( $\text{SnCl}_4$ ) ir pvz., Grignard'o reagento (bendra formulė  $\text{RMgX}$ , kur R – organinė grupė, X – halogenidas). Toliau vyksta Kocheshkov'o perskirstymo reakcija: aukštoje temperatūroje (apie 200 °C) pirmos reakcijos metu susintetintas  $\text{R}_4\text{Sn}$  reaguoja su  $\text{SnCl}_4$ , ir gaunami tokio tipo junginiai:  $\text{R}_3\text{SnCl}$ ,  $\text{R}_2\text{SnCl}_2$  ir  $\text{RSnCl}_3$  [4, 8].

Visos kitos medžiagos gali būti nesunkiai gaminamos iš minėtų chloridų, pakeičiant chloro atomus atitinkamais nukleofilais ( $\text{HO}^-$ ,  $\text{RCO}_2^-$ ,  $\text{RO}^-$  ir kt.) Nukleofilu naudojant metalų hidridus, pvz., ličio aliuminio hidridą ( $\text{LiAlH}_4$ ), gaunami organiniai alavo hidridai, jų bendra formulė  $\text{R}_n\text{SnH}_{4-n}$  [5].

### 1.1.3. Organinių alavo junginių panaudojimas

Organinių alavo junginių pritaikymas yra labai platus, kai kuriose srityse šie junginiai nepakeičiami, nes reikalingą efektą užtikrina itin maži jų kiekiai. OAJ buvo pradėti sintetinti 1936 m. Faktas, kad 1955 m. metinė OAJ gamyba siekė apie 5000 t, o 1986 m. apie 63 000 t, rodo, kad šie junginiai pasižymi unikaliomis savybėmis, kurių neturi nė vieno kito metalo organiniai junginiai [13]. 1992 m. maždaug 7 % viso metalinio alavo buvo panaudojama OAJ gamybai [3]. Augant plastiko poreikiui, didėjo ir OAJ sunaudojami kiekiai, štai 2001 m. net 60 % visų OAJ buvo naudojami polivinilchlorido (PVC) gamyboje [14].

- Mono- ir di- pakeisti OAJ yra naudojami kaip stabilizatoriai polivinilchlorido gamyboje. Pavyzdžiui, dialkilalavo dariniai, tokie kaip dioktilalavo bei dimetilalavo dichloridai, naudojami formuojant plastikines maisto, kosmetikos, vaistų pakavimo medžiagas [15]. Metilalavo junginiai atlieka stabilizatoriaus vaidmenį, užtikrindami gaminamo polimero stabilumą šviesos, atmosferos oro bei šilumos poveikyje [13]. Pavyzdžiui, metilalavo merkaptidas (dimetilalavo bis(2-etilheksilmerkpto) acetatas) aukštoje temperatūroje transformuojasi į junginius, kurių bendra formulė  $\text{R}_n\text{SnCl}(\text{SR})_{3-n}$  ir  $\text{R}_n\text{SnCl}_{4-n}$  [16], taip yra neutralizuojamas vandenilio chloridas, išsiskiriantis kaitinant PVC [17].

Priklausomai nuo PVC paskirties, naudojami skirtingi stabilizatoriai: metilalavo-2-merkptoetiloleato sulfidas yra stabilizatorius PVC, kurie naudojami vandentiekio ar kanalizacijos vamzdžių gamybai; metilalavo-

2-etilheksilmerkaptio acetatas yra naudojamas kaip stabilizatorius PVC, iš kurio formuojamos apsauginės plėvelės [3, 16] ir t.t.

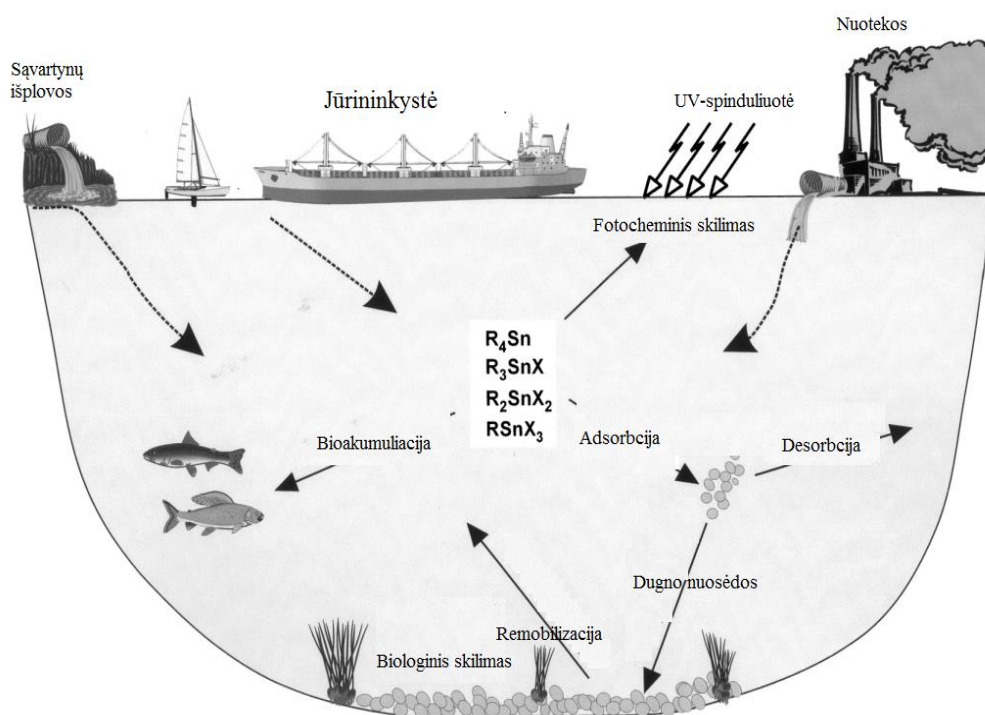
- **Mono- ir di- pakeisti OAJ** naudojami kaip katalizatoriai poliuretano putų ir silikonų gamyboje [13].
- **Mono- ir di- pakeisti OAJ** naudojami kaip stiklo taros paviršių apdirbimo agentai, apsaugantys stiklą nuo mikroskopinių įskilimų [18].
- **Tri- pakeisti OAJ** naudojami kaip neapaugančių dažų, skirtų laivams apsaugoti, aktyvūs komponentai [19], OAJ gali sudaryti net iki 15 % tokių dažų masės.
- **Tri- pakeisti OAJ** naudojami kaip pramoniniai biocidai, paviršiaus dezinfekavimo priemonės, dažnai pritaikomi tekstilės dezinfekavimui, taip pat tai - medienos konservantai (tributilalavo dariniai, pvz., bis(tributilalavo)oksidas [13]).
- **Tri- pakeisti OAJ** naudojami kaip pesticidai [18, 20].
- **Tri- pakeisti OAJ** naudojami kaip fungicidai žemės ūkyje (trifenilalavo dariniai, pvz., trifenilalavo hidroksidas arba acetatas), akaricidai (tricikloheksilalavo dariniai, pvz., tricikloheksilalavo hidroksidas) [20, 21].
- **Tri- ir tetra- pakeisti OAJ** naudojami kaip reagentai organinei sintezei, t.y. kaip tarpinės medžiagos kitų cheminių medžiagų gamyboje, pvz.,  $R_3SnH$  plačiai naudojami kaip reduktoriai dehalogeninimo reakcijose [22]. Be to, paladžio katalizuojama kryžminio kopuliacinio *Stille* reakcija, kurios vienas pagrindinių reagentų yra OAJ, yra dažnai taikoma organinėje sintezėje [23].
- **Tetra- pakeisti OAJ** naudojami kaip katalizatoriai, pvz.,  $R_4Sn$  kartu su titano tetrachloridu ( $TiCl_4$ ) sudaro efektyvias katalitines sistemas polietileno sintezei [6].
- Kai kurie OAJ naudojami kaip priešvėžiniai, priešgrybeliniai, priešuždegiminiai vaistai [24], pvz., di-*n*-butil-di-(4-chlorobenzohidroksamato)alavas (IV) pasižymi stipriomis



priešvėžinėmis savybėmis, efektyviai stabdo vėžinių ląstelių dauginimąsi ir sukelia jų apoptozę [25].

#### 1.1.4. Organinių alavo junginių paplitimas bei poveikis gyvajai gamtai

Polivinilchlorido stabilizatoriai, medienos konservantai, pesticidai, fungicidai, biocidai laivų dažuose [17, 26], polimerizacijos katalizatoriai [27] – tai dalis sąrašo sričių, kuriose yra panaudojami OAJ. Šių junginių pritaikymo pramonėje galimybės iš tiesų didelės, deja, egzistuoja ir neigiama OAJ populiarumo pusė. Dėl itin plataus pritaikymo pramonėje OAJ aptinkami aplinkoje visame pasaulyje: paviršiniuose, geluose bei vandentiekio vandenyse, nuotekose, nuosėdose, biologiniuose mėginiuose, tokiuose kaip žuvis, austrės, sraigės ir kt. [28, 29].



1.3 pav. OAJ paplitimas vandens aplinkoje [3].

Maždaug 1980 m. buvo įrodyta, kad pats alavas bei neorganinės jo formos nėra toksiškos, tuo tarpu OAJ teršia aplinką, sukelia žmogaus sveikatos problemas, yra labai nuodingi [27, 30] ir linkę kauptis gyvuosiuose organizmuose.

OAJ toksiškumui įtakos turi aplinkos sąlygos (temperatūra, pH ir druskingumas [31]) bei junginio sudėtis. OAJ toksiškumas didėja trumpėjant OAJ anglies atomų grandinei ir didėjant organinių pakaitų skaičiui prie alavo atomo [27]. Pavyzdžiui, iš metilpakeistų OAJ toksiškiausi yra alavo junginiai, turintys tris metilo grupes ( $(\text{CH}_3)_3\text{Sn}^+$ ), mažiausiai toksiški yra turintys vieną metilo grupę ( $\text{CH}_3\text{Sn}^{+3}$ ) [32]. Šis dėsniumas buvo nustatytas ištyrus, kokios yra mirtinos metilpakeistų OAJ dozės žiurkėms: monometilalavo trichlorido  $\text{LD}^{50}$  (mg/kg) = 1370, dimetilalavo dichlorido  $\text{LD}^{50}$  (mg/kg) = 74 ir trimetilalavo chlorido  $\text{LD}^{50}$  (mg/kg) = 13 [3]. Tas pats dėsniumas galioja ir kitiems OAJ, t.y. mono- ir dialkilalavo junginiai yra mažiau toksiški nei trialkil- ar triarilalavo junginiai [33, 34]. Pavyzdžiui, tributilalavo chlorido  $\text{LD}^{50}$  (žiurkėms) yra 220 mg/kg, trioktilalavo chlorido  $\text{LD}^{50}$  > 4000 mg/kg, o butilalavo trichlorido  $\text{LD}^{50}$  yra 2250 mg/kg [4]. Tetraalkilalavo junginiai yra toksiški tik tais atvejais, kai gyvuosiuose organizmuose virsta trialkilalavo dariniais [4, 19].

Kaip jau buvo minėta 1.1.3. skyriuje, gaminant PVC yra naudojami dideli kiekiai OAJ, pvz., plastikinių vandentiekio vamzdžių gamyboje. Deja, metilalavo junginiai bei kai kurios kitos sudedamosios medžiagos iš PVC gaminių per ilgą laiką yra išplaunamos, tokiu būdu gali būti užteršiami maisto produktai, geriamasis vanduo, komunaliniai vandenys ir kt. Literatūroje yra šaltinių, teigiančių, kad vartotojams teikiamame vandenyje buvo aptikti mono- (daugiau kaip 291 ng(Sn)/l) bei dimetilalavo (iki 49,1 ng(Sn)/l) junginiai [28].

OAJ per vandenį ir mitybos grandinę patenka į dumblius bei jūros gyvūnų organizmus [35]. Pavyzdžiui, tributilalavo junginiai yra labai efektyvūs moliuskicidai [19], todėl ilgus metus buvo naudojami gaminant dažus, skirtus padengti laivų bei povandeninių objektų paviršius. Tokie dažai apsaugo laivo korpusą nuo apaugimo dumbliais ir kitais vandens organizmais,

todėl dar visai neseniai buvo plačiai naudojami (nuo 2003 m. TBT naudoti gaminant dažus yra uždrausta). Didžiausias kiekis tokių dažų patenka į vandenį laivų perdažymo metu, t.y. senas dažų sluoksnis neretais atvejais yra pašalinamas nuo laivo korpuso tiesiai į vandenį, o nauju dažų sluoksniu laivai dengiami vandenį naudojant kaip „apsauginę plėvelę“. Jūros vanduo taip pat daro poveikį laivų dažų sluoksniui, dažų sudedamosios dalys po truputį yra išplaunamos ir patenka į vandenį. Laivų bei vandens srovės (kaip dažų atplaišos adsorbavęsi ant mikroorganizmų, augalų, dumblių) OAJ gali būti pernešami didžiulius atstumus visomis kryptimis nuo pradinio taršos šaltinio [36]. 1.2 Lentelėje pateikiami duomenys iš skirtingų pasaulio regionų, gauti įvairiais metais, taikant skirtingus metodus bei analizės priemones, tačiau nustatant tuos pačius OAJ: mono- (MBT), di- (DBT) ir tributilalavo junginius. Lentelėje pateikiami duomenys tik patvirtina faktą, kad alavo organinių junginių galima rasti kiekviename vandens, naudojamo laivybai, telkinyje.

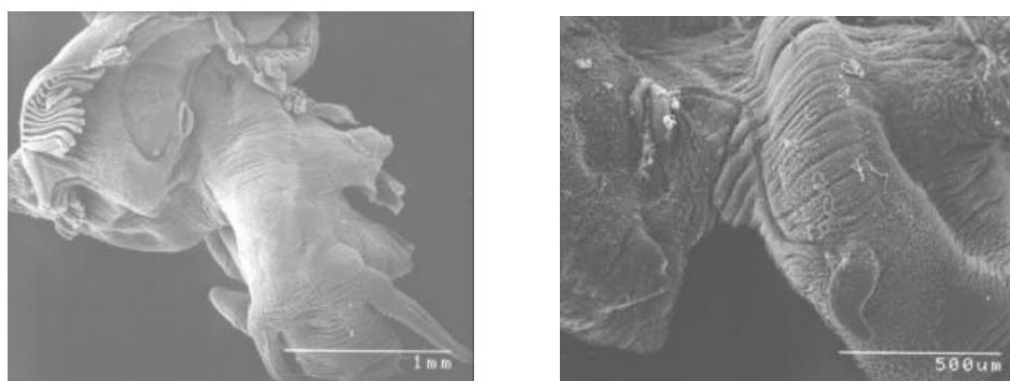
## 1.2 lentelė

Tributilalavo junginių koncentracija, nustatyta dugno nuosėdose

Dugno nuosėdų mėginių ėmimo vieta	OAJ	Koncentracija ng(Sn)/g	Tyrimo metai
Šiaurės Ispanija	MBT DBT TBT	0,86-2,87 0,15-0,71 0,05-5,48	2003 [37]
Brazilija	MBT DBT TBT	12-256 8-704 34-1388	2003 [38]
Vokietija, Šiaurės jūra	MBT DBT TBT	10-60 30-280 80-720	2000 [39]
Vokietija, Baltijos jūra	MBT DBT TBT	10-1200 150-14000 570-17000	2000 [39]
Pietų Korėja	MBT DBT TBT	40-740 10-573 4-382	1999 [40]

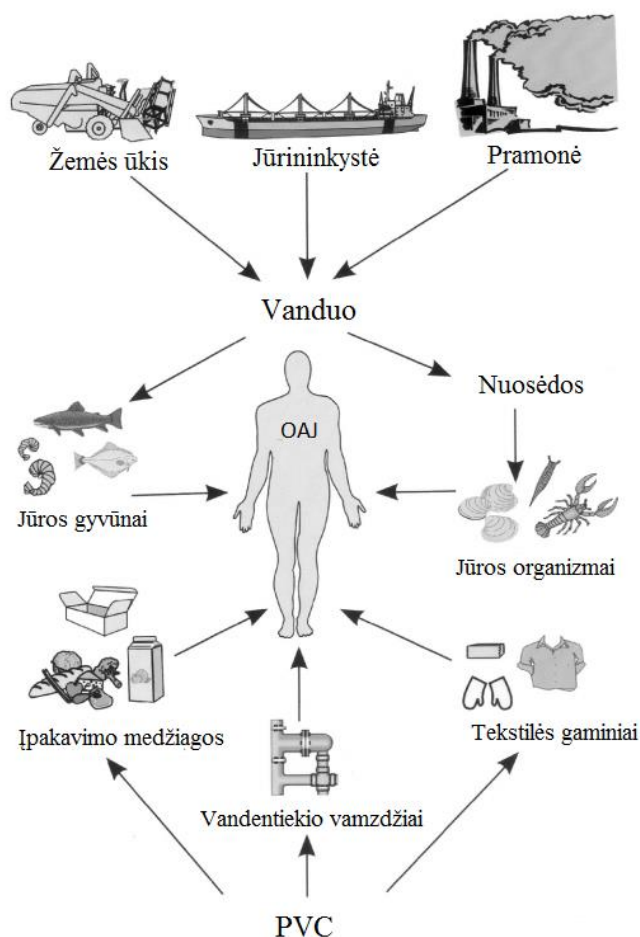
Dideli organinių alavo junginių kiekiai, ypač tributilalavo ir jo skilimo produktų dibutilalavo ir monobutilalavo, ilgus metus, kol buvo naudojami apsauginių dažų gamyboje, o šiuo metu dėl plataus naudojimo PVC gamyboje, kaupėsi ir kaupiasi jūrų gyvūnų, ypač žuvų, sraigų, midijų, austrių, ruonių, delfinų audiniuose, taip pat dugno nuosėdose bei ant augalų [24]. Yra nustatyta, kad jau 10 – 50 ng/l TBT koncentracijos gali sukelti smulkių jūros organizmų mirtį, šiek tiek mažesni kiekiai lemia austrių kiauto suplonėjimą bei formos iškrypimus, augimo sulėtėjimą [41, 42], sraigų ir kitų pilvakočių reprodukcines sistemas pokyčius.

Literatūroje galima rasti duomenų apie atlikus eksperimentus su jūrinėmis sraigėmis *Hydrobia ulvae* [43]. Viena sraigų grupė buvo auginama vandenyje be OAJ, kita – OAJ užterštame vandenyje. Skenuojančiu elektroniniu mikroskopu atliktose nuotraukose (1.4 pav.) yra pastebima, kad moteriškos lyties sraigės, augusios OAJ neužterštame vandenyje, vystėsi normaliai, o moteriškos lyties sraigės, augusios OAJ užterštame vandenyje, pasireiškė pseudohermafroditizmas, t.y. išaugo vyriški dauginimosi organai. Panašus OAJ poveikis buvo nustatytas net 140 skirtingų jūrinių sraigų rūšių. Tokie reprodukcines sistemas pokyčiai sraigų populiacijoje yra laikomi TBT bioindikatoriais [4]. Toks akivaizdus OAJ neigiamas poveikis jūros organizmams kelia didelį susirūpinimą, nes yra reali grėsmė išnykti tam tikroms populiacijoms.



**1.4 pav.** Moteriškos lyties sraigė *Hydrobia ulvae* auginta OAJ neužterštame (kairėje), ir užterštame (dešinėje) vandenyje [44].

OAJ poveikis žmonėms nėra pilnai ištirtas, bet yra pastebėta, kad šios medžiagos dirgina žmogaus odą, akis, virškinimo traktą (dingsta apetitas), gali sukelti galvos ir pilvo skausmus, pykinimą, vėmimą, hiperaktyvumą [24]. Didžiausia rizika apsinuodyti kyla darbuotojams, dirbantiems plastikus gaminančiose įmonėse, kur šie junginiai gali lengvai patekti į žmogaus organizmą per odą kontakto metu ar įkvepiant [45]. Yra ištirta, kad tributil-, trifenil- ir trimetilalavo junginiai priešingai nei neorganiniai alavo junginiai, lengvai rezorbuojasi per odą ir sukelia sunkias intoksikacijas [4]. OAJ į žmogaus organizmą gali patekti per vandenį ir/ar per mitybos grandinę [46]. Tai buvo įrodyta, kai trimetilalavo druskų buvo surasta žmonių, kurie tiesiogiai nesusiduria su OAJ, kraujyje bei šlapime [47].



**1.5 pav.** Organinių alavo junginių panaudojimas bei paplitimas aplinkoje [48].

Dėl neigiamo poveikio aplinkai organiniai alavo junginiai buvo įtraukti į Europos Sąjungos Teršalų emisijos registrą (2000/479/EC) [49] bei Bendrąją vandens politikos direktyvą (2000/60/EB) [50], kaip prioritetinės pavojingos medžiagos. Direktyvos 2000/60/EB tikslas padėti nuosekliai sumažinti išleidžiamų į vandenį pavojingų medžiagų kiekį, panaikinti prioritetines kenksmingąsias medžiagas ir padėti pasiekti, kad šių medžiagų koncentracijos jūrų aplinkoje priartėtų prie foninių verčių.

1982 metais Prancūzija tapo pirmąja šalimi, kurioje buvo uždrausta naudoti TBT neapaugančių dažų, skirtų laivams dažyti, gamyboje. Anglija, Kanada, JAV, Japonija bei kai kurios kitos šalys greitai pasekė šiuo pavyzdžiu. Tarptautinė Jūrų Organizacija 2001 m. priėmė nutarimą, kad nuo 2008 m. visame pasaulyje nebegalima naudoti dažų, kurių sudėtyje yra TBT, ir jau nuo 2003 metų buvo uždrausta tokiais dažais prekiauti ar juos gaminti [51]. Visos Europos sąjungos narės įsipareigojo kontroliuoti OAJ kiekius aplinkoje.

Lietuva būdama ES nare, privalo vykdyti ES teisinius reikalavimus, susijusius su vandenų apsauga, kuriuose labiausiai akcentuojama vandenų taršos pavojingomis medžiagomis kontrolė. 2005 – 2007 metais buvo vykdytas projektas „Vandens aplinkai pavojingų medžiagų nustatymas Lietuvoje“. Projektą vykdė Lietuvos aplinkos apsaugos agentūra, Suomijos aplinkos institutas, Baltijos aplinkos forumas ir Aplinkos apsaugos politikos centras. Tyrimus atliko GALAB laboratorija (Vokietija).

Šio projekto metu pavojingų medžiagų tyrimų rezultatai parodė, kad didžiausią susirūpinimą Lietuvos mastu vandens aplinkai kelia ftalatai ir organiniai alavo junginiai. Šių medžiagų buvo aptikta visose tirtose terpėse, t.y. nuotekose, nuotekų dumble, paviršiniuose vandenyse ir dugno nuosėdose, o jų koncentracijos dažnai viršijo esamas ar numatomas ribines vertes. Pavyzdžiui, didžiausia organinių alavo junginių koncentracija buvo nustatyta Klaipėdos kanale uosto teritorijoje:

- ✓ Malkų įlankos dugno nuosėdose: TBT – 1920 - 2400 µg/l,  
DBT – 11-164 µg/l, MBT – 36,9 - 56,8 µg/l;
- ✓ dugno nuosėdose prie vartų: TBT – 35,8 µg/l, DBT – 3,5 µg/l,

MBT – 1,5 µg/l;

- ✓ paviršiniame vandenyje prie „Klaipėdos kartono“: TBT – 0,011 - 0,012 µg/l, DBT – 0,007 µg/l, MBT – 0,004 - 0,005 µg/l.

TBT koncentracijos čia viršijo DLK - AKS (aplinkos kokybės standartas (AKS), išreikštas didžiausia leidžiama koncentracija (DLK)) (0,0015 µg/l) ir DLK (0,002 µg/l) paviršiniams vandenims, taip pat ir AKS dugno nuosėdoms (0,02 µg/l). Akivaizdu, kad TBT išplaunami iš neapaugančiais dažais dažytų jūrinių laivų korpusų. Projekto pabaigoje Lietuvai buvo rekomenduota įtraukti į aplinkos stebėsenos programą organinius alavo junginius [52].

2010 m. LR aplinkos ministras pasirašė įsakymą Nr. D1 - 416, kuriame nurodoma, kad tributilalavo, oktilalavo ir trifenilalavo junginiai yra įtraukiami į sąrašą pavojingų medžiagų, kurios gali būti išleidžiamos su nuotekomis iš tam tikrų pramonės sektorių Lietuvos teritorijoje (tekstilės pramonės įmonių, drabužių, kailinių dirbinių, guminių ir plastikinių gaminių gamyklų, transporto priemonių ir įrangų gamyklų) ir turi būti kontroliuojamos [53]. Nuo 2010 m. Lietuvos aplinkos apsaugos agentūra vykdydama monitoringo programą stebi TBT kiekius Kuršių mariose bei nuotekose.

2009 – 2012 metais buvo vykdytas antras projektas, kurio metu buvo nustatomi OAJ Lietuvos teritorijoje. Šis projektas buvo pavadintas COHIBA (Control of hazardous substances in the Baltic Sea region - pavojingų medžiagų stebėjimas Baltijos jūroje). Projekte dalyvavo 22 partneriai, tarp jų ir Lietuva [54]. Vykdamas projektą COHIBA, vienerius metus buvo tiriama miesto ar gamybinės nuotekos, užkasamų sąvartynų nutekamieji vandenys (esantys mažiau kaip 50 km atstumu nuo Baltijos jūros) bei liūčių vanduo, siekiant nustatyti ar nuotekų sraute yra pavojingų medžiagų. Pagal Lietuvos Nuotekų tvarkymo reglamentą didžiausia leistina į aplinką išleidžiamo TBT koncentracija neturi viršyti 20 ng/l [53]. COHIBA cheminių tyrimų duomenys parodė, kad pasirinktose Lietuvos nutekamųjų vandenų vietose tributilalavo junginių DLK ribinė vertė nebuvo viršyta.

## 1.2. Organinių alavo junginių nustatymo metodų apžvalga

Organinių alavo junginių poveikis aplinkai bei žmonių sveikatai yra neabejotinai neigiamas, todėl šių junginių kiekiai aplinkoje turi būti stebimi bei kontroliuojami [15, 55]. Literatūros apžvalga parodė, kad per pastaruosius tris dešimtmečius OAJ analizei buvo pritaikyti įvairūs metodai, tačiau visi jie turi ne tik privalumų, bet ir trūkumų. Mokslininkai vis dar ieško pačio optimaliausio OAJ nustatymo būdo, todėl esami metodai yra modifikuojami, tobulinami, o greta to vis dar kuriami nauji.

Nustatant organinius alavo junginius mėginiuose, pirmiausiai yra izoliuojamos (ekstrahuojamos) ir sukoncentruojamos analitės iš mėginio matricos [8]. Šio analizės etapo metu yra galimi dideli analizių praradimai - tai nulemia tyrimo paklaidas, todėl būtina kruopščiai pasiruošti visiems mėginio paruošimo etapams iš anksto [56].

Ypatingą dėmesį reikėtų atkreipti į analizei paimto mėginio saugojimo sąlygas. Literatūroje nėra vyraujančios mėginių saugojimo rekomendacijos, tačiau visi šaltiniai teigia, kad OAJ analizė turi būti atlikta kuo skubiau po mėginio paėmimo. Jei mėginiai negali būti analizuojami greičiau nei per 24 valandas nuo paėmimo, juos būtina saugoti -20 °C temperatūroje [57]. Prieš saugant vandens mėginius, būtina sureguliuoti pH~4.

### 1.2.1. Ekstrakcijos būdai

Analizuojamame vandens mėginyje OAJ koncentracija gali siekti vos kelis nanogramus litre mėginio [58], todėl prieš analizę būtina sukoncentruoti analites [59, 60]. Šiam tikslui yra taikomi įvairūs ekstrakcijos metodai, pavyzdžiui, skysčių – skysčių ekstrakcija (SSE) [61, 62], Soksleto ekstrakcija [63], ekstrakcija superkritiniais skysčiais, skystafazė mikroekstrakcija (SFME), kietafazė ekstrakcija (KFE), kietafazė mikroekstrakcija (KFME) [64, 65].



### 1.2.1.1. Skysčių – skysčių ekstrakcija

Taikant SSE metodą galima nesudėtingai perkelti analites iš įvairių matricų į organinį tirpiklį ir po to tiesiogiai analizuoti dujų chromatografu, tačiau didelis metodo trūkumas yra tas, kad analizuojant OAJ yra pasiekiami palyginus nedideli sukonzentravimo laipsniai (50 – 250) [66]. Kitas SSE metodo trūkumas - ilga jo trukmė, pavyzdžiui, ekstrahuojant analites iš sudėtingų vandeninių terpių reikia atlikti keletą etapų, kol gaunamas švarus ekstraktas. Organiniai alavo junginiai sudėtingose terpėse (augalų ekstraktuose, nuosėdose, jūros vandenyje) dažnai sąveikauja su įvairiomis medžiagomis (karbonatais, chloridais, sulfatais, sulfitais, hidroksidais ir biopolimerais), pasireiškiant įvairioms sąveikoms (jonas-dipolis, dipolis-dipolis sąveika, Van der Valso jėgos, vandeniliniai ryšiai). Šių sąveikų suardymas reikalauja didelių laiko sąnaudų.

SSE yra palyginus brangus metodas, nes ekstrakcijos metu susiformuoja emulsijos, kurios apsunkina dviejų fazių atskyrimą, todėl yra naudojami dideli organinių tirpiklių kiekiai, o tai padidina analizės kainą bei aplinkos taršą [67]. Kaip pavyzdį būtų galima pateikti jau minėtą projektą COHIBA, kuriame dalyvavo Lietuvos aplinkos apsaugos agentūra. Projekto metu OAJ buvo nustatinėjami paviršiniame vandenyje remiantis tarptautiniu norminiu dokumentu (standartu) ISO 17353 [68]. Laikantis sandarto reikalavimų buvo analizuojami jūros vandens mėginiai po 1000 ml. Vieno mėginio analizei buvo sunaudojama ~ 30 ml heksano ir skiriama net iki 100 minučių laiko (ekstrakcija bei derivatizacija natrio tetraetilboratu apie 25 min, organinių fazių atskyrimas bei susidariusios emulsijos suardymas apie 20 min, koncentravimas apie 30 min, ekstrakto analizė, taikant dujų chromatografiją – masių spektrometriją (DCh-MS) apie 20 min.) Papildomai analogiškas kiekis tirpiklio, visų kitų reagentų bei laiko buvo naudojamas tuščio mėginio analizei. 2012 metais Lietuvos aplinkos apsaugos agentūroje pasiekta TBT aptikimo riba buvo 0,3 ng(Sn)/l, santykinis standartinis nuokrypis 17 %, kai n=18 (už TBT analizę 2010 - 2012 metais buvo atsakinga V. Šmitienė). Remiantis šiais

rezultatais, dar 2010 m. buvo suformuluota išvada, kad OAJ analizei taikyti SSE metodą nėra racionalus pasirinkimas, o tai paskatino ieškoti aplinkai draugiškesnių, pigesnių bei greitesnių OAJ analizės būdų.

### 1.2.1.2. Kietafazė ekstrakcija

KFE – tai sukonzentravimo ir atskyrimo nuo matricos būdas, pagrįstas analičių adsorbcija kieto sorbento paviršiuje. KFE turi daugiau privalumų nei SSE, nes yra pasiekiamas didesnis analičių sukonzentravimo laipsnis (gali siekti kelis tūkstančius), analites galima saugoti sorbuotas, analites galima derivatizuoti ant sorbento, analičių perskyrimas yra atrankus, įmanomas KFE kolonėlių ar kasečių sujungimas su mėginio įleidimo į DCh sistemomis. KFE pasižymi mažesne ekstrakcijos trukme bei kaina, taikant šį metodą sunaudojama mažiau tirpiklių nei SSE atveju, ekstrahuojant nesusidaro emulsija [69]. KFE taikant OAJ nustatymui yra pritaikomi įvairūs sorbentai, pavyzdžiui silikagelio sorbentai su chemiškai prijungtomis funkcinėmis grupėmis, tokiomis kaip C18, C8, C2.

J. Munoz'o ir bendraautoriai 2005 m. pritaikė C60 fulerenais užpildytą kolonėlę OAJ analizei vandenyje ir pakrančių nuosėdose. Organiniai alavo junginiai buvo kompleksuojami natrio dietilditiokarbamatu, praleidžiami per C60 fulerenų kolonėlę, tada išplaunami etiloacetatu, turinčiu derivatizacijos reagento natrio tetrapropilborato ( $\text{NaB}(n\text{-Pr})_4$ ) ir analizuojami taikant DCh - MS. Šio metodo aptikimo ribos siekė 0,8 – 1,5 pg/ml, santykiniai standartiniai nuokrypiai buvo 6,2 – 7,4 %, ekstrakcijos trukmė 2 minutės. Metodas pasižymėjo dideliu atrankumu, nes analizei netrukdo tirpale esantys pašaliniai metalai, tokie kaip  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ir kt. [70].

Skysčių – skysčių ir kietafazė ekstrakcija – tai efektyvūs ir tikslūs metodai, tačiau jų taikymas OAJ analizėje nėra itin dažnas dėl palyginus ilgos analizės trukmės bei didelių darbo sąnaudų. Pastaraisiais metais OAJ analizei vis dažniau taikomi kietafazės mikroekstrakcijos ir skystafazės

mikroekstrakcijos metodai. Tai klasikinės skysčių - skysčių bei kietafazės ekstrakcijos “atžalos” – aplinkos bei žmogaus atžvilgiu patys draugiškiausi ekstrakcijos metodai. Didžiausi jų privalumai – paprastumas ir tai, kad yra nereikalingi organiniai tirpikliai arba naudojami labai maži jų kiekiai.

### 1.2.1.3. Kietafazė mikroekstrakcija

KFME yra pagrįsta klasikinės kietafazės ekstrakcijos technika. Taikant KFME vienu metu vyksta analitės ekstrakcija, sukonzentravimas bei atskyrimas nuo matricos, tada vykdomas įvedimas į prietaisą, paprastai dujų chromatografą. Šis metodas remiasi analičių sorbcija ant plono sorbento sluoksnio, kuriuo yra padengtas kvarco strypelis, patalpintas tuščiavidurėje adatoje – tai 1989 metais J. Pawliszyn‘o pasiūlytas metodas [71].

KFME taikant OAJ nustatymui dažniausiai yra naudojami strypeliai padengti 100 µm polidimetilsiloksano dangos sluoksniu (PDMS) [72], galima ekstrahuoti derivatizuotus arba nederivatizuotus OAJ [73]. PDMS strypeliai labiausiai pritaikomi butil- ir fenilalavo junginių nustatymui iš įvairių matricių [74]. M. Manuel’io Bravo paskelbtoje publikacijoje aprašomas eksperimentas, kurio metu grupė mokslininkų atliko KFME taikomų strypelių dangų palyginimą. Eksperimento metu buvo nustatomi dvylika OAJ KFME iš viršerdvės metodu, analizei taikant dujų chromatografiją ir liepsnos fotometrinių detektavimą [75]. Buvo lyginamos trys KFME strypelių dangos: PDMS (100 µm polidimetilsiloksanas), CAR-PDMS (75 µm karboksi-PDMS, pritaikoma metil-, butil-, fenil- ir oktilalavo junginių nustatymui [26]) ir DVB-CAR-PDMS (50/30 µm divinilbenzeno-CAR-PDMS, pritaikoma trimetil- ir dibutilalavo junginių nustatymui [76]). Atlikti tyrimai parodė, kad OAJ nustatymui (ng(Sn)/l eilės) tinkamos visos trys dangos, bet kiek mažesnės aptikimo ribos buvo gautos naudojant CAR-PDMS dangą, nors rezultatai gauti su PDMS danga buvo labai panašūs. Didžiausios aptikimo ribos buvo gautos naudojant DVB-CAR-PDMS dangą [75].

KFME efektyvumas priklauso ne tik nuo strypelio dangos, bet ir nuo mėginio tūrio, dangos sluoksnio storio, desorbcijos sąlygų (trukmės ir temperatūros), ekstrakcijos trukmės bei temperatūros, nuo maišymo, mėginio pH, joninės jėgos, nuo derivatizacijos sąlygų, taip pat nuo mėginyje esančių organinių tirpiklių [77].

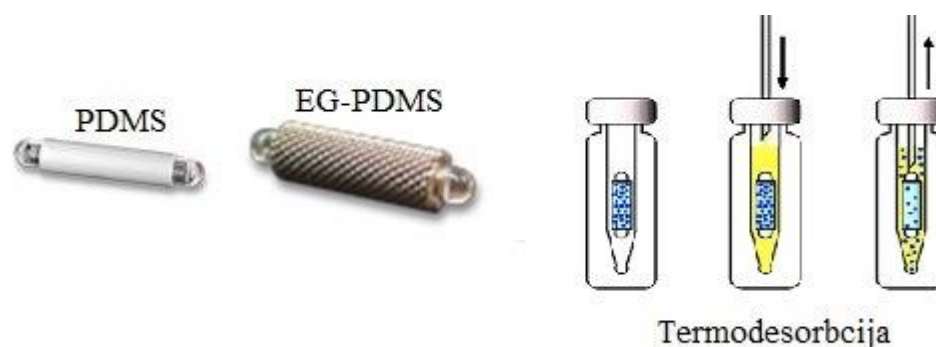
KFME yra paprastas, nebrangus, efektyvus ir greitas metodas, kurio vienas iš didžiausių privalumų – tai automatizavimo galimybė. KFME galima lengvai suderinti su dujų chromatografiniu nustatymu, nes nėra naudojami dujų chromatografinę kolonėlę perkraunantys tirpikliai, analitės chromatografo garintuve desorbuojamos termiškai. Kadangi nėra tirpiklio smailės, palengvėja analičių chromatografinis atskyrimas.

J. Pawliszyn'o paskelbtame straipsnyje aprašoma, kaip vandenyje buvo nustatomi tetraetilalavas ( $\text{Et}_4\text{Sn}$ ) ir tetrabutilalavas ( $\text{Bu}_4\text{Sn}$ ), panaudojant kietafazę mikroekstrakciją iš viršerdvės. Straipsnio autoriai sukurtą metodą pritaikė MBT, DBT ir TBT nustatymui vandenyje bei nuosėdose. Derivatizacijos reagentu buvo pasirinktas natrio tetraetilboratas ( $\text{NaBEt}_4$ ), analizė buvo atliekama dujų chromatografu su liepsnos jonizacijos detektoriumi (FID). Aptikimo ribos:  $\text{Et}_4\text{Sn}$  ir  $\text{Bu}_4\text{Sn}$ , esant pusiausvyros sąlygoms ( $\text{Et}_4\text{Sn}$ : kambario temperatūra, 10 min;  $\text{Bu}_4\text{Sn}$ : 40 °C, 30 min) buvo atitinkamai 28 ir 20 ng(Sn)/l. Aptikimo ribos vandenyje MBT, DBT ir TBT buvo pakankamai didelės - apie 1  $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$ , santykiniai standartiniai nuokrypiai 8,7 – 9,6 % [64]. Reikia pastebėti, kad FID nėra atrankus alavui detektorius, todėl ir rezultatai ne itin geri. Derinant KFME iš viršerdvės su dujų chromatografija bei atrankiais alavui detektoriais, tokiais kaip masių ar tandeminiu masių detektoriumi (MS-MS), galima pasiekti didelį OAJ nustatymo jautrį. Pavyzdžiui, italų mokslininkai tyrė biologinius mėginius ir taikydami KFME iš viršerdvės bei DCh-MS-MS nustatė, kad tributilalavo bei jo skilimo produktų aptikimo riba yra apie 3 ng(Sn)/g, o santykiniai standartiniai nuokrypiai 9,6 – 12,6 % [78].

2012 m. N. Campillo ir bendraautoriai aprašė OAJ nustatymo meduje bei vyne metodą, pagrįstą KFME iš viršerdvės taikymu. Organiniai alavo junginiai

buvo derivatizuojami naudojant natrio tetraetilboratą ( $\text{NaBEt}_4$ ), KFME buvo panaudotas 100  $\mu\text{m}$  PDMS dangos strypelis. Dujų chromatografinė analizė buvo atliekama dviem skirtingais detektoriais: mikrobangų indukuotos plazmos atominiu emisiniu detektoriumi bei masių detektoriumi. Eksperimento rezultatai parodė, kad visiems OAJ didesnis analizės jautris buvo gautas analizuojant MS detektoriumi. Gautos aptikimo ribos 0,3 – 4,3  $\text{pg}(\text{Sn})/\text{g}$  medaus mėginiams ir 0,1 – 2  $\text{pg}(\text{Sn})/\text{g}$  vyno mėginiams. Optimizavus metodą buvo tiriami realūs mėginiai, kai kuriuose vynuose buvo nustatyta 0,05 – 5  $\text{ng}(\text{Sn})/\text{ml}$  [79].

E. Baltussen'as 1997 metais pasiūlė KFME variantą, kuomet naudojamas magnetinio maišiklio strypelis (1 - 4 cm ilgio). Tai į stiklą įvilktas metalinis strypelis, padengtas 0,3 - 1 mm sorbento sluoksniu. Sorbentu gali būti naudojamas polidimetilsiloksanas arba polidimetilsiloksano ir etilenglikolio kopolimeras (EG-PDMS) (1.6 pav.) [58].



**1.6 pav.** KFMEM naudojami magnetinio maišiklio strypeliai su PDMS ir EG-PDMS dangomis. Termodesorbcijos schema.

Ekstrakcija gali būti vykdoma naudojant vieną arba du strypelius (vienodus arba skirtingus). Kietafazės mikroekstrakcijos metodas su magnetinio maišiklio strypeliu (KFMEM) yra labai paprastas bei efektyvus. Atliekant vandeninių (arba dujinių) mėginių analizę magnetinio maišiklio strypelis su PDMS ar EG-PDMS danga yra patalpinamas indo su mėginiu dugne, o indas pastatomas ant magnetinės maišyklės, maišymo metu vyksta ekstrakcija. Po ekstrakcijos strypelis ištraukiamas iš indo, vykdoma terminė analičių desorbcija nuo sorbento tiesiai į dujų arba skysčių chromatografą (1.6

pav.) Šios ekstrakcijos efektyvumas yra itin didelis dėl didelio sorbento dangos sluoksnio kiekio. Trifenil-, tripropil- ir tributilalavo junginiams pritaikius KFMEM buvo gauti itin geri rezultatai: aptikimo ribos visiems OAJ 0,1 pg/l, o santykinis standartinis nuokrypis 12 % (desorbicija vykdyta 15 min 290 °C temperatūroje, analizei taikyta dujų chromatografija su indukuotai sužadintos plazmos masių spektrometriniu detektoriumi (ICP-MS)) [58].

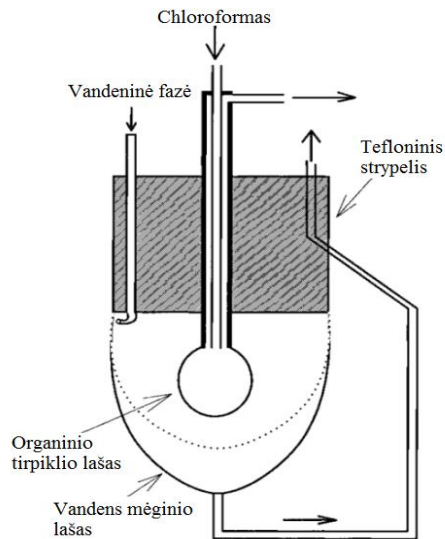
#### **1.2.1.4. Skystafazė mikroekstrakcija**

SFME – tai miniatiūrizuotas klasikinės skysčių - skysčių ekstrakcijos metodas, kai analitės iš vandeninės fazės pereina į nesimaišantį su vandeniu organinį tirpiklį, o tirpiklio kiekis yra vos keli mikrolitrai [80]. Šiuo metu yra ištirti ir vis dažniau taikomi skystafazės mikroekstrakcijos metodai:

1. Mikroekstrakcija tirpiklio lašu.
2. Skystafazė mikroekstrakcija kapiliare.
3. Mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu.
4. Dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija.

##### **1.2.1.4.1. Mikroekstrakcija tirpiklio lašu**

H. Liu ir P. Dasgupta 1996 metais sukūrė miniatiūrizuotą skysčių - skysčių ekstrakcijos variantą, panaudojant vos vieną lašą ekstrahuojančiojo tirpiklio. Autoriai pasiūlė dviejų skysčių sistemą, kuomet didesniame vandeninio mėginio laše buvo patalpintas lašas (~1,3 µl) chloroformo (1.7 pav.), o vandeninio mėginio fazė buvo nuolat atnaujinama [81].



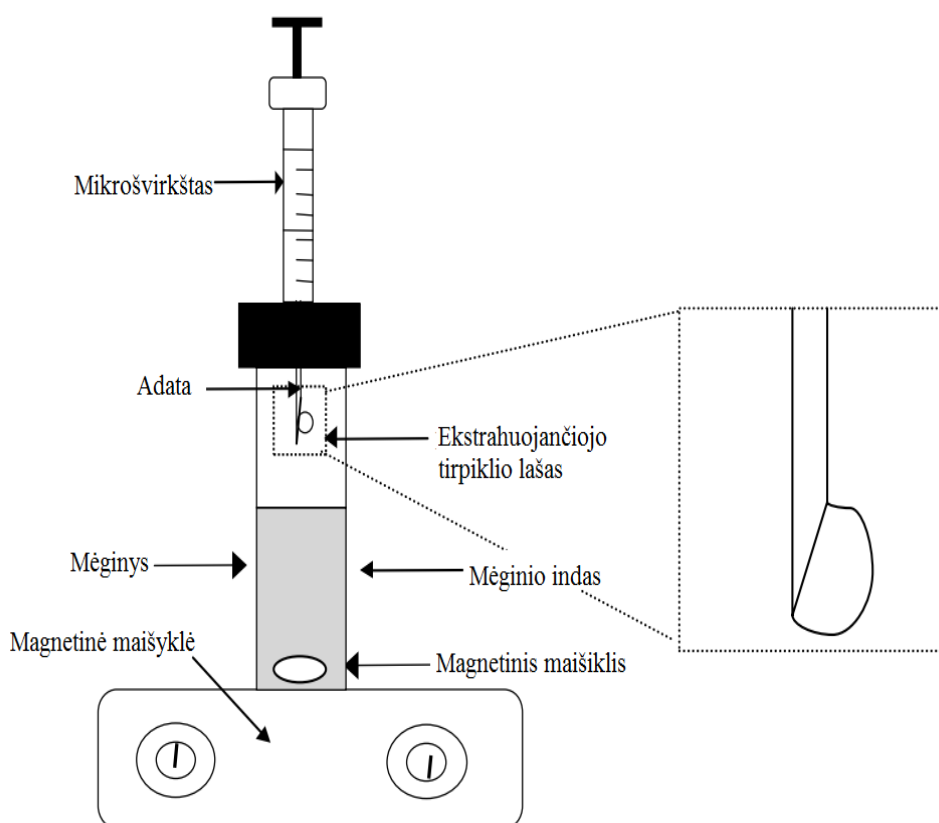
**1.7 pav.** Lašo laše mikroekstrakinė sistema [81].

Tokio proceso metu vyksta analičių ekstrakcija iš vandeninės fazės į nesimaišantį su vandeniu organinio tirpiklio lašą, minėtu atveju chloroformą. Šis ekstrakcijos būdas buvo pavadintas mikroekstrakcija tirpiklio lašu (METL). Metodas turi daug privalumų: jis greitas ir pigus, gali būti automatizuotas, ekstraktui analizuoti galima pritaikyti įvairias analizines sistemas.

M. A. Jeannot ir F. F. Cantwell'as tais pačiais metais sukūrė kiek kitokią mikroekstrakcijos tirpiklio lašu sistemą. Jų eksperimento metu organinio tirpiklio lašas (8  $\mu$ l) buvo patalpintas tefloninio strypelio ildubime, o strypelis pamerktas į maišomą analizuojamojo vandens tirpalą. Po ekstrakcijos strypelis buvo ištrauktas iš tirpalo, o organinio lašo dalis paimta mikrošvirštu ir įleista į dujų chromatografo garintuvą [82].

Atlikus daugiau bandymų buvo suformuluota išvada, kad mikroekstrakcijos metodas, naudojant tefloninį strypelį, nėra patogus. Tie patys autoriai pasiūlė mikroekstrakciją atlikti tiesiog išstūmus organinio tirpiklio lašą į vandeninį tirpalą iš mikrošviršto adatos [83]. Lašo dydis priklauso nuo tirpiklio prigimties, matricos bei METL atlikimo technikos (tiesioginė ekstrakcija iš vandeninio mėginio ar ekstrakcija iš mėginio viršerdvės), įprastai svyruoja nuo 1 iki 3  $\mu$ l [84]. Kartais gali būti naudojami ir didesni lašai, pvz., ištyrus 1-butil-3-metilimidazoloheksafluoro fosfato lašo

dydžio ir ekstrakcijos iš viršerdvės efektyvumo priklausomybę, paaiškėjo, kad didžiausia tributilalavo bei trifenilalavo junginių ekstrakcijos išeiga buvo pasiekta esant 10  $\mu$ l lašo dydžiui [85]. Teisingai parinkus ekstrahentą ir jo tūrį, lašas lieka pakibęs ant mikrošvirkšto adatos galiuko. Mikrošvirkštas yra įtvirtinamas virš analizuojamojo tirpalo ir taip atliekama ekstrakcija (1.8 pav.) Po ekstrakcijos lašas įtraukiamas atgal į mikrošvirkštą ir įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą [83]. Tirpiklio lašas gali būti laikomas viršerdvėje virš mėginio (mikroekstrakcija tirpiklio lašu iš viršerdvės) arba tiesiogiai panardintas į mėginį (tiesioginė mikroekstrakcija tirpiklio lašu) [86].



**1.8 pav.** Mikroekstrakcijos tirpiklio lašu iš viršerdvės schema [87].

METL iš viršerdvės yra patogesnė, negu tiesioginė METL, nes ekstrahento lašas yra stabilesnis, galimi didesni mėginio maišymo greičiai. Šis variantas ypač tinkamas lakioms analitėms, nes lakūs junginiai lengvai pereina į viršerdvę ir yra atrankiai išekstrahuojami.

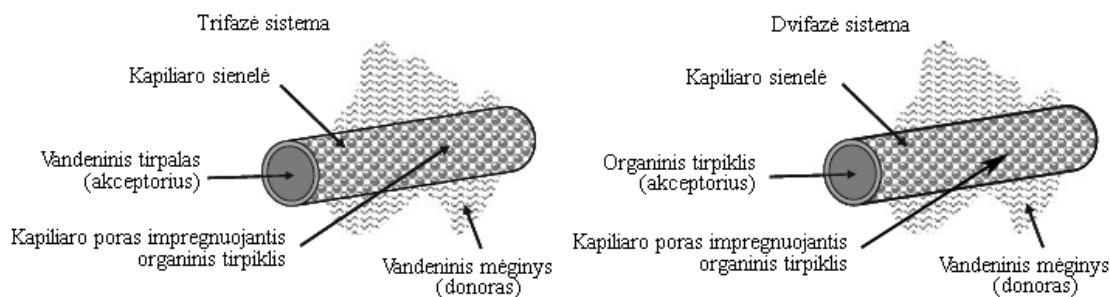


Pagrindinis reikalavimas keliamas mikroekstrakcijai tirpiklio lašu - tiriamos medžiagos turi žymiai geriau tirpti organinėje fazėje nei mėginio fazėje [88]. Be to, tiesioginės METL atveju ekstrakcijai naudojamo tirpiklio lašas turi būti netirpus mėginyje (dažniausiai vandeniniame tirpale). METL yra paprastas, greitas bei pigus metodas, nes jam atlikti reikia tik keleto mikrolitrų tirpiklio bei paprasto mikrošvirkšto [86, 88]. Tinkamai pasirinkus ekstrahentą, gali būti pasiekiamas didelis ekstrakcijos efektyvumas ir gerai sukonzentruojamos analitės. Deja, šį metodą sunku automatizuoti, o darbas su mikrolašu reikalauja didelio kruopštumo.

Mikroekstrakcijos tirpiklio lašu metodą galima pritaikyti ir OAJ analizei. Pavyzdžiui, V. Colombini ir bendraautoriai taikydami METL dekanol lašu ekstrahavo butilalavo junginius [87]. Eksperimentas buvo sėkmingas, nes autoriams pavyko pasiekti 3 ng(Sn)/l butilalavo junginių aptikimo ribą, o eksperimento santykinis standartinis nuokrypis siekė vos 3,6 % (n = 4). Taikant METL OAJ analizei, bet kitokias sąlygas nei V. Colombini darbe (pakeitus tirpiklį, derivatizavimo reagentą, pH) galima gauti ir geresnius rezultatus. Pavyzdžiui, H. Shioji paskelbtoje publikacijoje TBT ir TPhT aptikimo ribos buvo 0,36 ng(Sn)/l (TBT) ir 2,9 ng(Sn)/l (TPhT), o santykinis standartinis nuokrypis 11 % [65].

#### **1.2.1.4.2. Skystafazė mikroekstrakcija kapiliare**

Ši mikroekstrakcijos variantą 1999 metais pasiūlė Norvegijos mokslininkai [89]. Šio metodo esmė yra ta, kad skystas fazes skiria hidrofobinis kapiliaras su porėtomis sienelėmis. Analitė iš vandeninės fazės (donoro) per kapiliaro porose esantį organinį tirpiklį difunduoja į kitą tirpalą (akceptorį), esantį kapiliaro viduje. Ekstraktas mikrošvirkštu paimamas iš kapiliaro ir leidžiamas į dujų chromatografo garintuvą. Išskiriami du mikroekstrakcijos kapiliare būdai – dviejų fazių ir trijų fazių (1.9 pav.) [90].



**1.9 pav.** Skysčių - skysčių mikroekstrakcijos kapiliare būdai [84].

Dviejų fazių mikroekstrakcijos kapiliare variante analitė yra ekstrahuojama iš vandeninės mėginio fazės per vandenyje netirpų tirpiklį, imobilizuotą tuščiavidurio kapiliaro sienelių porose, į tokį patį organinį tirpiklį, esantį kapiliaro viduje.

Trifazėje sistemoje analitė iš vandeninės mėginio fazės per kapiliaro porose esantį organinį tirpiklį difunduoja į kitą vandeninį tirpalą, esantį kapiliaro viduje. Šiuo atveju organinė fazė tarnauja barjeru tarp vandeninių fazių neleidžia joms susimaišyti.

Kapiliarai turi būti suderinami su organiniais tirpikliais. Beveik visada naudojami polipropileno kapiliarai. Vidinis jų skersmuo yra apie 600  $\mu\text{m}$ , sienelių storis apie 200  $\mu\text{m}$ , vidutinis kapiliaro sienelių porų dydis 0,2 - 0,64  $\mu\text{m}$  [84].

Atliekant konkrečių analičių ekstrakciją, išbandoma keletas įvairaus poliškumo su vandeniu nesimaišančių organinių tirpiklių arba jų mišinių. Tiek dvifazėse, tiek trifazėse sistemose naudojami tirpikliai turi būti lengvai imobilizuojami į polipropileno kapiliaro sieneles. Galutinai tirpiklis parenkamas atsižvelgiant į tirpiklio tirpumą vandenyje ir lakumą. Pageidautina, kad tiek tirpiklio tirpumas vandenyje, tiek tirpiklio lakumas būtų kuo mažesni.

Maišymas greitina ekstrakciją. Atliekant mikroekstrakciją kapiliare, galimi dideli maišymo greičiai, nes organinis tirpiklis imobilizuotas. Maišymui galima naudoti magnetinius maišiklius, vibraciją. Kai maišoma magnetiniu

maišikliu, svarbu, kad nesusidarytų oro burbulų, kurie kimba prie kapiliaro sienelių ir todėl lengviau nugaruoja sienelėse impregnuotas organinis tirpiklis.

Trifazėje sistemoje ypač svarbus parametras yra donoro ir akceptoriaus pH, pavyzdžiui, analizuojant rūgštines analites, donoro tirpalas turėtų būti rūgštinis, tada analitės būtų dejonizuotos ir lengvai pereitų į organinę fazę. Akceptoriaus tirpalas turėtų būti bazinis, tada analitės iš kapiliaro sienelėse esančios organinės fazės lengvai pereitų į akceptorių.

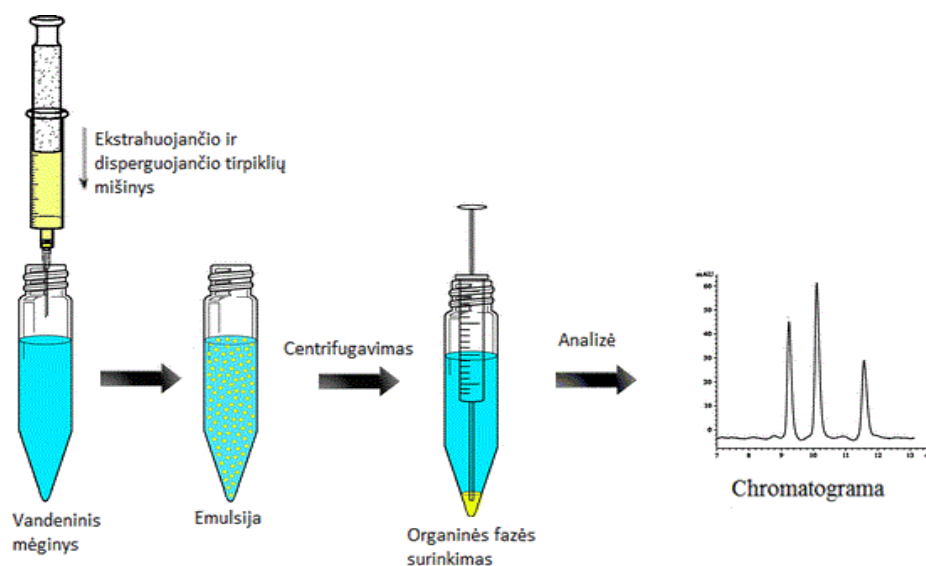
Nustatymo jautris didėja, mažinant akceptoriaus/donoro tūrių santykį. Bet akceptoriaus tūris turi būti tinkamas tai technikai, kuria vėliau bus analizuojama. Į dujų chromatografą paprastai neleidžiama daugiau nei 1 – 2 µl tirpalo, todėl nėra prasmės naudoti daug didesnių akceptoriaus tūrių.

Mikroekstrakcija kapiliare – paprastas ir pigus ekstrakcijos būdas. Kapiliarai naudojami tik vieną kartą, todėl nereikia jų regeneruoti. Šiuo metodu galima atrankiai ekstrahuoti analites iš sudėtingų matricių.

Organinių alavo junginių nustatymo galimybės, taikant mikroekstrakcijos kapiliare metodą, nėra ištirtos.

#### **1.2.1.4.3. Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija**

Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija yra paprastas, greitas bei nebrangus miniatiūrizuotas skysčių - skysčių ekstrakcijos metodas, kuris pirmą kartą buvo pasiūlytas 2006 metais [69]. Šis ekstrakcijos metodas remiasi trikomponente tirpiklių sistema. Ekstrahuojant šiuo metodu, į analizuojamą vandeninį tirpalą greitai išvirkščiamas organinio už vandenį sunkesnio ekstrahento ir disperguojančio tirpiklio mišinys. Disperguojantis tirpiklis turi gerai tirpinti organinį tirpiklį ir pats būti tirpus vandenyje. Ekstrahuojantis tirpiklis turi gerai ekstrahuoti analites ir blogai tirpti vandenyje bei nekenkti chromatografinėi kolonėlei. Didele jėga išvirkštus šį mišinį į vandeninę terpę, gaunama emulsija, sudaryta iš smulkių tirpiklio lašelių, disperguotų vandeninėje fazėje. Mišinys centrifuguojamas, organinis tirpiklis su analitėmis nusėda ekstrakcinio indo dugne (1.10 pav.) [69].



**1.10 pav.** DSSME atlikimo schema [91].

Ekstraktas paimamas mikrošvirštu ir įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą. Ekstrakcija vyksta labai greitai, nes organinės ir vandeninės fazių paviršiaus sąlyčio plotas yra labai didelis, gaunami dideli analičių sukongravimo laipsniai. Pvz., DSSME ir DCh-FID buvo pritaikyta policiklinių aromatinių angliavandenilių analizei vandens mėginiuose, disperguojančiu tirpikliu naudojant acetoną (1 ml), ekstrahuojančiu tirpikliu tetrachloretileną (8  $\mu$ l), analizuojant vandens mėginius po 5ml gauti dideli analičių sukongravimo laipsniai (603 – 1113), mažos aptikimo ribos (0,007 – 0,03  $\mu$ l/l), santykiniai standartiniai nuokrypiai 10 % (2  $\mu$ l/l standartinių tirpalų) [92]. Pagrindinis DSSME privalumas yra jos greitis. Ekstrahentas pasiskirsto smulkių lašelių pavidalu visame mėginio tūryje, todėl ekstrahento ir mėginio sąlyčio paviršiaus plotas yra labai didelis ir ekstrakcija įvyksta praktiškai akimirksniu. Deja, pradinis DSSME variantas turi ir vieną esminį apribojimą – norint nusodinti ekstraktą centrifuginio mėgintuvėlio dugne, ekstrahentas turi būti sunkesnis už vandenį. Šį reikalavimą tenkina tik nedaugelis organinių tirpiklių, įprastai - tai toksiški halogeninti organiniai junginiai.

Dispersinės skysčių - skysčių mikroekstrakcijos efektyvumas labiausiai priklauso nuo ekstrahuojančio ir disperguojančio tirpiklių prigimties bei tūrių.

Ekstrahuojantis tirpiklis turi:

- didesnį už vandens tankį;
- gerai ekstrahuoti analites;
- blogai tirpti vandenyje;
- gerai tirpti disperguojančiame tirpiklyje, o mišinį įleidus į vandeninį tirpalą, suformuoti stabilią dviejų fazių sistemą.

Šiuos reikalavimus atitinka ir dažniausiai DSSME ekstrahentais naudojami chlorbenzenas, anglies tetrachloridas, chloroformas, tetrachloretilenas.

Disperguojantis tirpiklis turi:

- gerai maišytis su ekstrahuojančiu tirpikliu;
- gerai maišytis su vandeniu.

Šiuos reikalavimus atitinka ir dažniausiai DSSME disperguojančiais tirpikliais naudojami metanolis, etanolis, acetonitrilas, acetonas, tetrahidrofuranas.

Ekstrahuojančio ir disperguojančio tirpiklių tūriai lemia susidariusios emulsijos stabilumą ir lašelių dydį. Kuo lašeliai smulkesni, tuo fazių sąlyčio paviršius yra didesnis, tuo greičiau vyksta ekstrakcija. Didinant ekstrahuojančio tirpiklio tūrį, didėja ekstrakto tūris, kuris nusėda mėgintuvėlio dugne po centrifugavimo. Tokiu būdu mažėja analičių koncentracija ekstrakte, analičių sukongravimo laipsnis ir nustatymo jautris. Optimalus ekstrahuojančio tirpiklio tūris turi būti toks, kad analičių sukongravimo laipsnis būtų kuo didesnis, o ekstrakto tūrio po centrifugavimo užtektų tolimesniam nustatymui [93].

Ekstrakcijos trukmė – tai laiko tarpas nuo disperguojančio ir ekstrahuojančio tirpiklių mišinio įleidimo į vandeninį analizuojamąjį tirpalą iki centrifugavimo. Paviršiaus plotas tarp organinės ir vandeninės fazių yra labai didelis, ekstrakcija įvyksta praktiškai akimirksniu, todėl ekstrakcijos trukmė ekstrakcijos efektyvumui reikšmingos įtakos neturi.

Tirpale esančios druskos ir jų koncentracija, priklausomai nuo analitės prigimties, gali ekstrakcijos efektyvumą padidinti arba sumažinti, taip pat gali neturėti reikšmingos įtakos.

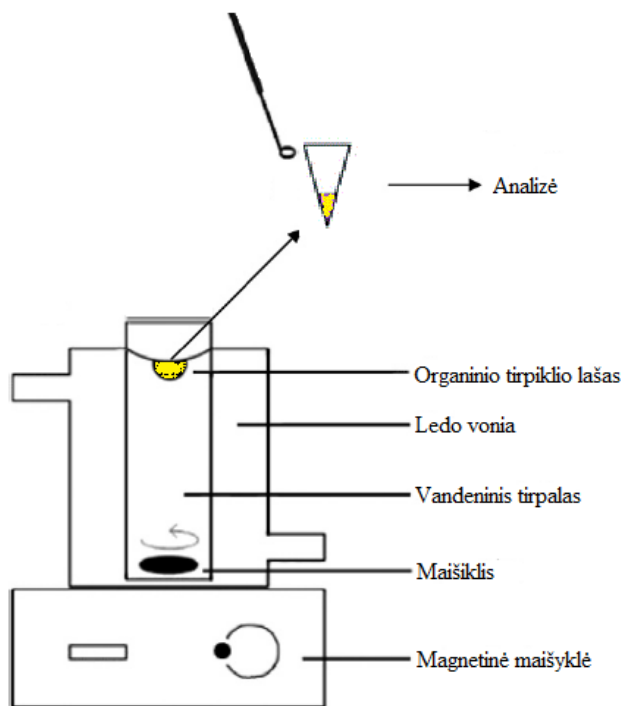
Publikacijų, aprašančių OAJ nustatymą, kai yra taikoma DSSME bei DCh nustatymas, yra vos keletas. Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija ir dujų chromatografija suderinta su liepsnos fotometriniu detektavimu (DCh-FPD) buvo pritaikyta nustatant butil- ir fenilalavo junginius vandeniniuose mėginiuose po derivatizacijos natrio tetraetilboratu. Disperguojančiu tirpikliu buvo pasirinktas etanolis (42,5  $\mu$ l), ekstrahuojančiu tetrachlormetanas (7,5  $\mu$ l), ekstrakcijos trukmė – 5 s, derivatizacijos trukmė – 5 min. Eksperimento metu buvo pasiekti dideli sukonzentravimo laipsniai (825 – 1036) ir mažos aptikimo ribos (0,2 – 1 ng(Sn)/l), santykiniai standartiniai nuokrypiai ekstrahuojant 20 ng(Sn)/l butil- ir fenilalavo junginius buvo atitinkamai 2,3 – 5,9 % (n = 7) ir 4,1 – 8,8 % (n = 7) [94].

#### **1.2.1.4.4. Mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu**

Tai mikroekstrakcijos metodas, pagrįstas tuo, kad yra naudojamas ekstrahuojantis tirpiklis, kurio lydymosi temperatūra yra artima kambario temperatūrai (10 – 30 °C) [95]. Taikant mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu (MEŠTL) metodą nedidelis kiekis ekstrahuojančio tirpiklio yra įleidžiamas į tiriamąjį vandeninį tirpalą ir tirpalas nustatytą laiką maišomas, vyksta ekstrakcija. Po ekstrakcijos indas su mėginiu yra perkeliamas į ledo vonią. Kai mėginys atvėsta iki šiek tiek žemesnės temperatūros nei ekstrahuojančio tirpiklio lydymosi temperatūra, ekstraktas su analitėmis užšąla. Užšalęs ekstraktas atskiriamas nuo vandeninės terpės ir palaikomas kambario temperatūroje. Ekstrakto lašas greitai išsilydo ir analitės nustatomos pasirinktu analizės metodu (1.11 pav.) [96].

Šio metodo efektyvumui įtakos turi keletas veiksnių: ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis ir kiekis, analizuojamo tirpalo temperatūra ir pH,

ekstrakcijos trukmė, maišymosi greitis bei druskų koncentracija tirpale [97, 98].

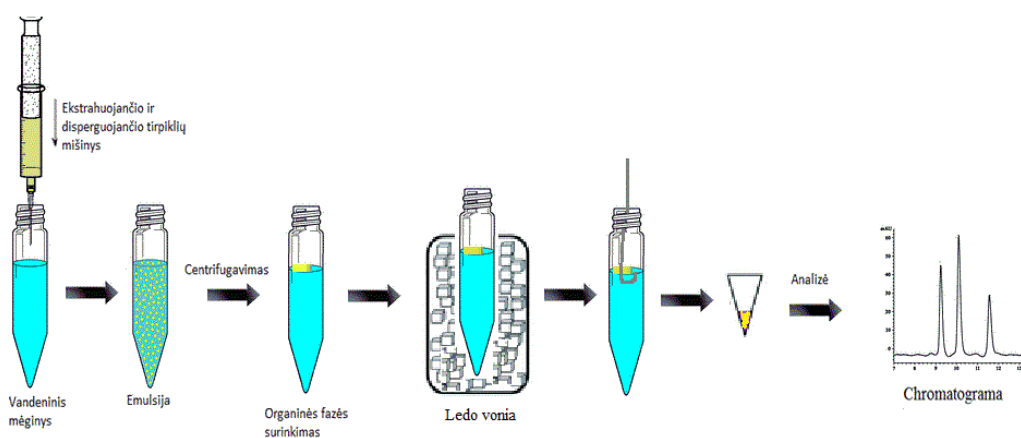


**1.11 pav.** Mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu atlikimo schema [99].

MEŠTL privalumai: paprastumas, būdingas aukštas analičių sukongravavimo laipsnis, sunaudojami nedideli organinio tirpiklio kiekiai (keletas  $\mu\text{l}$ ), naudojami ekstrahentai yra mažai lakūs, netoksiški. MEŠTL trūkumai: ilga ekstrakcijos trukmė (30 – 60 min), pritaikomas tik lipofilinėms analitėms nustatyti, netinkamas hidrofilinių junginių nustatymui, analizuojant sudėtingesnes matricas būtina prieš analizę mėginį išvalyti [100].

2008 m. Leong ir Huang pasiūlė šiek tiek kitokį MEŠTL variantą – į indą su mėginiu įleisti ekstrahuojančio bei disperguojančio tirpiklių mišinį, t.y. atlikti mikroekstrakciją užšaldomu tirpiklio lašu su dispersija (DSSME-ŠTL) (1.12 pav.) Šis metodas yra pranašesnis už paprastą MEŠTL dėl gerokai trumpesnės ekstrakcijos trukmės, nes disperguojančiojo tirpiklio dėka, padidėja sąlyčio plotas tarp mėginio ir ekstrahuojančiojo tirpiklio, todėl analičių perėjimas iš mėginio fazės į organinį tirpiklį įvyksta praktiškai akimirksniu.

Organinių alavo junginių nustatymo galimybės, taikant MEŠTL bei DSSME-ŠTL metodus, nėra ištirtos.



**1.12 pav.** Mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu su dispersija.

### 1.2.2. Organinių alavo junginių analizės metodai

Aplinkos mėginiuose bendras alavo kiekis gali būti nustatomas alavo (IV) oksido pavidalu. Tokiu atveju OAJ yra pilnai suskaidomi veikiant koncentruota sieros rūgštimi, su nedideliu kiekiu koncentruotos azoto rūgšties, bei iškaitinami iki  $\text{SnO}_2$ .

Azoto rūgštyje ištirpintus OAJ galima analizuoti fotometriškai, o redukuotus iki Sn (II) - titrimetriškai. Mažos alavo koncentracijos gali būti nustatomos spektrofotometriniais metodais, panaudojant tokius reagentus kaip kakotelinai, ditioliai, fenilfluoronas ir kt. Tačiau dauguma šių reagentų pasižymi mažu jautriu (alavo aptikimo ribos 0,02 - 10 mg/l) bei mažu atrankumu, tad jų panaudojimas reikalauja papildomų ekstrakcijos ir atskyrimo procedūrų.

Alavo nustatymui galima pritaikyti atominės absorbcijos spektrometriją (AAS), panaudojant įvairius liepsnos tipus. Šis metodas yra atrankesnis, tačiau nepasižymi dideliu jautriu, todėl prieš analizę analites reikia atskirti nuo matricos bei sukcentruoti. Taikant induktyviai sužadintos plazmos-atominės emisijos spektrinę analizę aptikimo riba yra sumažinama iki 0,05 – 25  $\mu\text{g/l}$ .



Kitos technikos, tokios kaip grafitinės kiuvetės AAS, masių spektrometrija, Rentgeno spindulių fluorescencija bei poliarografija irgi gali būti panaudotos alavo analizei.

Dažnai nepakanka nustatyti bendrą alavo kiekį aplinkoje. Reikia žinoti konkrečių OAJ kiekį, nes jų toksiškumas skiriasi. Pirmieji konkrečių OAJ nustatymo būdai buvo paremti fotometriniiais metodais. Po ekstrakcijos atitinkamais tirpikliais trialkil-, dialkil- ir diarilalavo junginiai buvo kompleksuojami su ditizonu, difenilkarbazonu ar kitais reagentais ir analizuojami fotometriškai (aptikimo ribos ~1 mg/l). Fluorimetrinių bei poliarografinių metodų pritaikymas leido sumažinti aptikimo ribą iki 1 µg/l. Pvz., trifenilalavo junginiai, išekstrahuoti su benzeno iš bulvių, buvo tirti spektrofluorimetriškai po kompleksavimo su hidroksiflavonu (aptikimo riba 4 µg/l). Morinas (2',3',4',5,7-pentahidroksiflavonas) buvo panaudotas kaip fluorescuojantis reagentas nustatant OAJ (ypač dialkilalavo) vandenyje bei žiurkių audiniuose po ekstrakcijos atitinkamais tirpikliais. Tačiau šių metodų atrankumas bei jautris buvo per maži ir organinių alavo junginių koncentracija natūraliuose vandens telkiniuose negalėjo būti nustatyta ng/l ar dar mažesnės eilės.

Dažniausiai OAJ nustatymui yra taikoma dujų chromatografija, skysčių chromatografija (SCh) arba superkritinių skysčių chromatografija (SSCh) [\[101, 102\]](#), suderinus kartu su alavui atrankiomis detektavimo sistemomis – liepsnos fotometriniu detektoriumi, masių, atominės absorbcijos spektrometriniu, atominės emisijos detektoriumi, indukuotai sužadintos plazmos masių spektrometriniu [\[103-106\]](#).

Dujų chromatografija yra plačiausiai taikomas analičių atskyrimo metodas dėl didelės skiriamosios gebos, plataus jautrių ir atrankių detektorių pasirinkimo (pvz., atominės absorbcijos spektrometrijos, liepsnos fotometrijos, masių spektrometrijos detektoriai ir kt.) bei sugebėjimo vienos analizės metu atskirti įvairias organinių alavo junginių formas.

Organiniais alavo junginiais užterštų mėginių paruošimas analizei yra sudėtingas bei ilgai trunkantis procesas [\[56\]](#). OAJ realiuose mėginiuose

egzistuoja katijono forma (priklausomai nuo terpės pH, esant itin šarminei aplinkai, OAJ egzistuoja hidroksidų pavidalu, o neutralioje ar rūgščioje aplinkoje – katijonų), todėl viena iš pagrindinių OAJ mėginių paruošimo analizei stadijų yra derivatizacija – tai joninės junginio formos atskyrimas nuo mėginio matricos ir pavertimas pilnai alkilinta lakesne jų forma – derivatais (lot. *derivatus*– išvestas) [32, 106, 107]. Dažniausiai taikomi ir labiausiai ištirti yra šie OAJ derivatizavimo būdai: hidrinimas natrio borhidridu ( $\text{NaBH}_4$ ), alkilinimas Grignard'o reagentais arba alkilinimas tetraalkilboratais [105, 108].

### 1.2.3. Organinių alavo junginių derivatizavimo metodai

#### 1.2.3.1. Derivatizacija naudojant $\text{NaBH}_4$

Atliekant OAJ analizę vandeniniuose tirpaluose, galima taikyti derivatizaciją vandeniniu natrio borhidridu ( $\text{NaBH}_4$ ), t.y. nelakių organinių alavo junginių redukcija, susidarant lakiems organiniams alavo hidridams [15]. Šis metodas buvo pasiūlytas dar 1970 metais [109].



R = organinis pakaitas, n = 1, 2, 3.

Priklausomai nuo mėginio matricos bei nustatomo OAJ yra atitinkamai parenkamos hidrinimo reakcijos sąlygos [108]. Reakcijos pH: šiam OAJ derivatizacijos metodui ypatingai svarbu tinkamai parinkta pH vertė, ji turi būti keliais vienetais mažesnė už tiriamojo junginio  $\text{pK}_a$  [15]. pH vertei reguliuoti dažniausiai naudojama acto arba azoto rūgštis. Yra pastebėta, kad naudojant acto rūgštį (0,05 - 1 mol/l) gaunama didesnė OAJ hidridų išeiga, nei naudojant kitą rūgštį. Hidrinimas vyksta esant rūgščiai terpei. Deguonies pašalinimas: prieš leidžiant reduktoriaus tirpalą ( $\text{NaBH}_4$ ) į mėginį, būtina iš mėginio pašalinti deguonį (ir kitus lakius junginius), tam naudojamas inertinių dujų srautas, pavyzdžiui, helio.

OAJ redukcijos eiga: parenkama ir sureguliuojama reakcijos pH, apskaičiuojama reikalinga reduktoriaus koncentracija, paruošiami tirpalai, iš mėginio pašalinamas deguonis, leidžiamas reduktoriaus tirpalas, susidarę hidridai po reakcijos pašalinami iš tirpalo inertinių dujų srautu ir naudojant skystą azotą kriogeniškai sugaudomi į U-formos vamzdelį, užpildytą atitinkamu sorbentu [15]. Keliant temperatūrą, hidridai yra atskiriami ir nustatomi, panaudojant įvairius detektorius, pavyzdžiui, AAS (aptikimo riba 0,75 ng(Sn)/l), FPD (aptikimo riba 0,3 ng(Sn)/l) ir kt. Aukštas virimo temperatūros turintys organiniai alavo hidridai, tokie kaip difenilalavo dihidridas ( $\text{Ph}_2\text{SnH}_2$ ,  $T_{\text{vir.}} 250\text{ }^\circ\text{C}$ ) ar tributilalavo hidridas ( $\text{Bu}_3\text{SnH}$ ,  $T_{\text{vir.}} 280\text{ }^\circ\text{C}$ ) yra ekstrahuojami organiniais tirpikliais (pvz., dichlormetanu) ir analizuojami (pvz., DCh-FID) [110].

Hidrinimo reakcijos metu gaunami dideli sukonzentravimo laipsniai, gerai atskiriamos analitės nuo trukdančios matricos, metodas yra jautrus, bet nėra labai plačiai taikomas, nes turi daugiau trūkumų nei privalumų. Pavyzdžiui, reagentai yra nestabilūs (turi būti ruošiami tik prieš pat naudojimą) ir labai lakūs, todėl galimi analičių praradimai bei gali būti netiksliai įvertintos analizuojamųjų junginių koncentracijos [111]. Taip pat svarbu tai, kad šiuo būdu galima nustatyti ribotą junginių skaičių, mat  $\text{NaBH}_4$  sąveikaudamas su aukštos virimo temperatūros OAJ, nesudaro lakių produktų. Taip pat svarbu tai, kad susidarę hidridai yra nestabilūs, o kai mėginio matrica yra ne vanduo, vyksta pašalinės reakcijos [109]. Pavyzdžiui, analizuojant sudėtingas matricas tokias kaip dugno nuosėdos ar biota, formuojasi alavo boridai. Šie boridai yra linkę reaguoti su organiniais alavo hidridais, reakcijos metu yra nutraukiamas Sn-H ryšys. Kai kurių pašalinių reakcijų galima išvengti į reakcijos terpę pridėjus tokių priedų kaip EDTA, KI, L-cisteiną, arba askorbo rūgšties [108].

### 1.2.3.2. Alkilinimas Grignard'o reagentais

Organinių alavo junginių derivatizavimui dažnai taikomas alkilnimas panaudojant organinius magnio junginius - Grignard'o reagentus (bendra formulė yra  $R'MgX$ , kur  $R'$  – organinis pakaitas,  $X$  – halogeno atomas).

Alkilnimo reakcija:



$R$  – organinis pakaitas,  $n = 1, 2, 3$ .

Grignard'o reagentai audringai reaguoja su vandeniu, rūgštimis, alkoholiais, ketonais ir kitomis medžiagomis, kurios turi bent vieną vandenilį, prisijungusį prie elektroneigiamo atomo (pvz., deguonies, azoto ar sieros). Derivatizacijos procesas su šiais reagentais yra sudėtingas, ilgai trunkantis ir reikalaujantis ypatingo atidumo. Reakcijos su Grignard'o reagentais yra vykdomos tik aprotoniniuose tirpikliuose [\[106, 109\]](#).

OAJ derivatizacijos Grignardo'o reagentais etapai:

1. Tirpalo parūgštinimas (HCl arba HBr). Šio etapo metu OAJ pereina į tinkamą ekstrakcijai organiniu tirpikliu formą, ištirpsta mėginyje esančios kietos medžiagos.
2. Ekstrakcija organiniu tirpikliu, pvz., benzenu, toluenu, dietilo eteriu, heksanu. Galima naudoti dichlormetaną arba chloroformą, tačiau prieš derivatizaciją juos reikia išgarinti ir pakeisti kitu tirpikliu. Organiniai alavo junginiai, kurie turi trumpus organinius pakaitus, pasižymi dideliu tirpumu vandenyje. Norint išekstrahuoti tokius OAJ, į vandens mėginį reikia pridėti druskos, pvz., natrio chlorido, o į tirpiklį kompleksuojančio reagento, pvz., tropolono (2-hidroksi-2,4,6-cikloheptatrien-1-ono) ar dietilditiokarbamato.
3. Derivatizacija. Dažniausiai OAJ derivatizavimui (alkilnimumi) yra naudojama  $EtMgCl$  (2 mol/l) tetrahidrofurane arba  $PrMgBr$  (1-2 mol/l) dietiloeteryje. Šios reakcijos metu joniniai mono-, di- ir trialkilalavo

junginiai paverčiami nepoliniais tetrapakeistais alavo junginiais ( $R_nSnR_{(4-n)}$ ) [108].

4. Ekstrakto valymas ir sukonzentravimas. Pridedant vandens ar praskiestos rūgšties iš tirpalo yra pašalinamas Grignard'o reagento perteklius, o gautas ekstraktas išdžiovinamas ir išvalomas (panaudojus aliuminio oksido, silikagelio ar Sep-Pak C18 kolonėles) bei sukonzentruojamas.

5. Analizė.

Derivatizacijos efektyvumas beveik nepriklauso nuo trukmės, temperatūros ar reakcijos indo purtymo. Atliekant vandens mėginių analizę, derivatizacija Grignard'o reagentais vyksta akimirksniu kambario temperatūroje, tačiau analizuojant sudėtingas matricas, reikalinga aukštesnė temperatūra bei ilgesnė reakcijos trukmė.

Svarbiausias veiksnys, nuo kurio priklauso reakcijos išeiga - Grignard'o reagento prigimtis bei koncentracija. Literatūros apžvalga parodė, kad OAJ išeiga iš mėginių yra didesnė, jei jie gauti po alkilinio Grignard'o reagentais, turinčiais trumpesnes alkilgrupes, tačiau stabilesni OAJ buvo gauti, po alkilinio Grignard'o reagentais, su ilgesnėmis alkilgrupėmis.

Eksperimentiškai buvo įrodyta, kad nuo Grignard'o reagento prigimties mažiau lakių OAJ (trifenilalavo (TPhT), difenilalavo (DPhT)) išeiga nepriklauso, o lakesnių OAJ (MBT, DBT) išeiga mažėja, mažėjant Grignard'o reagento alkilgrupės ilgiui [112]. Atlikus bandymą, kurio metu OAJ analizė vykdyta tomis pačiomis sąlygomis, bet mėginį sukonzentravus iki didesnio tūrio (1 ml vietoj 0,3 ml), buvo gautos didesnės OAJ išeigos, išskyrus OAJ metilinio reakciją. Šis tyrimas įrodė, kad OAJ išeigai didelę reikšmę turi lakių OAJ praradimas sukonzentravimo stadijos metu.

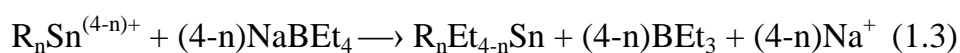
Metodo privalumai: gaunamos aukštos derivatizacijos išeigos ir geras rezultatų pasikartojamumas [109].

Metodo trūkumai: didelė mėginio užteršimo, skilimo ir praradimo tikimybė [108, 110, 113].

### 1.2.3.3. Derivatizacija tetraalkilboratais

Literatūros apžvalga parodė, kad iš visų OAJ derivatizacijos metodų pats populiariausias yra alkilinimas tetraalkilboratais, pirmą kartą pasiūlytas dar 1986 metais [108]. Pagrindiniai šio metodo privalumai - tai gerai pasikartojantys analizės rezultatai, maža matricos komponentų įtaka reakcijos eigai. Derivatizacija bei ekstrakcija vyksta tuo pačiu laiku, todėl analizės trukmė ženkliai sumažėja [114, 115]. Tačiau buvo nustatyta, jog tos pačios homologinės eilės OAJ gali virsti vieni kitais, vykstant jų skilimui aplinkoje, o derivatizacijos metu vykstančios cheminės reakcijos bei aukšta temperatūra DCh analizės metu gali pakeisti santykinis OAJ kiekius mėginyje ir iškreipti analizės rezultatus. Siekiant išvengti minėtų metodo trūkumo, analizė gali būti vykdoma panaudojant SCh bei SSCh metodus [116].

Alkilinimas yra nukleofilinio pakeitimo reakcija. Jos išeiga priklauso nuo alkilgrupių prie alavo atomo prigimties ir skaičiaus. Alkilinimo reakcija:



R – organinis pakaitas, n = 1,2,3.

Šios reakcijos efektyvumas labiausiai priklauso nuo pH, derivatizacijos reagento koncentracijos bei bendros reakcijos trukmės. Nustatyta, jog optimali alkilino pH vertė yra intervale nuo 4 iki 6. Pavyzdžiui, vykdant reakciją tarp butilalavo organinių junginių ir derivatizacijos reagento BrMgBPr<sub>4</sub>, optimalus pH yra 5. Labai panašūs rezultatai buvo gauti etilinant butil- ir fenilalavo junginius NaBEt<sub>4</sub>. Šiuo atveju geriausi rezultatai buvo gauti, kai pH vertė buvo 4,8 [117, 118]. Taip pat yra nustatyta, kad esant itin žemom pH vertėm yra stebimas alavo hidridų susidarymas dėl NaBEt<sub>4</sub> skilimo iki NaBH<sub>4</sub>.

Derivatizacijos reagento kiekis, reikalingas OAJ alkilinimui, priklauso nuo mėginio paruošimo. Jei derivatizacijos reakcija vykdoma tiesiogiai mėginiuose, dalis derivatizacijos reagento yra prarandama pašalinėse reakcijose su matricos komponentais [108], todėl pradinis derivatizacijos

reagento kiekis turėtų būti didesnis. Tuo tarpu prieš derivatizaciją atlikus OAJ ekstrakciją iš matricos, užtenka ir mažesnio derivatizacijos reagento kiekio. Derivatizacijai dažniausiai naudojami alkilboratai:  $\text{NaBEt}_4$ ,  $\text{NaBPr}_4$ ,  $\text{BrMgBPr}_4$ ,  $\text{BrMgBEt}_4$  [109, 119].

Pats populiariausias iš visų derivatizacijos reagentų yra natrio tetraetilboratas ( $\text{NaBEt}_4$ ). Reakcija su šiuo reagentu duoda gerai pasikartojančius rezultatus, be to pašalinių matricos komponentų įtaka etilinimo procesui yra maža [1, 3].  $\text{NaBEt}_4$  - tai baltos spalvos kristalinė druska, kuri ištirpinta vandenyje jonizuojasi, derivatizacijos reakcijoje dalyvauja anijonas. Nors šis reagentas gerai tirpsta vandenyje, jo vandeniniai tirpalai nėra stabilūs, todėl turi būti šviežiai ruošiami prieš kiekvienos naujos mėginių serijos analizę. Šis reagentas gerai tirpsta tetrahidrofurane, o tirpalas ilgai išlieka stabilus (apie 30 dienų), todėl analizė duoda geresnius rezultatus. Natrio tetraetilborato grynumas yra apie 97 %, jo sudėtyje yra randama trietilborano pėdsakų. Trietilboranas yra itin degus, ore savaime užsidega, todėl dirbant su natrio tetraetilboratu būtina laikytis papildomų saugumo priemonių, nes sveriamas gali lengvai užsiliepsnoti.

OAJ alkinimas natrio tetraetilboratu dažniausiai atliekamas esant pH 4 - 5,3, reakcijos trukmė apie 30 minučių, naudojamas 2 %  $\text{NaBEt}_4$  tirpalas tetrahidrofurane [30].

Dažniausiai taikomų OAJ derivatizavimo būdų (hidrinimo  $\text{NaBH}_4$ , alkilinimo Grignard'o reagentais ir tetraalkilboratais) palyginimas pateiktas 1.3 lentelėje.

## 1.3 lentelė

## Organinių alavo junginių derivatizavimo būdų palyginimas

Derivatizacijos būdas	Privalumai	Trūkumai
<b>Hidrinimas</b> NaBH <sub>4</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Dideli analičių sukoncentravimo laipsniai</li> <li>✓ Derivatizacijos vandenyje galimybė</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Reagentai nestabilūs ir lakūs <a href="#">[109]</a></li> <li>✓ Nustatomi tik žemos virimo temperatūros OAJ</li> <li>✓ Pašalinės reakcijos, kai matrica ne vanduo</li> <li>✓ Susidarę hidridai nestabilūs <a href="#">[120]</a></li> </ul>
<b>Alkilinimas, naudojant Grignard'o reagentus</b> RMgX	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Didelis derivatizavimo reagentų pasirinkimas</li> <li>✓ Gerai pasikartojantys analizės rezultatai</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Derivatizacijos procesas sudėtingas, daugiapakopis <a href="#">[109]</a></li> <li>✓ Ilga proceso trukmė <a href="#">[120]</a></li> <li>✓ Didelės darbo sąnaudos</li> <li>✓ Reakcija vykdoma <b>tik</b> aprotoniniuose tirpikliuose <a href="#">[120]</a></li> <li>✓ Reagentai reakcingi</li> <li>✓ Didelė mėginio užteršimo, analičių skilimo ir praradimo tikimybė</li> </ul>
<b>Alkilinimas boratais</b> Pvz.: NaEt <sub>4</sub> B	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Didelis proceso greitis</li> <li>✓ Maža pašalinių matricos komponentų įtaka <a href="#">[120]</a></li> <li>✓ Derivatizacijos vandenyje galimybė</li> <li>✓ Gerai pasikartojantys analizės rezultatai <a href="#">[120]</a></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Mažas derivatizacijos reagentų tirpalų stabilumas</li> <li>✓ Didelė derivatizacijos reagentų kaina <a href="#">[109]</a></li> </ul>



## 2. EKSPERIMENTO METODIKA

### 2.1. Reagentai

Organinių alavo junginių pradinių etaloninių tirpalų paruošimui naudoti reagentai: metilalavo junginiai - metilalavo trichloridas ( $\text{CH}_3\text{SnCl}_3$ , MMT, 97 %), dimetilalavo dichloridas ( $(\text{CH}_3)_2\text{SnCl}_2$ , DMT, 97 %), trimetilalavo chloridas ( $(\text{CH}_3)_3\text{SnCl}$ , TMT, 97 %); butilalavo junginiai (BAJ) – *n*-butilalavo trichloridas ( $\text{C}_4\text{H}_9\text{SnCl}_3$ , 95 %), di(*n*-butil)alavo dichloridas ( $(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{SnCl}_2$ , 96 %), tri(*n*-butil)alavo chloridas ( $(\text{C}_4\text{H}_9)_3\text{SnCl}$ , 96 %); fenilalavo junginiai (PhAJ) – fenilalavo trichloridas ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{SnCl}_3$ , MPhT, 98 %), difenilalavo dichloridas ( $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{SnCl}_2$ , DPhT, 96 %), trifenilalavo chloridas ( $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{SnCl}$ , TPhT,  $\geq 97$  %, pirktas iš Fluka) pirkti iš Sigma-Aldrich.

Ekstrakcijai naudoti reagentai: metanolis ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\geq 99,95$  %) ir acetonas ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ,  $\geq 99,9$  %) pirkti iš Roth; etanolis ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , 96 %) pirktas iš Merk; *n*-pentanas ( $\text{C}_5\text{H}_{12}$ , 99 %), *n*-heksanas ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ , 98,5 %), izooktanai ( $\text{C}_8\text{H}_{18}$ ,  $\geq 99$  %), *n*-oktanai ( $\text{C}_8\text{H}_{18}$ ,  $\geq 98$  %), *n*-nonanai ( $\text{C}_9\text{H}_{20}$ ,  $\geq 99$  %), dekanai ( $\text{C}_{10}\text{H}_{22}$ ,  $\geq 99$  %), *n*-tetradekani ( $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$ ,  $\geq 99$  %), *n*-heksadekani ( $\text{C}_{16}\text{H}_{34}$ ,  $\geq 99$  %), *n*-heptadekani ( $\text{C}_{17}\text{H}_{36}$ ,  $\geq 99$  %), acetonitrilas ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\geq 99,9$  %), anglies tetrachloridas ( $\text{CCl}_4$ , 99,5 %), metilbenzoatas ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2\text{CH}_3$ , 99 %), chlorbenzenas ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$ ,  $\geq 99,5$  %), 1,2-dichlorbenzenas ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ , 99 %), brombenzenas ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Br}$ ,  $\geq 99,5$  %), 1-undekanolis ( $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{OH}$ ,  $\geq 98$  %), 2-dodekanolis ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ,  $\geq 98$  %), 1-dodekanolis ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$ ,  $\geq 98$  %), cikloheksanolis ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$ ,  $\geq 99$  %), 1-chlorooktadekanas ( $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{Cl}$ ,  $\geq 98$  %), heksachlorešanas ( $\text{Cl}_3\text{CCCl}_3$ , 99 %), pirkti iš Sigma-Aldrich.

Kitos tyrimuose naudotos medžiagos: natrio tetraetilboratas ( $\text{NaBEt}_4$ , 97 %, Sigma-Aldrich), acto rūgštis ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , ledinė, chemiškai gryna), druskos rūgštis ( $\text{HCl}$ , 30 %), natrio acetatas ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , ypatingai grynus), kalio divandenilio citratas ( $\text{KH}_7\text{C}_6\text{O}_7$ , 99 %, Sigma-Aldrich), natrio chloridas ( $\text{NaCl}$ , 99,5 %, Reachim (Ukraina)).

Darbinių tirpalų ruošimui naudotas distiliuotas vanduo. Dujų chromatografijai naudotos helio dujos (99,999%).

## 2.2. Tirpalai

Pagrindiniai etaloniniai OAJ tirpalai buvo ruošiami tirpinant organinius alavo chloridus metanolyje (MMT<sup>+</sup>, DMT<sup>+</sup>, TMT<sup>+</sup>, MBT<sup>+</sup>, DMT<sup>+</sup>, TMT<sup>+</sup>, MPhT<sup>+</sup>, DPhT<sup>+</sup>, TPhT<sup>+</sup>). Analičių koncentracija pagrindiniame tirpale buvo 10 mg/ml. Pagrindiniai etaloniniai tirpalai buvo laikomi sandariai uždaryti +4 °C temperatūroje šaldytuve, taip saugomi tirpalai išlieka stabilūs iki metų laiko [\[94\]](#).

Pradiniai jungtiniai etaloniniai OAJ tirpalai (metil-, butil- bei fenilalavo junginių tirpalai buvo ruošiami atskirai) buvo gaminami paimant atitinkamus pagrindinių etaloninių OAJ tirpalų kiekius ir skiedžiant metanoliu. OAJ koncentracijos pradiniame tirpale buvo 100 µg/ml. Pradiniai etaloniniai tirpalai buvo laikomi sandariai uždaryti +4 °C temperatūroje šaldytuve, taip saugomi tirpalai išlieka stabilūs iki trijų mėnesių.

Darbiniai OAJ tirpalai buvo gaminami tyrimo dieną paimant atitinkamus pradinių etaloninių OAJ tirpalų kiekius ir skiedžiant juos distiliuotu vandeniu. Darbiniai OAJ tirpalai nebuvo saugomi.

Buferinis (acetatinis) 0,1 mol/l tirpalas buvo gaminamas tirpinant atitinkamą kiekį natrio acetato distiliuotame vandenyje ir pridedant ledinės acto rūgšties iki pH 4,5. Buferinis (citratinis) 0,5 mol/l tirpalas buvo gaminamas tirpinant atitinkamą kiekį kalio citrato distiliuotame vandenyje ir pridedant druskos rūgšties iki pH 3. pH vertės buvo įvertinamos pagal pH-metro parodymus.

Derivatizacijos reagento natrio tetraetilborato tirpalas buvo ruošiamas kiekvieną dieną, atitinkamą kiekį reagento ištirpinant distiliuotame vandenyje.

### 2.3. Įranga ir aparatūra

Tyrimai buvo atliekami dujų chromatografu *Clarus 580* su masių spektrometriniu detektoriumi *Clarus 560 S* bei automatiniu mėginių paėmėju. Chromatografiniam junginių perskyrimui naudota *Elite-5 MS* kapiliarinė kolonėlė (ilgis 30 m, vidinis skersmuo 0,25 mm, nejudri fazė – metilpolisiloksanas, turintis 5 % fenilo grupių, nejudrios fazės sluoksnio storis 0,25 μm). Įranga piršta iš Perkin Elmer (JAV).

Medžiagų svėrimui buvo naudojamos analizinės svarstyklės Scaltec SAS 51, svėrimo ribos 0,01 – 200 g, tikslumas ± 0,01 g (Vokietija).

Centrifugavimas buvo atliekamas su centrifuga Boeco S-8 (Vokietija).

Tirpalų pH buvo matuojami pH-metru ЭB-74, matavimo ribos 0 - 14 pH, tikslumas ± 0,05 pH (Rusija).

Mėginio įleidimas buvo atliekamas naudojant 10 μl talpos mikrošvirkštą (Hamilton, JAV).

Tirpalai buvo maišomi magnetine maišykle MLW RH3 (Prüfgeräte-Werk, Vokietija).

### 2.4. Dujų chromatografinės-masių spektrometrinės analizės sąlygos

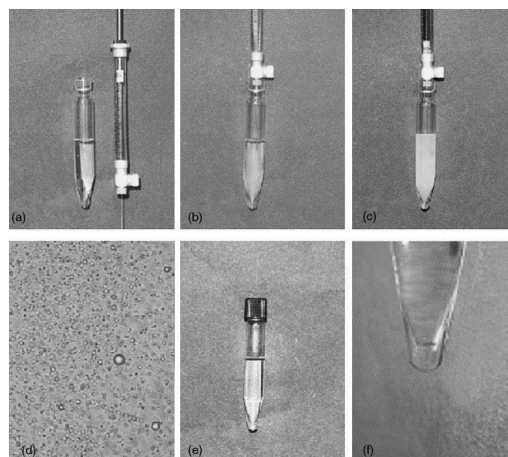
Atliekant dujų chromatografinę analizę judria faze naudotas He dujų srautas. Nešančiųjų dujų tūrinis greitis per chromatografinę kolonėlę 1 ml/min. Kapiliarinės kolonėlės jungties su masių spektrometro jonų šaltiniu temperatūra 280 °C. Jonų šaltinio elektronų jonizacijos energija 70 eV, temperatūra 180 °C. Chromatografo garintuvo ir detektoriaus temperatūra palaikoma 250 °C. Atliekant metilalavo junginių analizę buvo taikytas chromatografo garintuvo temperatūrinis programavimas. Analizuojant derivatizuotus metilalavo junginius chromatografo garintuvo pradinė temperatūra 160 °C buvo išlaikoma 1 minutę, o tada 200 °C/min greičiu keliama iki 250 °C ir išlaikoma visos analizės metu. Analizuojant OAJ

ekstraktus, buvo taikomas chromatografinės kolonėlės temperatūros programavimas.

Atliekant organinių alavo junginių dujų chromatografinio nustatymo sąlygų optimizavimą, OAJ analizei buvo taikytas pilnas masių spektrometrinis detektavimas ( $m/z$  50 –500). Analitės buvo identifikuojamos sulyginant jų masių spektrus su bibliotekoje pateiktais masių spektrais. Optimizavus chromatografinės kolonėlės temperatūrinę programą, kiekybinei OAJ analizei, masių spektrometrinis detektavimas buvo atliekamas pasirinktų jonų matavimo režime.

## 2.5. Bendra DSSME atlikimo procedūra

Į 10 ml centrifuginį mėgintuvėlį su kūgio formos dugnu įpilama 8 ml reikiamo pH vandeninio OAJ tirpalo ir reikiamas kiekis derivatizacijos reagento  $\text{NaBEt}_4$  vandeninio tirpalo, vykdoma derivatizacija. Po derivatizacijos 1 ml švirškštu į mėgintuvėlį išsvirkščiama reikiamas kiekis disperguojančiojo bei ekstrahuojančiojo tirpiklių mišinio. Gauta emulsija centrifuguojama 3 min 5000 aps./min greičiu. Organinė fazė su OAJ nusėda mėgintuvėlio dugne. Mikrošvirškštu paimamas 1  $\mu\text{l}$  OAJ ekstrakto ir įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą.



**2.1 pav.** DSSME atlikimo etapų nuotraukos [20]: (a) prieš įleidžiant į vandeninį mėginį disperguojančio tirpiklio ir ekstrahuojančio tirpiklio mišinį, (b) įleidimo pradžia, (c) įleidimo pabaiga, (d) 1000 kartų padidintas emulsijos vaizdas, (e) po centrifugavimo, (f) nusėdusi fazė.

## **2.6. Bendra MEŠTL atlikimo procedūra**

Į 20 ml tūrio stiklinį ekstrakcijos indą įpilama 15 ml reikiamo pH vandeninio OAJ tirpalo ir reikiamas kiekis derivatizacijos reagento ( $\text{NaBEt}_4$ ) vandeninio tirpalo. Į šį tirpalą mikrošvirštu įleidžiamas reikiamas kiekis ekstrahento. Tirpalas maišomas magnetine maišykle 800 aps./min greičiu. Pasibaigus ekstrakcijai, ekstrakcijos indas dedamas į ledo vonią. Užšalęs ekstraktas išimamas, išlydomas kambario temperatūroje ir mikrošvirštu paimtas 1  $\mu\text{l}$  ekstrakto rankiniu būdu įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą.

## **2.7. Bendra DSSME panaudojant užšaldomą tirpiklį atlikimo procedūra**

Į 10 ml centrifuginį mėgintuvėlį su kūgio formos dugnu įpilama 8 ml reikiamo pH vandeninio OAJ tirpalo ir reikiamas kiekis derivatizacijos reagento ( $\text{NaBEt}_4$ ) vandeninio tirpalo, vykdoma derivatizacija.

Po derivatizacijos 1 ml švirštu į mėgintuvėlį išvirkščiamas reikiamas kiekis disperguojančiojo bei ekstrahuojančiojo tirpiklių mišinio. Gauta emulsija centrifuguojama 3 min 5000 aps./min greičiu. Po centrifugavimo mėgintuvėlis su tirpalu patalpintas į ledo vonią ir laikomas, kol ekstraktas užšąla. Užšalęs ekstraktas perkeliamas į konusinį indelį, išlydomas ir rankiniu būdu įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą (1  $\mu\text{l}$ ).

## **2.8. Analizės rezultatų įvertinimas**

Chromatografinės analizės rezultatų įvertinimui buvo naudotos šios statistikos empirinės charakteristikos [121]:

Aritmetinis vidurkis  $\bar{x}$ , kuris parodo vidutinę atsitiktinio dydžio reikšmę, apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (2.1)$$

kur:

$\bar{x}$  – n matavimų rezultatų vidutinė vertė;

$x_i$  – i-tojo matavimo rezultato vertė;

$n$  – matavimų skaičius.

Standartinis nuokrypis  $s$ , kuris aprašo atsitiktinio dydžio sklaidą apie vidurkį, išreiškiamas lygtimi:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2.2)$$

kur:

$s$  – standartinis nuokrypis;

$\bar{x}$  – n matavimų rezultatų vidutinė vertė;

$x_i$  – i-tojo matavimo rezultato vertė;

$n$  – matavimų skaičius.

Santykinis standartinis nuokrypis  $s_r$ , procentinis imties kitimo koeficientas, apskaičiuojamas pagal lygtį:

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (2.3)$$

kur:

$s_r$  - santykinis standartinis nuokrypis;

$s$  – standartinis nuokrypis;

$\bar{x}$  – n matavimų rezultatų vidutinė vertė.

Teorinių lėkštelių skaičius  $N$ :

$$N = 16 \left( t_R / w \right)^2 \quad (2.4)$$

kur:

$t_R$  – išėjimo laikas;

$w$  – smailės plotis.

## 2.9. Rezultatų apskaičiavimas priedų metodu

Atliekant dujų chromatografinę analizę priedų metodu, pirmiausiai yra gaunama mėginio be priedo chromatograma, po to į mėginį yra įdedamas žinomas analitės priedo kiekis ir vėl gaunama chromatograma. Analitės kiekis mėginyje apskaičiuojamas pagal lygtį [122]:

$$Q_x = Q_{st} \frac{A_x}{A_{x+st} - A_x} \quad (2.5)$$

kur:

$Q_x$  - nežinomas analitės kiekis mėginyje;

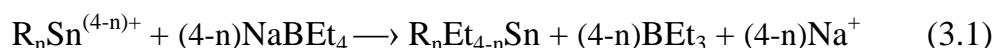
$Q_{st}$  – į mėginį įvestas analitės priedas;

$A_x$  - analitės be priedo smailės plotas;

$A_{x+st}$  - analitės su priedu smailės plotas.

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Realiuose mėginiuose OAJ yra jonizuoti ir egzistuoja katijono forma, todėl yra mažai lakūs ir negali būti tiesiogiai analizuojami taikant dujų chromatografiją. Nelakias, polines bei termonestabilias mono-, di- bei tripakeistų OAJ formas būtina atskirti nuo matricos ir paversti lakiomis, nepolinėmis bei termostabiliomis tetrapakeistų OAJ darinių formomis, t.y. atlikti derivatizaciją. Literatūros apžvalga parodė, kad geriausias būdas derivatizuoti OAJ yra alkilinimas natrio tetraetilboratu, nes būtent šis derivatizavimo variantas duoda gerai pasikartojančius rezultatus, pašaliniai matricos komponentai neturi didelės įtakos metodo eigai. Labai svarbu yra ir tai, kad reakcijas galima vykdyti vandeniniuose tirpaluose [1, 3], o šios daktaro disertacijos pagrindinis tikslas ir yra vandeninių mėginių analizė. Bendra derivatizacijos natrio tetraetilboratu reakcija:



$n = 1-3$ , R – organinis pakaitas [123].

Literatūroje yra duomenų apie tai, kad vandeniniuose tirpaluose, kuriuose yra fenilalavo bei alkilalavo junginių, vieni OAJ virsta kitais, susidaro nauji OAJ. Pvz., vienu metu analizuojant vandeninius tirpalus, turinčius butilalavo bei fenilalavo junginių, chromatogramoje yra stebimos ne tik minėtų OAJ smailės, bet ir dietilfenilbutilo smailė [124]. Dėl šių persigrupavimo reakcijų sudėtinga pagaminti tiksliai žinomų koncentracijų metil-, butil- ir fenilalavo junginių mišinį. Todėl buvo priimtas sprendimas suskirstyti OAJ į tris grupes (MAJ, BAJ, PhAJ) ir kiekvieną iš jų tirti atskirai.

#### 3.1 Metilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas

##### 3.1.1. Metilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija

Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija – tai metodas, kuris yra paremtas trikomponente tirpiklių sistema: vandeniniame mėginyje disperguojantis tirpiklis tolygiai visame mėginio tūryje paskirsto ir išlaiko



ekstrahuojantį tirpiklį, todėl vandeninės ir organinės fazių sąlyčio paviršiaus plotas yra labai didelis ir gaunama itin didelė ekstrakcijos išeiga. Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija - labai greitas metodas, kurį taikant nėra naudojami dideli kiekiai organinių tirpiklių ar kitų medžiagų.

### **3.1.1.1. Metilalavo junginių derivatizacija**

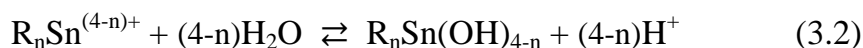
Kaip buvo minėta anksčiau, prieš dujų chromatografinę analizę alavo organinius junginius būtina derivatizuoti. Optimalios MAJ derivatizacijos sąlygos (tirpalo pH bei derivatizacijos trukmė) buvo parinktos naudojant derivatizuotą MAJ ekstraktą *n*-pentane. Ekstraktas buvo ruošiamas taip: į 25 ml 10 µg/l vandeninio MAJ tirpalo įpilta 100 µl 10 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalo (tai atitinka 0,04 % NaBEt<sub>4</sub> MAJ tirpale), derivatizacija vyko 15 min, po to 2 min tirpalas buvo intensyviai purtomas su 0,5 ml *n*-pentano. Ekstraktas buvo perkeltas į mėginių ėmimo buteliuką ir automatiškai įleistas į dujų chromatografo garintuvą.

Ekstraktą analizuotas taikant chromatografinės kolonėlės temperatūros programą: pradinė temperatūra 50 °C laikoma 1 min, po to temperatūra keliama 15 °C/min greičiu iki 90 °C, o nuo 90 °C temperatūra keliama 40 °C/min greičiu iki 250 °C, ši temperatūra palaikoma dar 3 min.

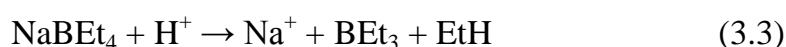
#### ***Derivatizacijos pH***

Literatūros apžvalga parodė, kad organinių alavo junginių derivatizacijos vandeninėje terpėje efektyvumui didelę įtaką turi vandeninio tirpalo pH. Įvairiuose literatūros šaltiniuose pateikiamos skirtingos organinių alavo junginių tirpalų pH vertės derivatizavimo metu (pH 4 – 8) [109, 117, 118]. Daugumoje darbų yra aprašomi butil- ar oktilalavo junginių derivatizacijos tyrimai, o duomenų apie metilalavo junginių derivatizaciją natrio tetraetilboratu bei terpės pH įtaką surasti nepavyko, todėl pirmiausiai buvo atliktas būtent šis tyrimas.

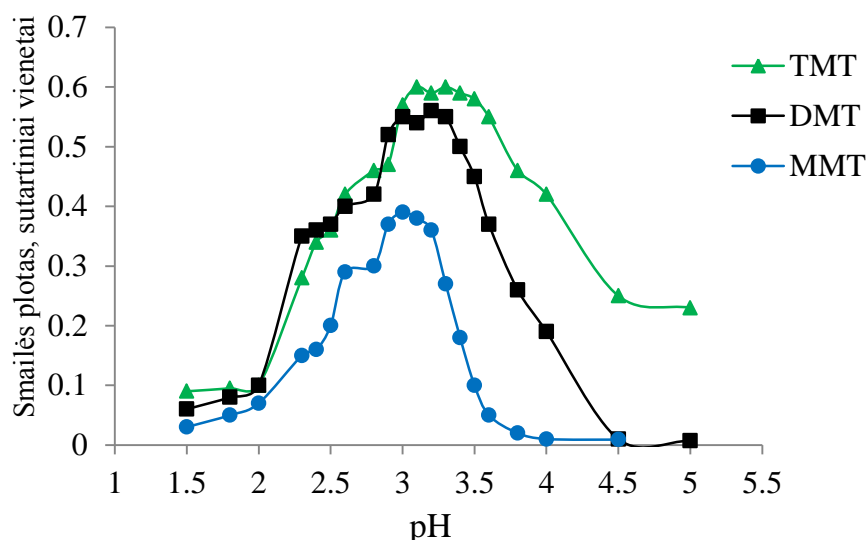
Organiniai alavo junginiai vandeniniuose tirpaluose pasižymi silpnų rūgščių savybėmis (lygtis 3.2) [123], šios rūgštinės OAJ savybės lemia jų polinkį reaguoti su NaBEt<sub>4</sub>. Dėl to OAJ tirpalo pH vertė derivatizacijos metu turėtų būti kuo mažesnė.



Antra vertus, kai pH ≤ 2, NaBEt<sub>4</sub> sparčiai skyla, todėl gali nebelikti derivatizacijos reagento ir derivatizacija apskritai neįvykti (3.3 lygtis) [123, 125].



MAJ derivatizacijos su NaBEt<sub>4</sub> reakcijos priklausomybė nuo terpės pH buvo ištirta pH srityje nuo 1,5 iki 5,0. MAJ derivatizacija bei ekstrakcija buvo vykdyta pagal aukščiau parašytas sąlygas. Tyrimo rezultatai pateikti 3.1 paveiksle.

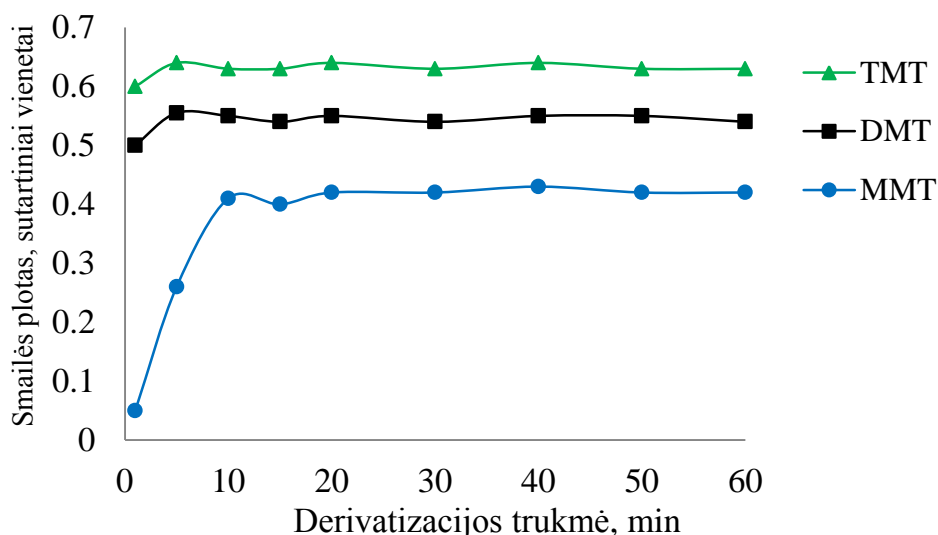


**3.1 pav.** pH vertės įtaka MAJ derivatizacijai. Mėginio tūris 25 ml, MAJ koncentracija 10 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min, ekstrahentas *n*-pentanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

Iš 3.1 pav. pateiktų duomenų matyti, kad didinant terpės pH iki 3, auga derivatizuotų MAJ smailių plotai, o toliau didinant pH smailių plotai mažėja. Didžiausias MAJ derivatizacijos efektyvumas buvo pasiektas esant pH 3.

### *Derivatizacijos trukmė*

Siekiant optimizuoti MAJ derivatizacijos trukmę, derivatizacija natrio tetraetilboratu buvo atliekama 1 – 60 min. MAJ derivatizacija bei ekstrakcija buvo vykdyta pagal aukščiau parašytas sąlygas. Iš 3.2 pav. pateiktų duomenų matyti, kad MAJ derivatizacija įvyksta per keletą minučių. Didinant derivatizacijos trukmę nuo 1 iki 10 min MAJ smailių plotai didėja, o toliau didinant derivatizacijos trukmę iki 60 min - nesikeičia. Remiantis gautais duomenimis, tolimesniam darbui buvo pasirinkta 10 min derivatizacijos trukmė.

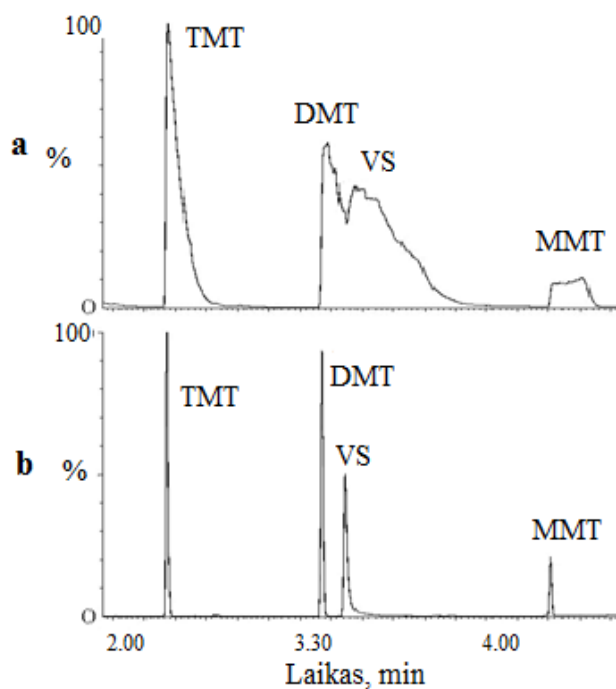


**3.2 pav.** Derivatizacijos trukmės įtaka MAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 25 ml, MAJ koncentracija 10 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, ekstrahentas *n*-pentanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

#### **3.1.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas**

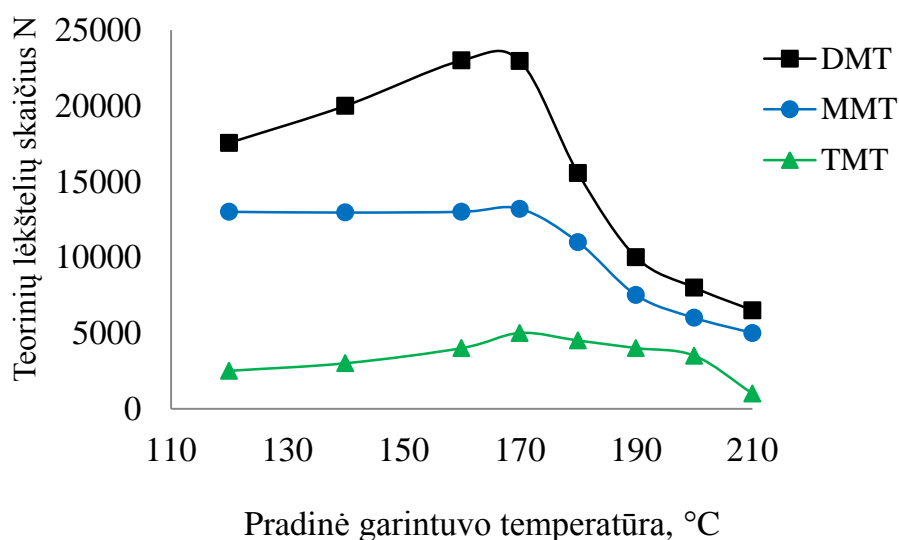
Aukščiau aprašytas derivatizacijos sąlygų optimizavimas buvo atliekamas naudojant metilalavo junginių ekstraktus *n*-pentane. Tačiau *n*-pentanas netinkamas ekstrahentas, kai yra taikoma dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija, nes neatitinka DSSME ekstrahuojančiam tirpikliui keliamų

reikalavimų. DSSME naudojamas ekstrahuojantis tirpiklis turi ne tik gerai ekstrahuoti analites, bet ir turėti didesnę už vandens tankį, blogai tirpti vandenyje bei gerai tirpti disperguojančiame tirpiklyje, o tirpiklių mišinį įleiskus į vandeninį tirpalą, suformuoti stabilią dviejų fazių sistemą. Šiuos reikalavimus atitinka ir preliminarių MAJ ekstrakcijos DSSME metodu tyrimų metu geriausias rezultatus parodė 1,2-dichlorbenzenas. Tačiau naudojant 1,2-dichlorbenzeną kaip ekstrahuojantį tirpiklį ir mėginius leidžiant į garintuvą, kuriame buvo palaikoma pastovi 250 °C temperatūra (kaip *n*-pentano atveju), analičių smailės buvo asimetriškos ir plačios (3.3 a pav.) Greičiausiai taip yra todėl, kad įleiskus 1,2-dichlorbenzeną į garintuvą, kurio temperatūra 250 °C, įkaitęs tirpiklis vėsios chromatografinės kolonėlės (50 °C) pradžioje kondensuojasi palaipsniui, todėl užima plačią juostą. Šioje plačioje tirpiklio zonoje susikondensuoja ir analitės. Dėl to analičių chromatografinės smailės taip pat plačios.



**3.3 pav.** Standartinio MAJ (5 µg/l) mišinio ir vidinio standarto (VS) chlorbenzeno chromatogramos atlikus DSSME 1,2 dichlorbenzenu: a - garintuvo temperatūra 250 °C, b - garintuvo temperatūra programuojama: 160 °C (palaikoma 1 min), keliama iki 250 °C 200 °C/min greičiu.

Siekiant pagerinti smailių formas, buvo pabandyta naudoti garintuvo temperatūros gradientą. Vieną minutę buvo palaikoma 120 – 210 °C garintuvo temperatūra, po to ji buvo keliama 200 °C/min greičiu iki 250 °C. Naudojant skirtingą pradinę garintuvo temperatūrą, buvo įvertintas kolonėlės efektyvumas. Kaip matyti iš 3.4 pav. pateiktų duomenų, optimali pradinė garintuvo temperatūra yra 160 - 170 °C. Keičiant garintuvo temperatūros kėlimo greitį nuo 50 °C/min iki 200 °C/min, kolonėlės efektyvumo pokyčiai nebuvo pastebėti. Tolimesniame darbe naudojama garintuvo temperatūros programa: 1 min laikoma 160 °C temperatūra, o po to keliama 200 °C/min greičiu iki 250 °C (3.3 b pav.)



**3.4 pav.** Pradinės garintuvo temperatūros poveikis chromatografinės kolonėlės efektyvumui perskiriant metilalavo junginius.

### 3.1 lentelė

Optimalios metilalavo junginių chromatografinio perkyrimo sąlygos

Parametras	Vertė
Pradinė kolonėlės temperatūra, $T_0$	50 °C
Temperatūros ( $T_0$ ) išlaikymas	1 min
Temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_0$ iki $T_1$ )	15 °C/min
Kolonėlės temperatūra, $T_1$	90 °C
Temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_1$ iki $T_2$ )	40 °C/min
Kolonėlės temperatūra, $T_2$	250 °C
Temperatūros ( $T_2$ ) išlaikymas	3 min
Bendra chromatografinės analizės trukmė	10 min
Pradinė garintuvo temperatūra, $T_0$	160 °C
Garintuvo temperatūros ( $T_0$ ) išlaikymas	1 min
Garintuvo temperatūra, $T_1$	250 °C
Garintuvo temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_1$ iki $T_2$ )	200 °C/min

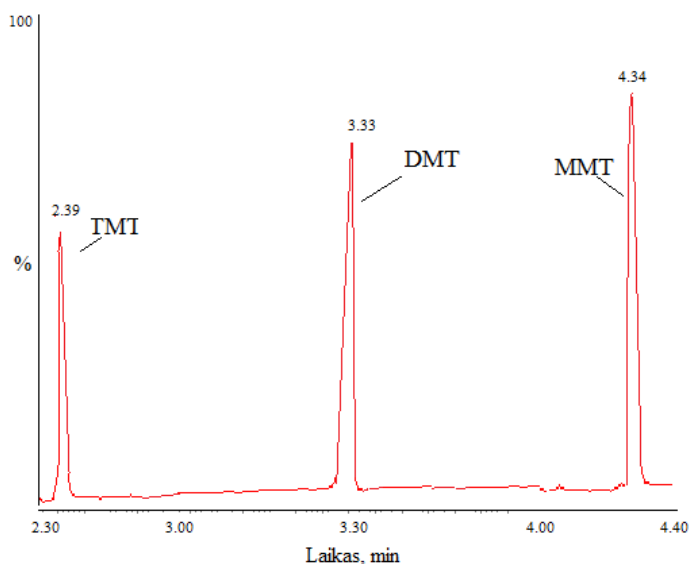
Optimizavus metilalavo junginių chromatografinio perskyrimo sąlygas, buvo papildomai optimizuotos ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygos. Esant žinomoms chromatografinio nustatymo sąlygoms, MAJ išėjimo iš chromatografinės kolonėlės laikai taip pat yra žinomi ir praktiškai nekintantys, todėl MAJ išėjimo iš chromatografinės kolonėlės laikais buvo matuojami tik tam tikri jonai. Buvo pritaikytas SIR (*angl.* Selected Ion Recording) režimas, kuomet yra matuojami tik konkrečias impulso  $m/z$  vertes turintys jonai, tokiu būdu yra pagerinamas analizės jautris ir pašalinami trukdžiai. Reikėtų pabrėžti tai, kad masių skenavimas pilnu režimu ir skenavimas SIR režimu buvo atliekami lygiagrečiai. Buvo pasirinkta fiksuoti po tris būdingas MAJ  $m/z$  vertes (3.2 lentelė).

### 3.2 lentelė

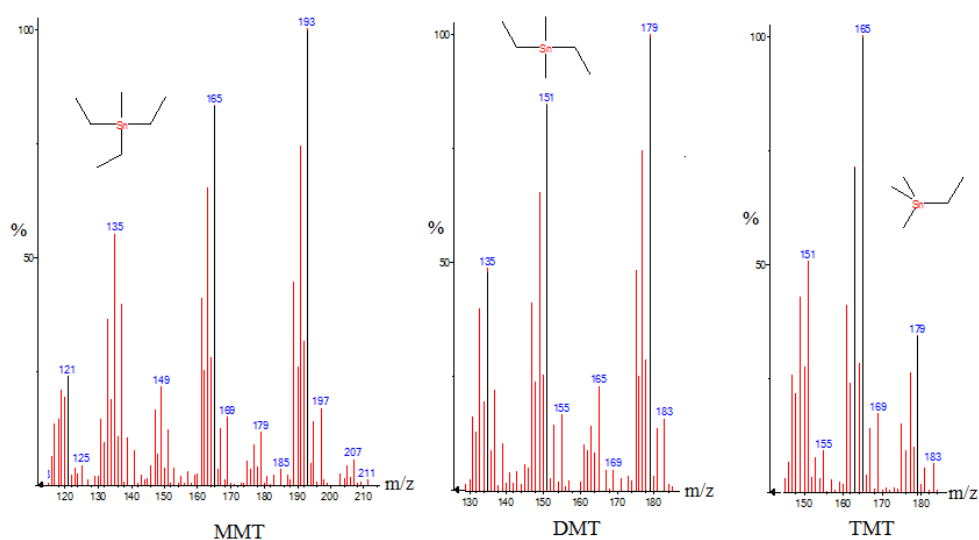
Derivatizuotų metilalavo junginių MS SIR režime nustatomi jonai

Analitė	$m/z$
TMT	163, 165, 179
DMT	135, 151, 179
MMT	121, 165, 193

Taikant 3.1 lentelėje pateiktas chromatografinio perskyrimo sąlygas gauta chromatograma pateikta 3.5 pav., teoriniai masių spektrai pateikti 3.6 pav.



**3.5 pav.** Derivatizuotų metilalavo junginių ekstrakto chromatograma.



**3.6 pav.** Derivatizuotų metilalavo junginių teoriniai masių spektrai.

### 3.1.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas

#### *Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis*

Siekiant užtikrinti gerą ekstrakcijos efektyvumą yra labai svarbu tinkamų tirpiklių parinkimas. Metilalavo junginių ekstrakcijai buvo išbandyti keturi tirpikliai, kurie atitinka visus DSSME ekstrahentams keliamus reikalavimus: anglies tetrachloridas, metilo benzoatas, chlorbenzenas ir 1,2-dichlorbenzenas. Visi šie tirpikliai turi didesnę už vandens tankį, pasižymi mažu tirpumu vandenyje (3.3 lentelė).

### 3.3 lentelė

Ekstrahuojančiųjų tirpiklių fizikinės savybės

Tirpiklis	Tankis, g/ml	Tirpumas vandenyje, g/l	Virimo temperatūra, °C
Anglies tetrachloridas	1,58	0,81	76,5
Metilo benzoatas	1,08	2,1	200
Chlorbenzenas	1,11	0,5	132
1,2-Dichlorbenzenas	1,30	0,16	180

Siekiant parinkti tinkamą ekstrahuojantį tirpiklį, DSSME buvo atliekama taip: į 8 ml vandeninio 5 µg/l metilalavo junginių tirpalo, kurio pH 3, įpilta 100 µl 10 % NaBEt<sub>4</sub>, palaikyta 10 min (vyko derivatizacija). Tada išvirkšta 550 µl mišinio, sudaryto iš 500 µl acetono ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio (anglies tetrachlorido, metilo benzoato, chlorbenzeno arba 1,2-dichlorbenzeno) ir centrifuguota 3 min 5000 aps./min greičiu. Mikrošvirštu paimtas 1 µl ekstrakto (iš apatinio sluoksnio) ir rankiniu būdu įleistas į dujų chromatografo garintuvą.

Iš gautų chromatogramų buvo pastebėta, kad anglies tetrachlorido smailė persiklojo su TMT smaile, o chlorbenzeno smailė persiklojo su MMT smaile. Kitų dviejų tirpiklių smailės buvo gerai atskirtos nuo analičių smailių, o jų sulaikymo trukmė buvo didesnė, nei analičių.

Metilo benzoatas ekstrahavo analites 1,1 - 1,2 karto geriau negu 1,2-dichlorbenzenas. Tačiau susidariusi metilo benzoato emulsija yra labai stabili ir norint atskirti organinę ir vandeninę fazę, mišinį reikia centrifuguoti ne

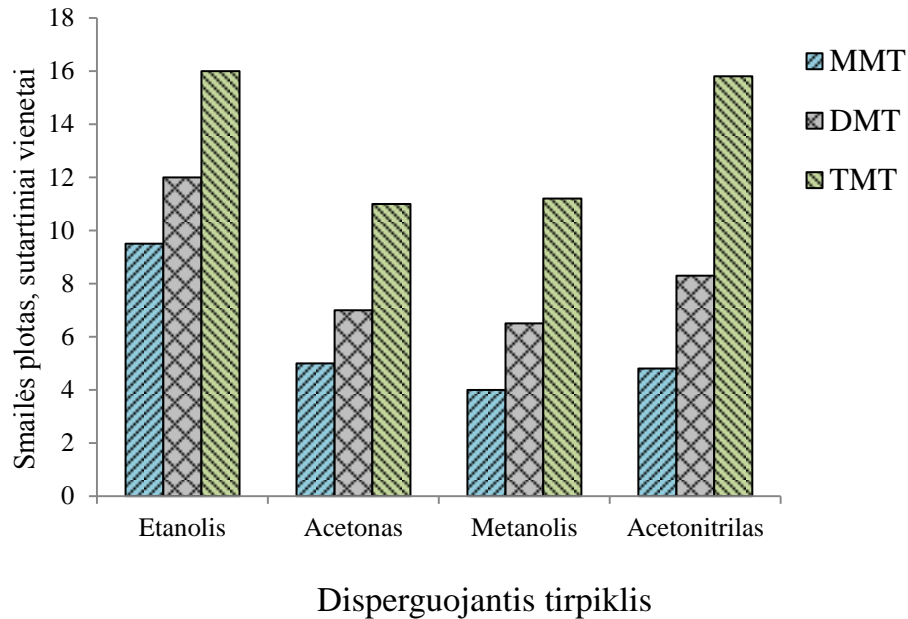


trumpiau kaip 10 min. Tikriausiai tai galima paaiškinti tuo, kad metilo benzoato tankis (1,08 g/ml) yra gana artimas vandens tankiui. 1,2-Dichlorbenzeno atveju (tankis 1,30 g/ml) norint atskirti dvi fazes, tirpalą užteko centrifuguoti 3 min. Be to, dėl palyginti didelio metilo benzoato tirpumo vandenyje (2100 mg/l), organinės fazės tūris centrifuginio mėgintuvėlio dugne sudarydavo 17 - 19 µl, tuo tarpu 1,2-dichlorbenzeno atveju (tirpumas vandenyje 160 mg/l) organinės fazės tūris sudarydavo 41 - 43 µl. Tai reiškia, kad 1,2-dichlorbenzeno tūris gali būti sumažintas dvigubai ar net daugiau, o tai lemtų analizių koncentracijos padidėjimą ekstrakcinėje fazėje. Remiantis šiais argumentais, ekstrahentu buvo pasirinktas 1,2-dichlorbenzenas.

### ***Disperguojančio tirpiklio prigimtis***

Pagrindinis reikalavimas disperguojančiam tirpikliui yra jo gebėjimas maišytis tiek su ekstrahuojančiu tirpikliu, tiek su vandenine faze [124]. Šį reikalavimą tenkina ir šiame darbe buvo palyginti keturi tirpikliai: acetonas, acetonitrilas, metanolis ir etanolis.

Buvo atlikta DSSME ir DCh-MS analizė aukščiau aprašytu būdu. Ekstrakcijai buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 500 µl disperguojančio tirpiklio (acetono, acetonitrilo, metanolio arba etanolio) ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio 1,2-dichlorbenzeno. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.7 pav., iš kurio matyti, kad šiek tiek didesnis ekstrakcijos efektyvumas buvo pasiektas naudojant etanolį, todėl etanolis buvo pasirinktas disperguojančiu tirpikliu.



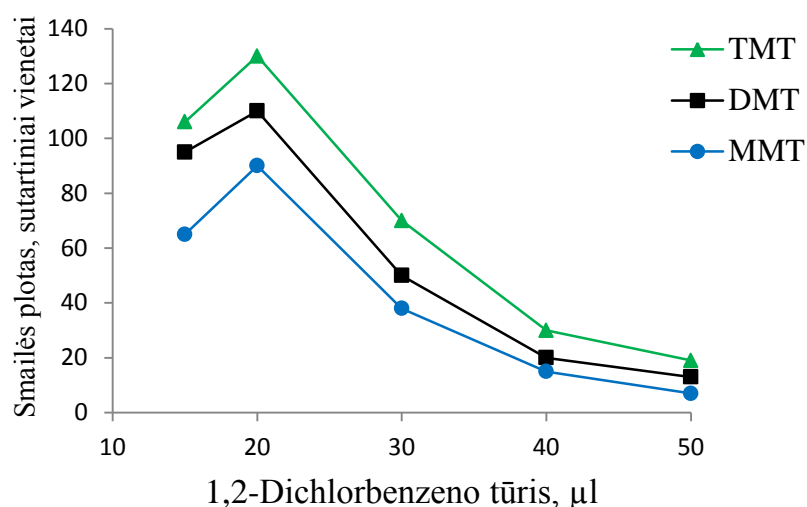
**3.7 pav.** Disperguojančio tirpiklio prigimties poveikis MAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, MAJ koncentracijos 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrahentas 1,2-dichlorbenzenas.

#### ***Ekstrahuojančio tirpiklio tūris***

Parinkus ekstrahuojantį bei disperguojantį tirpiklius, buvo optimizuojamas jų kiekis. Ieškant optimaliausio tirpiklių kiekio buvo atkreipiamas dėmesys į tai, kad kuo mažesnis ekstrahuojančio tirpiklio tūris, tuo labiau sukoncentruojamos analitės, tačiau tūris turi būti ne per mažas, o pakankamas analizei, t.y. toks, kad ekstraktą dar būtų galima paimti mikrošvirštu [127]. Taip pat svarbu yra tai, kad nuo disperguojančio tirpiklio tūrio tiesiogiai priklauso emulsijos susidarymas, ekstrahuojančio tirpiklio dispergavimo laipsnis, o todėl ir ekstrakcijos efektyvumas. Disperguojančio tirpiklio tūris lemia ir ekstrahuojančio tirpiklio tūrį, gaunamą po centrifugavimo, nes didesnis disperguojančio tirpiklio kiekis padidina ekstrahuojančio tirpiklio tirpumą vandenyje.

Pirmiausiai buvo ieškoma optimalaus ekstrahuojančio tirpiklio 1,2-dichlorbenzeno tūrio. Šiam tikslui buvo naudojamas tirpalas, kuriame buvo 500  $\mu\text{l}$  etanolio ir 15 - 50  $\mu\text{l}$  1,2-dichlorbenzeno. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.8 pav., kuriame galima matyti, kad didėjant ekstrahuojančio tirpiklio

tūriui, smailių plotai iš pradžių (iki 20  $\mu$ l) didėjo, o toliau didėjant ekstrahento tūriui smailių plotai mažėjo. Dėl šios priežasties ekstrakto tūris centrifugavimo mėgintuvėlio dugne buvo per mažas, todėl kartu su ekstraktu į mikrošvirkštą galėjo patekti ir vandens fazės. Kai ekstrahento tūris viršijo 20  $\mu$ l, analitės buvo labiau praskiedžiamos ir analičių smailių plotai sumažėjo. Atsižvelgiant į minėtas priežastis tolimesniame darbe buvo naudotas 20  $\mu$ l 1,2-dichlorbenzeno tūris.



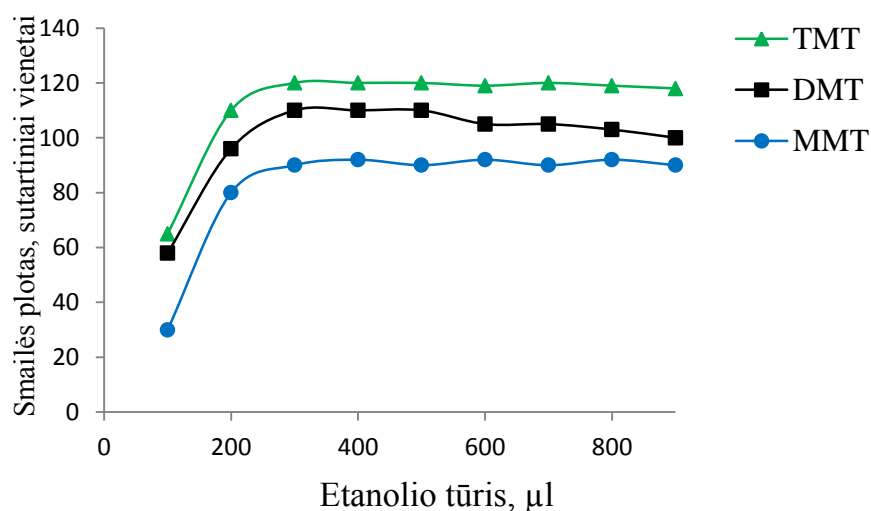
**3.8 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio (1,2-dichlorbenzenas) kiekio įtaka MAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, MAJ koncentracija 5  $\mu$ g/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 10 min, disperguojantis tirpiklis etanolis.

### *Disperguojančio tirpiklio tūris*

Disperguojančio tirpiklio tūris lemia emulsijos susidarymą, ekstrahuojančio tirpiklio dispergavimo laipsnį bei ekstrakcijos efektyvumą. Nuo disperguojančio tirpiklio tūrio taip pat priklauso ir ekstrahuojančio tirpiklio tūris, gaunamas po centrifugavimo, todėl jo kiekio parinkimas yra itin svarbus DSSME sąlygų optimizavimo etapas.

Norint iširti disperguojančio tirpiklio tūrio poveikį, buvo naudojamas tirpalas su skirtingu etanolio tūriu (0,1 - 0,9 ml) ir 20  $\mu$ l 1,2-dichlorbenzeno.

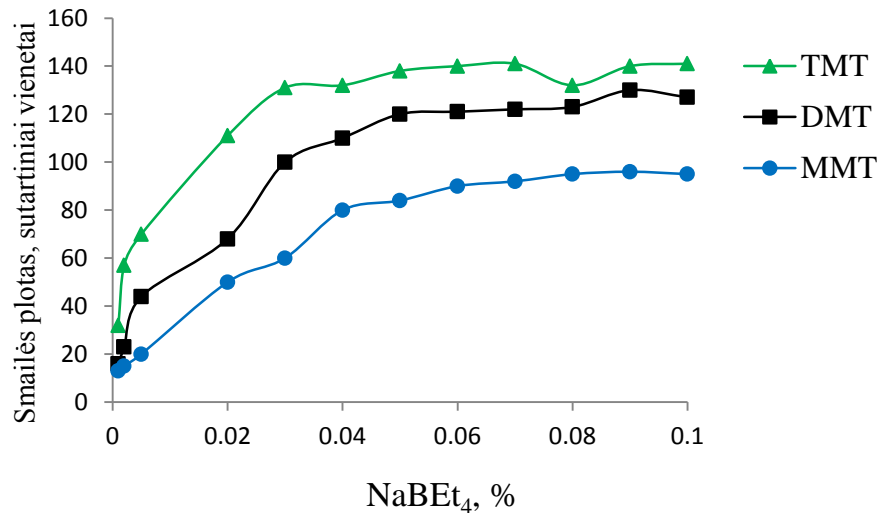
Esant mažam etanolio tūriui, susidariusi emulsija nebuvo stabili ir tai lėmė mažesnę ekstrakcijos efektyvumą. Kai etanolio tūris viršijo 0,3 ml, ekstrakcijos efektyvumo pokyčiai buvo nereikšmingi (3.9 pav.) Tačiau etanolio kiekio didėjimas didino emulsijos stabilumą. Taigi, naudojant daugiau nei 0,5 ml etanolio, 3 minučių centrifugavimo nepakakdavo emulsijos suardymui. Dėl to, 0,3 - 0,5 ml etanolio kiekis buvo laikomas optimaliu. Tolimesniame darbe buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 20  $\mu$ l 1,2-dichlorbenzeno ir 0,38 ml etanolio, t.y. bendras tirpiklių tūris 0,4 ml – tai tūris, kurį patogų paimti švirkštu.



**3.9 pav.** Disperguojančio tirpiklio (etanolis) kiekio įtaka MAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, MAJ koncentracija 5  $\mu$ g/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrahentas 1,2-dichlorbenzenas.

#### *NaBEt<sub>4</sub> koncentracija*

Anksčiau aprašytiems tyrimams derivatizavimo reagento NaBEt<sub>4</sub> koncentracija MAJ tirpale buvo 0,04 %. Pasirinktomis DSSME sąlygomis derivatizavimo reagento koncentracija buvo papildomai ištirta 0,0025 – 0,1 % srityje. Visų MAJ smalių plotai didėjo, didėjant NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai iki 0,05 - 0,06 % (3.10 pav.) Remiantis gautais rezultatais, buvo pasirinkta 0,06 % NaBEt<sub>4</sub> koncentracija.



**3.10 pav.** NaBEt<sub>4</sub> kiekio įtaka MAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, MAJ koncentracijos 5 µg/l, ekstrahentas 1,2-dichlorbenzenas, disperguojantis tirpiklis etanolis.

### *DSSME trukmė*

DSSME trukmė apibrėžiama kaip laiko tarpas nuo organinių tirpiklių mišinio įpurškimo į vandeninį tirpalą su analitėmis iki centrifugavimo pradžios. Buvo ištirtos DSSME trukmės nuo 0 iki 10 minučių. Kadangi paviršiaus plotas tarp vandeninės ir organinės fazių yra labai didelis, tai 20 – 30 s (kurios praeina nuo įpurškimo iki centrifugavimo) pilnai užtenka ekstrakcijai įvykti. Tolimesniuose tyrimuose buvo nuspręsta papildomo laiko DSSME neskirti ir susidariusią emulsiją centrifuguoti iš karto.

### *Druskų įtaka*

Analičių ekstrakcijos iš vandeninių tirpalų efektyvumą galima padidinti į vandeninį mėginio tirpalą pridendant druskos. Aplink disocijavusios druskos jonus susidaro hidratinė sfera, sumažinanti vandeninės fazės koncentraciją, kurioje tirpsta analitės, dėl to analitės lengviau pereina į ekstrahuojantį tirpiklį, t.y. druska lemia organinių junginių tirpumo vandenyje mažėjimą. Analizuojant MAJ DSSME metodu, vandeniniuose tirpaluose yra naudojama druskų ruošiant buferinį tirpalą bei vykdant derivatizaciją. Papildomai buvo

ištirta, kaip keisis ekstrakcijos efektyvumas, jei į mėginį bus pridėta dar ir natrio chlorido. Pridedant iki 0,005 g/ml NaCl, analičių ekstrakcija šiek tiek padidėjo. Tačiau tolesnis NaCl koncentracijos didinimas lėmė vandeninės fazės tankio padidėjimą. Organinės fazės tankis tapo mažesnis negu vandeninės fazės. Dėl to organinė fazė nebensėdavo į centrifuginio mėgintuvėlio dugną, bet sudarydavo ploną plėvelę virš vandeninės fazės. Siekiant to išvengti, tolesniuose eksperimentuose NaCl nebuvo naudojamas.

### ***Vidinis standartas***

Imant mažą ekstrakto tūrį (1 µl) mikrošvirkštu, galimos didelės paklaidos, nes nepavyksta visada paimti lygiai vienodo tūrio. Siekiant išvengti paklaidos, atsirandančios dėl nevienodo į dujų chromatografo garintuvą įleidžiamo ekstrakto tūrio, naudojamas vidinis standartas. Jo pridedama į ekstrahuojantį tirpiklį (1,2-dichlorbenzeną). Medžiaga, naudojama vidiniu standartu, turi atitikti šiuos reikalavimus: būti inertiška analičių ir nejudrios fazės atžvilgiu, jos sulaikymo trukmė turi būti artima analičių sulaikymo trukmėms, be to, jos smailė chromatogramoje turi pilnai atsiskirti nuo analičių smailių. Šiuos reikalavimus atitinka chlorbenzenas. 3.4 Lentelėje pateiktos analičių ir chlorbenzeno sulaikymo trukmės. Tolimesniems tyrimams kaip vidinis standartas buvo naudotas 1 µg/ml chlorbenzeno tirpalas ekstrahuojančiame tirpiklyje 1,2-dichlorbenzene. 3.5 Lentelėje pateiktos optimalios metilalavo junginių DSSME sąlygos.

### **3.4 lentelė**

Metilalavo junginių ir vidinio standarto sulaikymo trukmės

<b>Junginys</b>	<b>Sulaikymo trukmė, min</b>
TMT	2,39
DMT	3,33
Chlorbenzenas	3,46
MMT	4,34

### 3.5 lentelė

#### Metilalavo junginių DSSME optimalios sąlygos

Parametras	Vertė
Ekstrahuojantis tirpiklis, jo kiekis	1,2-dichlorbenzenas, 20 $\mu$ l
Disperguojantis tirpiklis, jo kiekis	Etanolis, 380 $\mu$ l
Vidinis standartas	Chlorbenzenas
Tirpalo pH	3
Derivatizacijos trukmė, min	10
NaEt <sub>4</sub> B kiekis	0,06 %

#### 3.1.1.4. Metodo analizės charakteristikos

Optimizavus dispersinės skysčių - skysčių mikroekstrakcijos sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas.

Rezultatų pasikartojamumas buvo įvertintas, naudojant vandeninį tirpalą, kuriame MAJ koncentracija buvo 10 ng(Sn)/l ir 20 ng(Sn)/l. DSSME buvo atliekama 5 kartus. Gautos santykinų standartinių nuokrypių vertės siekia 6,9 - 12,1 %, tai rodo, kad rezultatų pasikartojamumas yra geras.

Tiesiniam koncentracijų intervalui nustatyti buvo ruošiama serija 8 skirtingų koncentracijų standartinių MAJ tirpalų, praskiedžiant distiliuotu vandeniu pradinį standartinį tirpalą. Smailių plotų priklausomybė nuo MAJ koncentracijos buvo tiesinė nuo 0,43 ng(Sn)/l (TMT), 0,17 ng(Sn)/l (DMT) ir 0,20 ng(Sn)/l (MMT) iki 2  $\mu$ g(Sn)/l (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,998-0,999.

Aptikimo riba laikyta tokia analitės koncentracija, kuriai esant signalo ir triukšmo santykis yra 3. Tyrimų rezultatai pateikti 3.6 lentelėje.

### 3.6 lentelė

Metilalavo junginių aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus DSSME

Analitė	Aptikimo riba, ng(Sn)/l	RSD, % (n=5)	
		10 ng(Sn)/l	20 ng(Sn)/l
MMT	0,06	10,5	8,9
DMT	0,05	11,0	6,9
TMT	0,13	12,1	8,5

#### 3.1.2. Metilalavo junginių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu

##### 3.1.2.1. MEŠTL sąlygų optimizavimas

Ankstesniame skyriuje pasiūlytas DSSME metodas greitas ir jautrus, tačiau ekstrakcijai naudojamas chloro turintis organinis tirpiklis 1,2-dichlorbenzenas, kurio, saugant aplinką, reikėtų vengti. Deja, dispersinėje skysčių - skysčių mikroekstrakcijoje dauguma ekstrahentų yra chloro turintys junginiai. Dėl šios priežasties metilalavo junginių ekstrakcijai buvo iširtas kitas mikroekstrakcijos būdas – mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu.

Taikant mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu metodą yra naudojami ekstrahentai, kurių lydymosi temperatūra artima kambario temperatūrai. Metodas patogus tuo, kad užšaldytą ekstraktą lengva atskirti nuo mėginio. Be to, analizuojant ekstraktą dujų chromatografijos metodu, aukštos virimo temperatūros ekstrahentas yra lengvai atskiriamas nuo lakesnių analičių.

Lyginant su kitais ekstrakcijos metodais, didžiausi MEŠTL privalumai yra paprastumas, nedidelė analizės kaina bei mažas kenksmingumas aplinkai. Pagrindiniai metodo trūkumai – ilga ekstrakcijos trukmė (dažniausiai ekstrakcija vykdoma 30 – 60 min) bei reikalavimai nustatomoms analitėms.

**MEŠTL metodas iki šiol nebuvo pritaikytas organinių alavo junginių nustatymui.**

Pagrindiniai veiksniai, turintys įtakos mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu efektyvumui yra ekstrahuojančio tirpiklio rūšis ir jo kiekis,



analizuojamo tirpalo temperatūra, pH, ekstrakcijos trukmė bei druskų koncentracija tirpale [97, 98].

### ***Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis***

Ekstrahento parinkimas yra vienas iš svarbiausių etapų optimizuojant mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu sąlygas. Tinkamai parinktas ekstrahuojantis tirpiklis pagerina ekstrakcijos efektyvumą. Taikant šį ekstrakcijos metodą, ekstrahentas turi tenkinti kelis reikalavimus. Pirmiausiai, jis turi gerai ekstrahuoti analites, netirpti vandenyje, pasižymėti aukšta virimo temperatūra ir mažu garų slėgiu, siekiant sumažinti garavimo tikimybę ekstrakcijos metu. Be to, ekstrahuojančio tirpiklio lydymosi temperatūra turi būti artima kambario temperatūrai (10 – 30 °C), o analitės ir tirpiklio smailės chromatogramoje turi gerai atsiskirti viena nuo kitos.

Metilalavo junginių mikroekstrakcijai buvo išbandyti penki ekstrahentai: *n*-heksadekanas, *n*-heptadekanas, 1-undekanolis, 1-dodekanolis ir 2-dodekanolis. Šių organinių tirpiklių fizinės savybės pateiktos 3.7 lentelėje.

### **3.7 lentelė**

Ekstrahuojančių tirpiklių fizinės savybės

<b>Tirpiklis</b>	<b>Lydymosi temperatūra, °C</b>	<b>Virimo temperatūra, °C</b>	<b>Tankis, g/ml</b>
<i>n</i> -Heksadekanas	18	287	0,77
<i>n</i> -Heptadekanas	22	303	0,78
1-Undekanolis	14	243	0,83
1-Dodekanolis	23	259	0,83
2-Dodekanolis	18	249	0,83

3.7 Lentelėje pateikti duomenys rodo, kad visi ekstrahentai yra lengvesni už vandenį, o jų lydymosi temperatūros artimos kambario temperatūrai. Be to, visų tirtų medžiagų virimo temperatūros leidžia šias medžiagas leisti į dujų chromatografą, todėl ekstrahento pasirinkimą lėmė analičių ekstrakcijos efektyvumas.

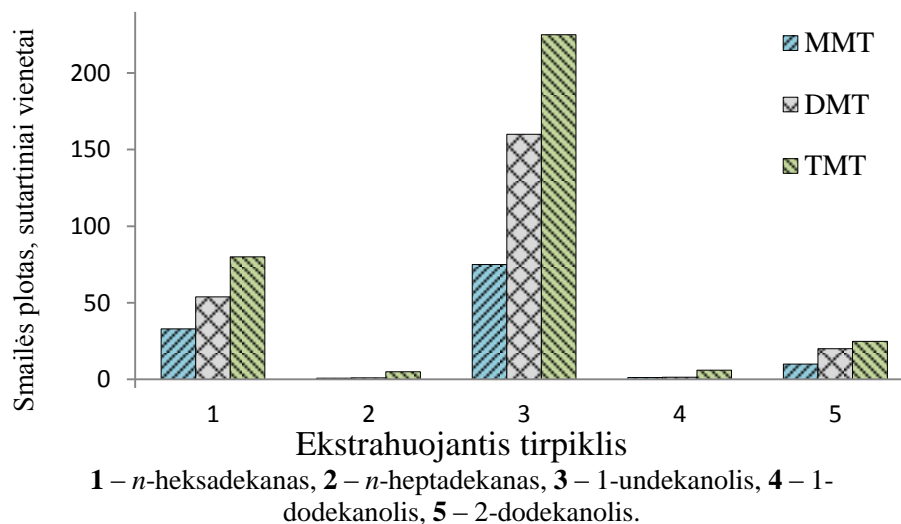
Kaip jau buvo minėta ankstesniuose skyriuose, prieš atliekant dujų chromatografinę analizę, metilalavo junginius būtina paversti lakesniais junginiais, t.y. atlikti derivatizaciją. MAJ derivatizavimui, taikant MEŠTL, buvo pritaikytos tos pačios derivatizavimo sąlygos, kaip DSSME atveju. Optimalios MAJ derivatizavimo sąlygos pateiktos 3.5 lentelėje. Dujų chromatografinio nustatymo sąlygos buvo tokios pačios, kaip atlikus ekstrakciją DSSME metodu, šios sąlygos pateiktos 3.1 lentelėje.

Siekiant pasirinkti tinkamiausią ekstrahentą, tyrimams buvo naudojamas 1 µg/ml metilalavo junginių vandeninis tirpalas. MAJ buvo derivatizuoti tokiomis sąlygomis: į 15 ml vandeninio MAJ tirpalo buvo pilama 180 µl 5 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalo (tai atitinka 0,06 % NaBEt<sub>4</sub> MAJ tirpale) ir laikoma 10 min. Tada mikrošvirkštu įleidžiama 50 µl tiriamo ekstrahento, indelis statomas ant magnetinės maišyklės ir ekstrahuojama 15 min. Po to indelis su mėginiu dedamas į ledo vonią ir laikomas, kol ekstrahentas su analitėmis užšąla. Užšalęs ekstrahento lašas išimamas iš tirpalo į mažą indelį konusiniu dugnu ir išlydomas. Mikrošvirkštu imamas 1 µl ekstrakto ir rankiniu būdu įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą.

Kaip matyti iš 3.11 pav. pateiktų duomenų, blogiausiai analites ekstrahavo *n*-heptadekanas ir 1-dodekanolis. Iš pirmo žvilgsnio gauti rezultatai keisti, nes buvo tikėtasi, kad izomerų ekstrakcinis efektyvumas bus panašus. Tačiau rezultatai parodė, kad *n*-heksadekanas ekstrahuoja analites žymiai geriau, negu *n*-heptadekanas, o 2-dodekanolis geriau negu 1-dodekanolis. Geriausiai analites ekstrahavo 1-undekanolis. Tai galima paaiškinti skirtingomis ekstrahentų lydymosi temperatūromis (žr. 3.7 lentelę).

*n*-Heptadekano ir 1-dodekanolio lydymosi temperatūros buvo aukštesnės, negu temperatūra laboratorijoje, taigi ekstrakcijos metu šie ekstrahentai buvo kieti ir ekstrakcija vyko ne dėl analičių pasiskirstymo tarp vandeninės ir skystos organinės fazių, o dėl analičių adsorbcijos ant kietos organinės medžiagos paviršiaus. *n*-Heksadekanas ir 2-dodekanolis buvo skystame būvyje, bet vandeninio tirpalo temperatūra buvo artima jų lydymosi temperatūrai, todėl ekstrahentai buvo klampūs ir analitės sunkiau į juos

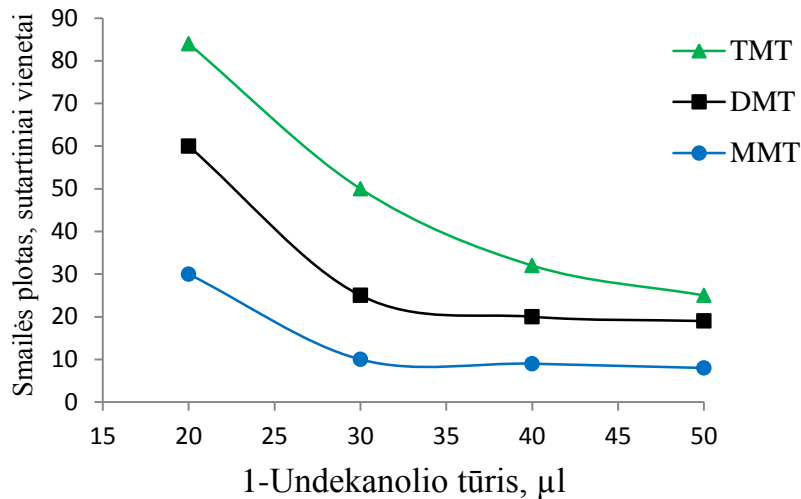
prasiskverbė. Geriausiomis ekstrakcinėmis savybėmis pasižymėjo žemiausios lydymosi temperatūros 1-undekanolis, šis tirpiklis geriausiai tiko chromatografinėi analizei, nes jo virimo temperatūra mažesnė nei kitų ekstrahentų, todėl iš chromatografinės kolonėlės jis išeina anksčiau ir analizė yra trumpesnė. Dėl šių priežasčių ekstrahentu buvo pasirinktas 1-undekanolis.



**3.11 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio prigimties poveikis MAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, MAJ koncentracijos 1 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,06%, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrakcijos trukmė 15 min.

#### *Ekstrahuojančiojo tirpiklio tūris*

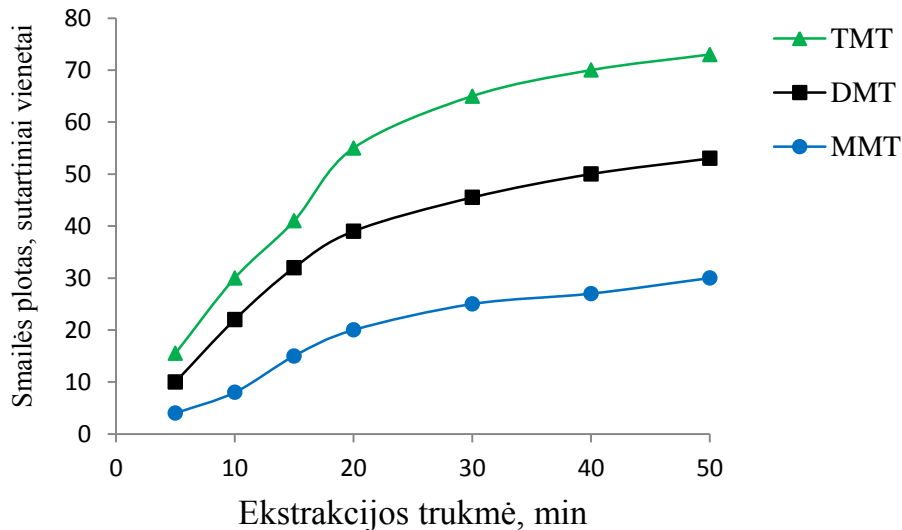
Optimalus ekstrahento tūris buvo nustatytas į 15 ml vandeninio derivatizuotų metilalavo junginių tirpalo (analičių koncentracija 1 µg/l) pilant 10 – 50 µl 1-undekanolio ir ekstrahuojant 15 min. Imant 10 ir 15 µl ekstrahento, po ekstrakcijos jo nepavyko surinkti tiek, kad būtų galima chromatografinėi analizei paimti 1 µl ekstrakto. Rezultatai, gauti naudojant 20 – 50 µl 1-undekanolio, pateikti 3.12 pav. Kuo didesnis ekstrahento kiekis buvo imamas ekstrakcijai, tuo mažesnė buvo analičių koncentracija ekstrahento laše. Kadangi analizei visada buvo imamas 1 µl ekstrakto, mažėjant analičių koncentracijai, mažėjo ir analičių smailių plotai. Tolimesniam darbui buvo pasirinktas 20 µl 1-undekanolio tūris.



**3.12 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio (1-undekanolio) kiekio įtaka MAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, MAJ koncentracija 1 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,06 %, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrakcijos trukmė 15 min.

### *Ekstrakcijos trukmė*

Ekstrakcijos trukmė buvo keičiama nuo 5 iki 50 min. Didžiausias ekstrakcijos efektyvumas pasiekiamas, kai nusistovi analičių pusiausvyra tarp ekstrahuojančio tirpiklio ir mėginio. Iš 3.13 pav. pateiktų duomenų matyti, kad net po 50 min pusiausvyros pasiekti nepavyko, smailių plotai vis didėjo. Norint, kad analizė nebūtų labai ilga, bet ekstrakcijos efektyvumas būtų geras, buvo pasirinkta 30 min ekstrakcijos trukmė. Šios ekstrakcijos trukmės pakanka aukštam ekstrakcijos efektyvumui pasiekti, tačiau dirbant ne pusiausvyros sąlygom, būtina išlaikyti pastovią ekstrakcijos trukmę.



**3.13 pav.** Ekstrakcijos trukmės įtaka MAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, MAJ koncentracija 1  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,06 %, derivatizacijos trukmė 10 min.

Buvo ištirta galimybė apjungti derivatizacijos procedūrą ir ekstrakciją, tam buvo atlikti du matavimai. Iš pradžių derivatizacija buvo vykdyta 10 min, o ekstrakcija 1-undekanoliu 30 min, paskui ekstrakcija 1-undekanoliu buvo pradėta iš karto įpylus derivatizacijos reagento, ekstrakcija truko 30 min. Atlikus ekstraktų analizę buvo nustatyta, kad analičių smailių plotai abiem atvejais panašūs. Tai leido apjungti derivatizacijos ir ekstrakcijos procedūrą ir taip sutrumpinti bendrą analizės trukmę.

### ***Vidinis standartas***

Kaip jau buvo minėta anksčiau, gautas ekstrakto tūris yra labai mažas ir jo nepakanka, norint į chromatografą mėginį leisti automatiškai. Antra vertus, sunku tiksliai paimti 1  $\mu\text{l}$  mėginio rankiniu būdu, dėl to gaunamos analizės paklaidos. Siekiant panaikinti paklaidą, atsirandančią dėl paimto nevienodo ekstrakto tūrio, į ekstrahentą patartina dėti vidinio standarto. Tada analičių koncentracijos skaičiavimui būtų naudojami ne absoliutūs analičių smailių plotai, o analitės smailės ploto ir vidinio standarto smailės ploto santykis.

Vidiniu standartu naudojama medžiaga turi būti inertiška analizuojamiems komponentams bei nejudriai fazei, jos sulaikymo trukmė turi būti artima nustatomų komponentų sulaikymo trukmėms, jos smailė chromatogramoje turi pilnai atsiskirti nuo kitų analizuojamų mėginio komponentų smailių. Be to pageidautina, kad vidinio standarto smailė išeitų chromatogramos viduryje, tarp analičių smailių. Vidinis standartas turi netirpti vandenyje. Parenkant vidinį standartą buvo išbandyti *n*-oktanai, *n*-nonanai, *n*-dekanai ir chlorbenzenai. Pasirinktomis chromatografinio nustatymo sąlygomis gautos šių medžiagų sulaikymo trukmės ir analičių sulaikymo trukmės pateiktos 3.8 lentelėje.

### 3.8 lentelė

Metilalavo junginių ir potencialių vidinių standartų sulaikymo trukmės

<b>Junginys</b>	<b>Sulaikymo trukmė, min</b>
TMT	2,39
DMT	3,33
Chlorbenzenas	3,46
<i>n</i> -Nonanas	4,06
MMT	4,34
<i>n</i> -Dekanas	4,90
<i>n</i> -Dodekanas	6,09

Kaip matyti iš 3.8 lentelėje pateiktų duomenų, tarp analičių smailių išeina chlorbenzenas ir *n*-nonanas. Tačiau chlorbenzenas geriau tirpus vandenyje, negu *n*-nonanas (chlorbenzeno tirpumas 0,5 g/l, *n*-nonano tirpumas 0,2 mg/l), be to chlorbenzenas yra labiau toksiškas. Todėl tolimesniems tyrimams kaip vidinis standartas buvo pasirinktas *n*-nonanas (1 μg/ml tirpalas ekstrahuojančiame tirpiklyje).

3.9 Lentelėje pateiktos optimalios metilalavo junginių MEŠTL sąlygos.

### 3.9 lentelė

#### Metilalavo junginių MEŠTL optimalios sąlygos

Parametras	Vertė
Ekstrahuojantis tirpiklis, jo kiekis	1-undekanolis, 20 $\mu$ l
Vidinis standartas	<i>n</i> -nonanas
Derivatizacijos ir ekstrakcijos trukmė	30 min

#### 3.1.2.2. Metodo analizinės charakteristikos

Optimizavus mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas.

Kalibracinės kreivės buvo gaunamos į DCh įleidus 5 skirtingų koncentracijų standartinių derivatizuotų metilalavo junginių vandeninių tirpalų ekstraktus. Kalibracinės kreivės buvo tiesinės nuo 521 ng(Sn)/l (MMT), 231 ng(Sn)/l (DMT) ir 92 ng(Sn)/l (TMT) iki 1 mg(Sn)/l (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,994 – 0,995.

Rezultatų pasikartojamumui nustatyti buvo imti dviejų koncentracijų (1,0 ir 10,0  $\mu$ g(Sn)/l) standartiniai metilalavo junginių tirpalai ir analizė atlikta penkis kartus. Santykinio standartinio nuokrypio ( $s_r$ ) vertės bei MAJ aptikimo ribos pateiktos 3.10 lentelėje. Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, rezultatai truputį geriau pasikartoja, kai analičių koncentracijos didesnės. Kai analičių koncentracijos 1,0  $\mu$ g(Sn)/l, santykinis standartinis nuokrypis siekia iki 23,7 %. Šie duomenys leidžia teigti, kad tirtuoju metodu gautų rezultatų pasikartojamumas nėra geras.

### 3.10 lentelė

MAJ aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus MEŠTL

Analitė	Aptikimo riba, ng(Sn)/l	RSD, % (n = 5)	
		10 µg(Sn)/l	1,0 µg(Sn)/l
MMT	158	18,1	23,7
DMT	70	20,5	22,4
TMT	28	18,2	22,8

Nustačius DSSME bei MEŠTL metodikų pagrindines analizes charakteristikas buvo padaryta išvada, kad geresni rezultatai yra pasiekiami metilalavo junginius analizuojant DSSME metodu, nepaisant to, kad yra naudojamas aplinkai kenksmingas 1,2-dichlorbenzenas (lentelė 3.11). Atsižvelgiant į žymiai geresnes DSSME analizes charakteristikas, realių mėginių analizei buvo pasirinktas šis metodas ir daroma prielaida, kad sunaudojamas 1,2-dichlorbenzenas kiekis (20 µl) yra toks mažas, kad realios žalos aplinkai ir žmonių sveikatai nebus padaryta.

### 3.11 lentelė

MAJ nustatymo, taikant DSSME ir MEŠTL, aptikimo ribų palyginimas

Analitė	Aptikimo riba, ng(Sn)/l	
	DSSME	MEŠTL
MMT	0,06	158
DMT	0,05	70
TMT	0,13	28

#### 3.1.3. Metilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose

Pasiūlytas DSSME metodas buvo pritaikytas MAJ nustatymui upių vandens mėginiuose. Analizei buvo paimti mėginiai iš keturių Lietuvos upių:



Nemuno netoli Rusnės, Skirvytės netoli Rusnės, Šventosios žiotyse ir Akmenos žiotyse. Tyrimo rezultatai parodė, kad šių upių mėginiuose metilalavo junginių nėra arba jų koncentracijos mažesnės už aptikimo ribas. Siekiant įvertinti matricos efektą, buvo pritaikytas priedo metodas. Į vandens mėginius buvo pridėta 10 ir 20 ng(Sn)/l tirtų MAJ. Gauti rezultatai buvo palyginti su distiliuoto vandens mėginių rezultatais su priedais. Santykinės išėigos vertės buvo nustatomos, kaip koncentracijų, nustatytų realiuose ir distiliuoto vandens mėginiuose su tokiais pat analičių priedais, santykis. Duomenys (3.12 lentelė) rodo, kad upės vandens matrica turi mažai reikšmės ekstrakcijos efektyvumui.

### 3.12 lentelė

Metilalavo junginių nustatymo realiuose mėginiuose rezultatai

Priedai, ng(Sn)/l	MMT		DMT		TMT	
	10	20	10	20	10	20
<b>Distiliuotas vanduo</b>						
Nustatyta vertė	9,8	20,3	10,1	19,7	9,7	20,6
RSD, %	7,1	6,4	7,9	8,2	10,3	8,2
<b>Nemunas</b>						
Nustatyta vertė	9,2	19,6	9,5	20,8	10,5	20,3
Santykinė išeiga, %	94	97	94	106	108	99
RSD, %	9,8	8,7	10,5	9,1	10,4	9,4
<b>Skirvytė</b>						
Nustatyta vertė	10,4	20,8	10,8	20,2	9,3	19,1
Santykinė išeiga, %	106	102	107	103	96	93
RSD, %	11,5	9,1	12,0	7,4	12,6	6,8
<b>Šventoji</b>						
Nustatyta vertė	9,3	18,9	9,0	20,4	9,5	19,9
Santykinė išeiga, %	95	93	89	104	98	97
RSD, %	12,9	10,6	12,2	9,3	10,5	8,5
<b>Akmėna</b>						
Nustatyta vertė	9,6	21,3	10,6	18,9	9,0	18,7
Santykinė išeiga, %	98	105	105	96	93	91
RSD, %	11,4	9,9	12,3	11,1	12,5	9,6

## 3.2. Butilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas

### 3.2.1. Butilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija

#### 3.2.1.1. Butilalavo junginių derivatizacija

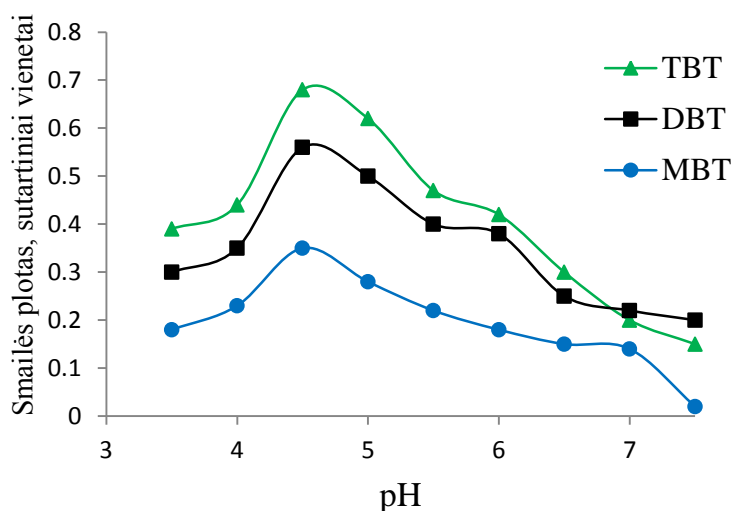
Kaip jau buvo minėta skyriuje apie metilalavo junginių nustatymą, prieš dujų chromatografinę analizę alavo organinius junginius būtina derivatizuoti. Optimalios pradinio BAJ dujų chromatografinio perskyrimo sąlygos buvo parinktos naudojant derivatizuotą BAJ ekstraktą *n*-heksane. Ekstraktas buvo ruošiamas taip: į 25 ml 10 µg/l vandeninį BAJ tirpalą įpilta 100 µl 10 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalo (tai atitinka 0,04 % NaBEt<sub>4</sub> BAJ tirpale), derivatizacija vyko 15 min, po to 2 min tirpalas buvo intensyviai purtomas su 1 ml *n*-heksano. Ekstraktas buvo perkeltas į mėginių ėmimo buteliuką ir automatiškai įleistas į dujų chromatografo garintuvą.

Naudojant taip paruoštą ekstraktą buvo parinktos chromatografinio perskyrimo sąlygos, tinkančios BAJ. Analitės gerai persiskyrė taikant chromatografinės kolonėlės temperatūros programą: pradinė temperatūra 80 °C, laikoma 3 min, po to temperatūra keliama 25 °C/min greičiu iki 210 °C, o tada 40 °C/min greičiu iki 250 °C, ši temperatūra palaikoma dar 3 min.

Parinkus chromatografinės kolonėlės temperatūrinę programą bei taikant pilno skenavimo masių spektrometrinį detektavimą buvo nustatyta optimali derivatizacijos pH vertė bei derivatizacijos trukmė.

#### *Derivatizacijos pH*

BAJ derivatizacija vandeniniuose tirpaluose dažniausiai vykdoma pH srityje nuo 4 iki 6 [4]. Buvo ištirta BAJ derivatizacijos su NaBEt<sub>4</sub> reakcijos priklausomybė nuo terpės pH, pH keičiant nuo 3,5 iki 7,5. Butilalavo junginių ekstrakto ruošimo sąlygos tokios kaip aprašyta aukščiau. Tyrimo rezultatai pateikti 3.14 paveiksle.

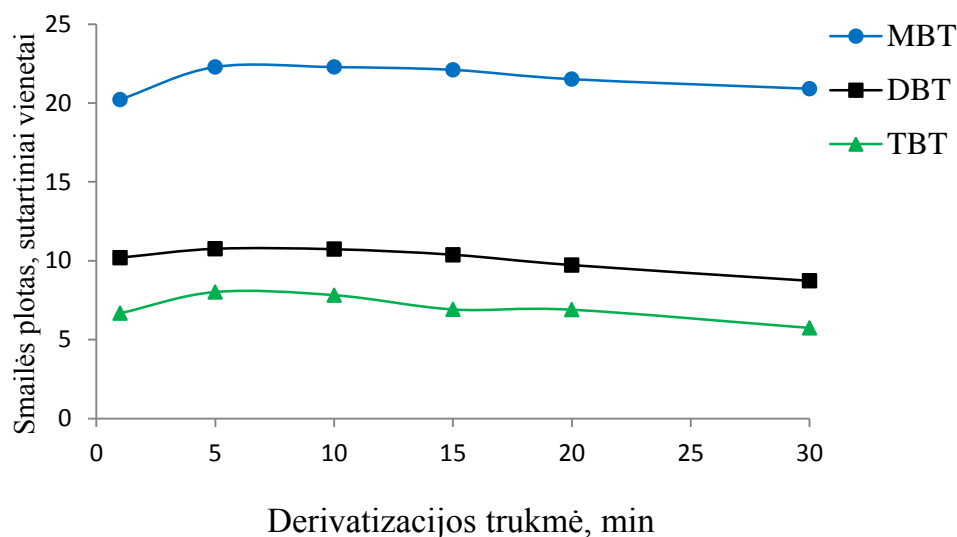


**3.14 pav.** pH vertės įtaka BAJ derivatizacijai. Mėginio tūris 25 ml, BAJ koncentracija 10  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min, ekstrahentas *n*-heksanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

Iš 3.14 pav. pateiktų duomenų matyti, kad keičiant terpės pH nuo 3,5 iki 4,5 smailių plotai palaipsniui didėja, tačiau toliau didinant vandeninių standartinių BAJ tirpalų pH, smailių plotai eksponentiškai mažėja ir nebepadidėja, tikriausiai tai lemia tai, kad tirpale pradeda vyrauti butilalavo-hidroksi kompleksai ir derivatizacija neįvyksta. Optimali pH vertė BAJ derivatizacijai yra 4,5.

#### ***Derivatizacijos trukmė***

Siekiant optimizuoti BAJ derivatizacijos natrio tetraetilboratu trukmę, buvo atlikta serija matavimų, derivatizacijos trukmę keičiant nuo 1 iki 30 min. Iš 3.15 pav. pateiktų duomenų galima matyti, kad BAJ derivatizacija įvyksta per keletą minučių. Didinant derivatizacijos trukmę nuo 1 iki 5 min, BAJ smailių plotai šiek tiek padidėja, tačiau derivatizaciją vykdant 10 min ar ilgiau BAJ smailių plotai nesikeičia. Remiantis gautais duomenimis, tolimesniam darbui buvo pasirinkta 5 min derivatizacijos trukmė.



**3.15 pav.** Derivatizacijos trukmės įtaka BAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 25 ml, BAJ koncentracija 10 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, ekstrahentas *n*-heksanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

### 3.2.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas

Nustačius optimalią derivatizacijos pH bei trukmę, buvo optimizuotos butilalavo junginių chromatografinio nustatymo bei masių spektrometrinio detektavimo sąlygos. Visų pirma, buvo parinktas kitas ekstrahavimo tirpiklis, nes *n*-heksanas yra netinkamas naudoti kaip DSSME ekstrahuojantis tirpiklis, nes neatitinka keliamų reikalavimų. Preliminarūs tyrimai parodė, kad geriausias BAJ ekstrahentas DSSME buvo anglies tetrachloridas. Optimalios BAJ chromatografinio nustatymo sąlygos pateiktos 3.13 lentelėje.

Prieš optimizuojant DSSME metodą, buvo pakeistos masių spektrometrinio detektavimo sąlygos. Buvo pritaikytas SIR režimas, kuomet yra matuojami tik konkrečias impulso *m/z* vertes turintys jonai. Buvo pasirinkta matuoti po tris būdingas butilalavo junginių *m/z* vertes (3.14 lentelė).

### 3.13 lentelė

Optimalios butilalavo junginių chromatografinio perskyrimo sąlygos

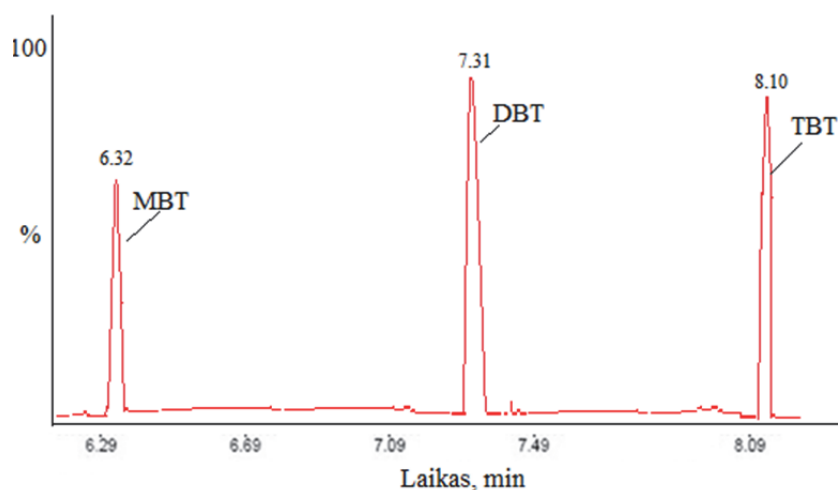
Parametras	Vertė
Pradinė kolonėlės temperatūra, $T_0$	80 °C
Temperatūros ( $T_0$ ) išlaikymas	3 min
Temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_0$ iki $T_1$ )	25 °C/min
Kolonėlės temperatūra, $T_1$	210 °C
Temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_1$ iki $T_2$ )	40 °C/min
Kolonėlės temperatūra, $T_2$	250 °C
Temperatūros ( $T_2$ ) išlaikymas	3 min
Bendra chromatografinės analizės trukmė	12,2

### 3.14 lentelė

Derivatizuotų butilalavo junginių MS SIR režime nustatomi jonai

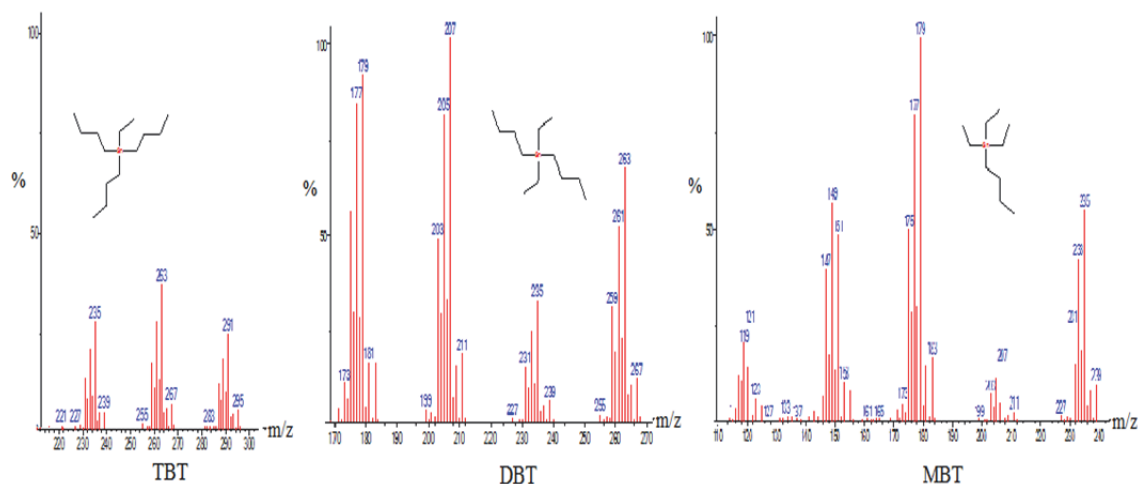
Analitė	m/z
MBT	121, 179, 235
DBT	179, 235, 263
TBT	235, 263, 291

Taikant 3.13 lentelėje pateiktas chromatografinio perskyrimo sąlygas gauta chromatograma pateikta 3.16 pav., teoriniai masių spektrai pateikti 3.17 pav.



**3.16 pav.** Derivatizuotų butilalavo junginių ekstrakto chromatograma.

### 3.17 pav. Derivatizuotų butilalavo junginių teoriniai masių spektrai.



#### 3.2.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas

##### *Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis*

Siekiant užtikrinti gerą ekstrakcijos efektyvumą ir aukštus sukonzentravimo laipsnius, vienas svarbiausių etapų yra tinkamų tirpiklių parinkimas. Butilalavo junginių ekstrakcijai po derivatizacijos buvo išbandyti trys tirpikliai, kurie atitinka visus DSSME ekstrahentams keliamus reikalavimus: anglies tetrachloridas, chlorbenzenas ir brombenzenas (3.15 lentelė).

#### 3.15 lentelė

Ekstrahuojančiųjų tirpiklių fizikinės savybės

Tirpiklis	Tankis, g/ml	Tirpumas vandenyje, g/l	Virimo temperatūra, °C
Anglies tetrachloridas	1,58	0,8	76,5
Chlorbenzenas	1,11	0,5	132
Brombenzenas	1,49	0,4	156

DSSME buvo atliekama taip: į 8 ml vandeninio 5 µg/l butilalavo junginių tirpalo, kurio pH 4,5, įpilta 100 µl 10 % NaBEt<sub>4</sub>, palaikyta 10 min. Tada išvirkšta 550 µl mišinio, sudaryto iš 500 µl acetono ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio (anglies tetrachlorido, chlorbenzeno arba brombenzeno) ir centrifuguota 3 min 5000 aps./min greičiu. Mikrošvirštu paimtas 1 µl ekstrakto (iš apatinio sluoksniu) ir rankiniu būdu įleistas į dujų chromatografo garintuvą.

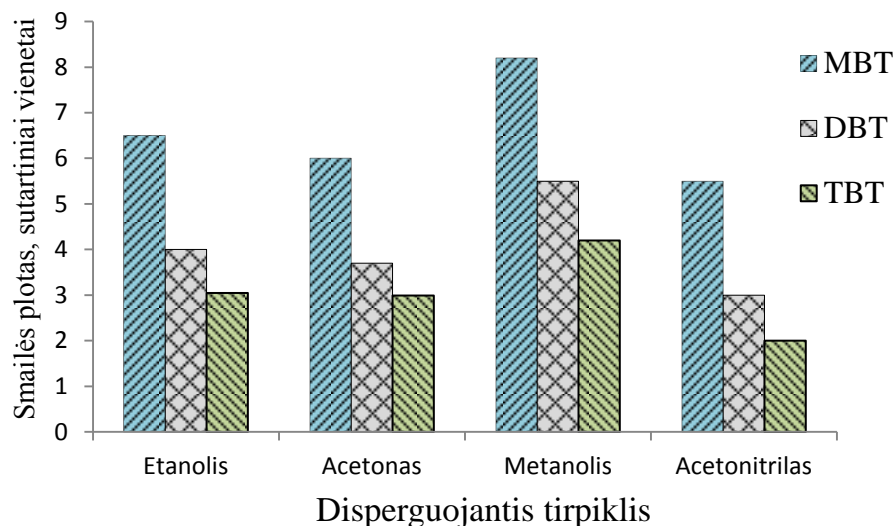
Palyginus gautas chromatogramas buvo nustatyta, kad naudojant anglies tetrachloridą yra pasiekiamas didžiausias ekstrakcijos efektyvumas, todėl šis tirpiklis ir buvo pasirinktas ekstrahentu tolimesniems tyrimams.

### ***Disperguojančio tirpiklio prigimtis***

Disperguojantis tirpiklis turi būti pilnai tirpus vandenyje, tad dažniausiai yra naudojami acetonas, metanolis, acetonitrilas arba etanolis, šie tirpikliai buvo pritaikyti butilalavo junginių DSSME analizėje.

Buvo atlikta DSSME ir DCh-MS analizė aukščiau aprašytu būdu. Ekstrakcijai buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 500 µl disperguojančio tirpiklio (acetono, acetonitrilo, metanolio arba etanolio) ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio anglies tetrachlorido. Šio tyrimo metu gauti duomenys yra pateikti 3.18 pav., iš kurio matyti, kad šiek tiek didesnis ekstrakcijos efektyvumas buvo pasiektas naudojant metanolį, todėl metanolis buvo pasirinktas disperguojančiu tirpikliu.

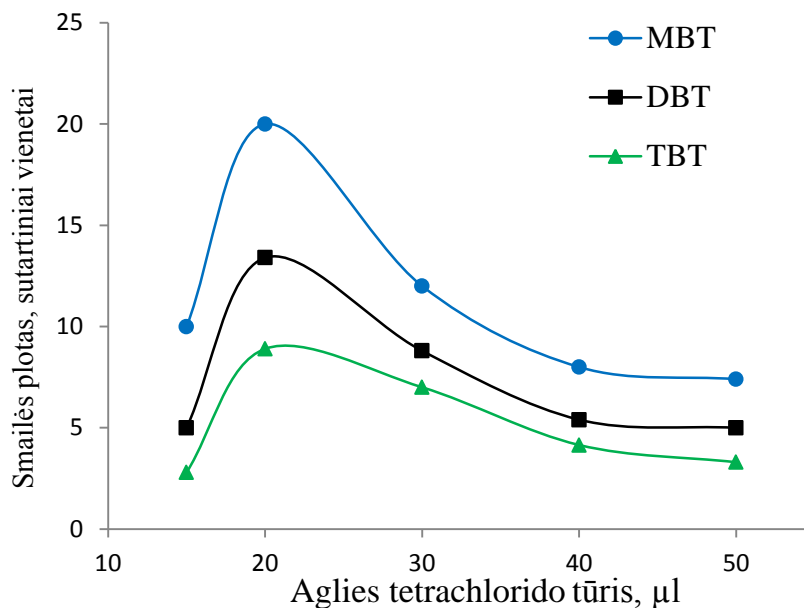




**3.18 pav.** Disperguojančio tirpiklio prigimties poveikis BAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, BAJ koncentracijos 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBe}_4$  koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrahentas anglies tetrachloridas.

#### *Ekstrahuojančio tirpiklio tūris*

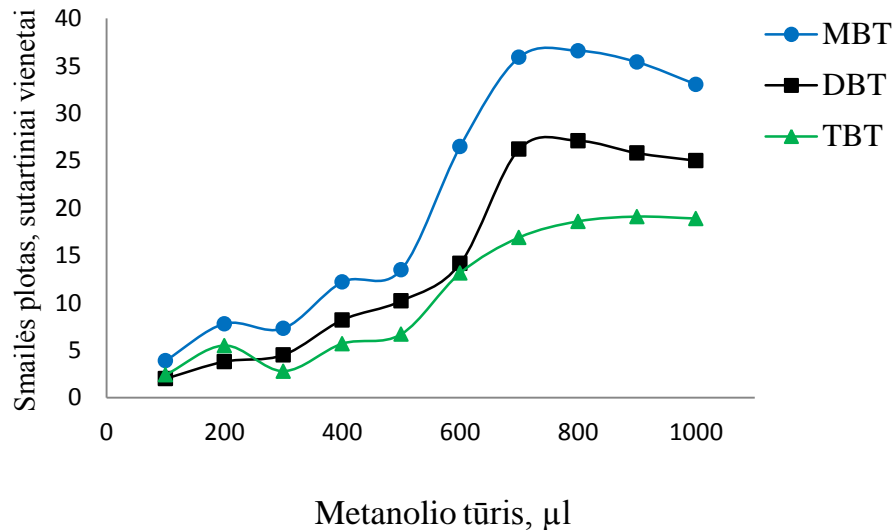
Ieškant optimalaus ekstrahuojančio tirpiklio anglies tetrachlorido tūrio buvo atliekama visa analizės procedūra aukščiau aprašytu būdu, tik keičiant anglies tetrachlorido tūrį. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.19 pav., iš kurio matyti, jog mažėjant anglies tetrachlorido tūriui, butilalavo junginių smailių plotai didėja, nes didėja analičių sukonzentravimas. Tačiau esant 15  $\mu\text{l}$  tūriui, plotai sumažėja greičiausiai dėl to, jog sunku iš tokio mažo tūrio paimti 1  $\mu\text{l}$  ekstrakto įleidimui į dujų chromatografą. Tikėtina, kad dalis anglies tetrachlorido nusėda ant centrifuginio mėgintuvėlio sienelių, tad drauge su anglies tetrachlorido mikrošvirkštu galėjo būti paimta ir vandeninė fazė. Tolimesniems tyrimams buvo nuspėta imti 20  $\mu\text{l}$  anglies tetrachlorido, nes jam esant gaunamas didžiausias analizinis signalas.



**3.19 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio (anglies tetrachlorido) kiekio įtaka BAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, BAJ koncentracija 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 10 min, disperguojantis tirpiklis metanolis.

### *Disperguojančio tirpiklio tūris*

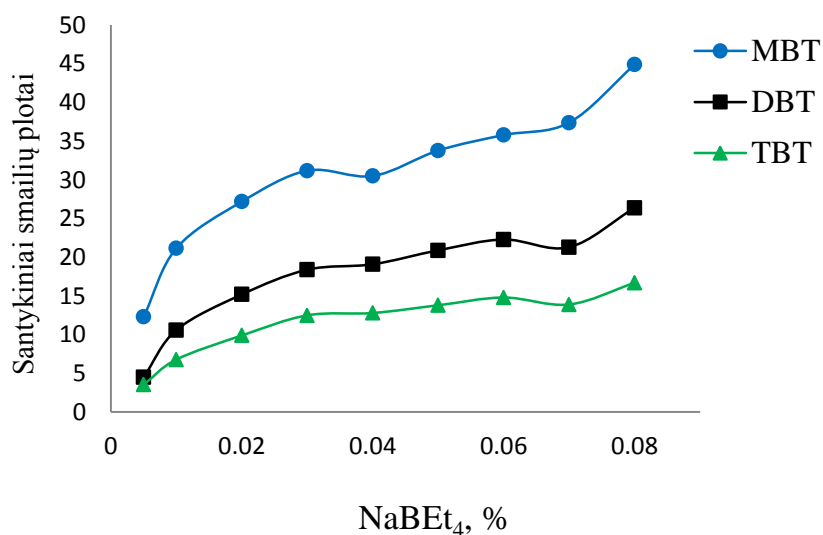
Disperguojančio tirpiklio metanolio tūrio įtaka analizei buvo nustatoma palaikant pastovų anglies tetrachlorido tūrį (20  $\mu\text{l}$ ), bet keičiant metanolio tūrį (nuo 80 iki 980  $\mu\text{l}$ ). Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.20 pav., iš kurio matyti, jog didžiausias analizinis signalas gaunamas, kai metanolio tūris yra 800  $\mu\text{l}$ , nes esant mažam metanolio tūriui, susidaranti emulsija yra nestabili. Todėl tolimesniame darbe buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 20  $\mu\text{l}$  anglies tetrachlorido ir 0,78 ml metanolio, t.y. bendras tirpiklių tūris 0,8 ml – tai tūris, kurį patogiau paimti švirkštu ir su dideliu spaudimu suleisti į mėgintuvėlį su vandeniniu BAJ tirpalu.



**3.20 pav.** Disperguojančio tirpiklio (metanolio) kiekio įtaka BAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, BAJ koncentracija 5  $\mu\text{g/l}$ , NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 10 min, ekstrahentas anglies tetrachloridas.

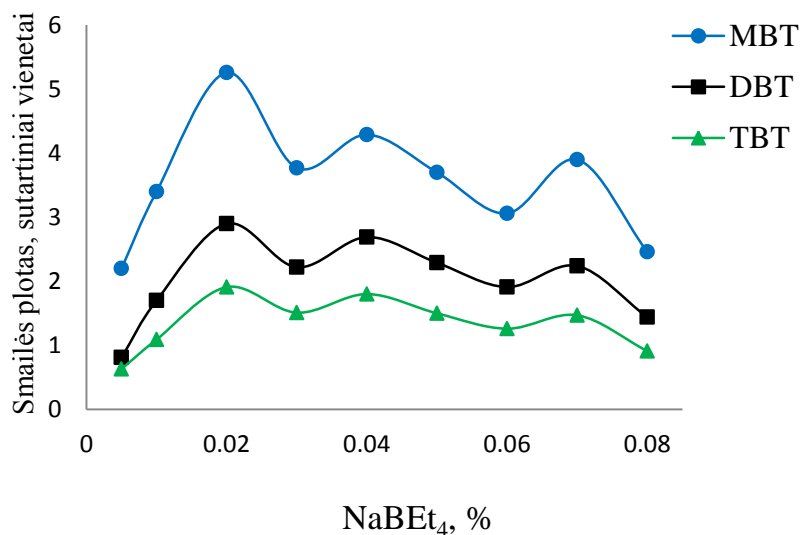
#### *NaBEt<sub>4</sub> koncentracija*

Visi aukščiau aprašyti tyrimai buvo atlikti derivatizacijos reagento NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai vandeniniame tirpale esant 0,04 %. Optimizavus DSSME sąlygas, papildomai buvo ištirta NaBEt<sub>4</sub> kiekio įtaką butilalavo junginių analiziniams signalams. Analizė buvo atliekama aukščiau aprašytu būdu, kiekvieną kartą pridedant į BAJ vandeninį tirpalą tą patį tūrį NaBEt<sub>4</sub> tirpalo, bet keičiant jo koncentraciją nuo 0,005 iki 0,08 %. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.21 pav.



**3.21 pav.** NaBEt<sub>4</sub> kiekio įtaka BAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, BAJ koncentracijos 5 μg/l, ekstrahentas anglies tetrachloridas, disperguojantis tirpiklis metanolis.

Didėjant NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai, didėja ir BAJ santykiniai smailių plotai (BAJ smailės ploto ir vidinio standarto smailės ploto santykis). Tai rodo, kad drauge su NaBEt<sub>4</sub> koncentracija didėja derivatizacijos reakcijos išeiga. Antra vertus, esant didelei NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai (virš 0,04 %), absoliutūs BAJ smailių plotai akivaizdžiai mažėja (3.22 pav.) Tai rodo, kad daugėjant NaBEt<sub>4</sub> mažėja DSSME efektyvumas. Iš 3.22 pav. matyti, jog nors signalai ir šiek tiek kinta (dėl nevienodo tūrio paėmimo), tačiau bendra tendencija aiški: pradžioje didėjant NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai analizinis signalas didėja, bet NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai pasiekus 0,02 – 0,04 % signalas išlieka praktiškai pastovus (ypač DBT ir TBT atveju). Tad tolimesniems tyrimams buvo nuspręsta naudoti 80 μl 2 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalą, t. y. 0,02 % NaBEt<sub>4</sub> vandeniniame BAJ tirpale.



**3.22 pav.** NaBEt<sub>4</sub> kiekio įtaka BAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, BAJ koncentracijos 5 μg/l, ekstrahentas anglies tetrachloridas, disperguojantis tirpiklis metanolis.

### *Druskų įtaka*

Taikant DSSME butilalavo junginių nustatymui yra naudojama druska atitinkamo pH palaikymui bei derivatizacijai, tačiau buvo ištirta papildomų druskų įtaka butilalavo junginių ekstrakcijai tam tikslui panaudojant NaCl druską. Buvo paruošti 10 μg/l butilalavo junginių tirpalai vandenyje su skirtinga NaCl koncentracija (nuo 0,1 iki 0,35 g/ml). Tokie tirpalai buvo derivatizuoti ir ekstrahuoti DSSME aukščiau aprašytu būdu.

Nustatyta, jog didėjant NaCl koncentracijai, analizinis signalas šiek tiek mažėja, o esant arti sotaus tirpalo (300–350 g/l) dar labiau sumažėja. Tad tolimesniems tyrimams NaCl nebuvo naudotas. Šie rezultatai atitinka literatūroje rastus duomenis apie tai, jog esant druskoms, OAJ DSSME efektyvumas nežymiai mažėja [48].

### ***Vidinis standartas***

Siekiant išvengti paklaidos, atsirandančios dėl nevienodo į dujų chromatografo garintuvą įleidžiamo ekstrakto tūrio, naudojamas vidinis standartas. Jo pridedama į ekstrahuojantį tirpiklį (CCl<sub>4</sub>). Vidiniu standartu naudojamoms medžiagoms keliamus reikalavimus atitinka ir butilalavo junginių nustatymo metu vidiniu standartu buvo naudotas *n* heksadekanas. 3.16 Lentelėje pateiktos analičių ir *n* heksadekano (C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>) sulaikymo trukmės. Tolimesniems tyrimams kaip vidinis standartas buvo naudotas 1 µg/ml *n*-heksadekano tirpalas ekstrahuojančiame tirpiklyje anglies tetrachloride.

### **3.16 lentelė**

Butilalavo junginių ir vidinio standarto sulaikymo trukmės

<b>Junginys</b>	<b>Sulaikymo trukmė, min</b>
TBT	6,20
DBT	7,31
MBT	8,10
C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	8,48

### **3.17 lentelė**

Butilalavo junginių DSSME optimalios sąlygos

<b>Parametras</b>	<b>Vertė</b>
Ekstrahuojantis tirpiklis, jo kiekis	Anglies tetrachloridas, 20 µl
Disperguojantis tirpiklis, jo kiekis	Metanolis, 780 µl
Vidinis standartas	<i>n</i> -Heksadekanas
Tirpalo pH	4,5
Derivatizacijos trukmė, min	5
NaEt <sub>4</sub> B kiekis	0,02 %

### 3.2.1.4. Metodo analizės charakteristikos

Optimizavus dispersinės skysčių - skysčių mikroekstrakcijos sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas.

Rezultatų pasikartojamumas buvo įvertintas dvejoms analičių koncentracijoms (0,1 ir 10  $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$ ). Dispersinė skysčių - skysčių mikroekstrakcija buvo atliekama 5 kartus. Analinių nustatymo rezultatų santykinų standartinių nuokrypių vertės neviršija 17,0 %.

Tiesiniam koncentracijų intervalui nustatyti buvo ruošiama serija 7 skirtingų koncentracijų standartinių butilalavo junginių tirpalų, praskiedžiant distiliuotu vandeniu pradinį standartinį tirpalą. Smailių plotų priklausomybė nuo BAJ koncentracijos buvo tiesinė nuo 2,8  $\text{ng}(\text{Sn})/\text{l}$  (MBT), 4,2  $\text{ng}(\text{Sn})/\text{l}$  (DBT) ir 9,8  $\text{ng}(\text{Sn})/\text{l}$  (TBT) iki 10  $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$  (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,996-0,999. Tyrimų rezultatai pateikti 3.18 lentelėje.

### 3.18 lentelė

Butilalavo junginių aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus DSSME

Analitė	Aptikimo riba, $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	RSD, % (n=5)	
		0,1 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	10 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$
MBT	0,0017	17,0	13,0
DBT	0,0025	15,1	3,5
TBT	0,0059	9,0	7,5

### 3.2.2. Butilalavo junginių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu

#### 3.2.2.1. MEŠTL sąlygų optimizavimas

Ankstesniame skyriuje pasiūlytas DSSME metodas greitas ir jautrus ir yra gerai tinkamas BAJ nustatymui vandeniniuose tirpaluose, tačiau ekstrakcijai naudojamas organinis tirpiklis anglies tetrachloridas yra itin toksiškas, todėl jo reikėtų vengti. Nors mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu metilalavo junginių analizės metu nedavė gerų rezultatų, buvo nuspręsta šį metodą pritaikyti butilalavo junginių nustatymui ir taip dar kartą patikrinti šio metodo tinkamumą OAJ nustatymui.

Kaip jau buvo minėta, pagrindiniai veiksniai, turintys įtakos mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu efektyvumui yra ekstrahuojančio tirpiklio rūšis ir jo kiekis, analizuojamo tirpalo temperatūra, pH, ekstrakcijos trukmė bei druskų koncentracija tirpale [97, 98].

#### *Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis*

Butilalavo junginių mikroekstrakcijai buvo išbandyti septyni ekstrahentai: 1-undekanolis, 1-dodekanolis, 2-dodekanolis, cikloheksanolis, 1-chlorooktadekanas, *n*-heksadekanas ir *n*-heptadekanas. Šių organinių tirpiklių fizikinės savybės pateikiamos 3.19 lentelėje.

3.19 lentelė

Ekstrahuojančių tirpiklių fizinės savybės

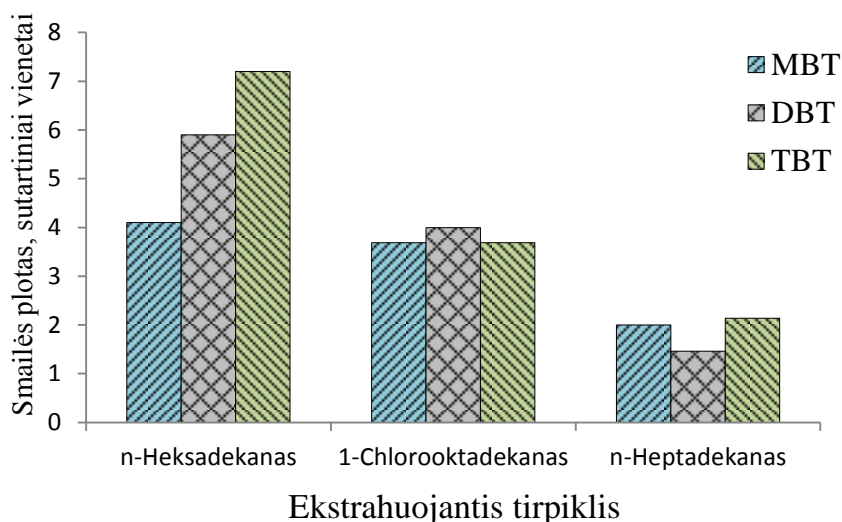
Tirpiklis	Lydimosi temperatūra, °C	Virimo temperatūra, °C	Tankis, g/ml
<i>n</i> -Heksadekanas	18	287	0,77
<i>n</i> -Heptadekanas	22	303	0,78
1-Undekanolis	14	243	0,83
1-Dodekanolis	23	259	0,83
2-Dodekanolis	18	249	0,83
Cikloheksanolis	23	162	0,96
1-Chlorooktadekanas	21,5	158	0,85



Siekiant pasirinkti tinkamiausią ekstrahentą, tyrimams buvo naudojamas 10 µg/l butilalavo junginių vandeninis tirpalas, kurio pH 4,5. Derivatizacija buvo vykdoma 5 min į 15 ml vandeninio BAJ tirpalo pridėdant 150 µl 2% NaBEt<sub>4</sub> tirpalo. Po derivatizacijos į reakcijos indą mikrošvirkštu buvo įleidžiama 50 µl vieno iš tiriamųjų ekstrahentų ir reakcijos indas statomas ant magnetinės maišyklės, ekstrahuojama 30 min. Pasibaigus ekstrakcijai, indas su mėginiu buvo dedamas į ledo vonią ir laikomas tol, kol ekstrahentas su analitėmis užšąla. Užšalęs ekstrahento lašas išimamas iš tirpalo į mažą indelį konusiniu dugnu ir išlydomas. Mikrošvirkštu imamas 1 µl analizuojamojo tirpalo ir rankiniu būdu įleidžiamas į dujų chromatografo garintuvą.

Atlikus pirminę analizę buvo nustatyta, kad 1-undekanolio smailė chromatogramoje išeina labai arti DBT ir TBT smailių, cikloheksanolio smailė labai arti DBT smailės, o 1-dodekanolio ir 2-dodekanolio smailės visai uždengia TBT smailę. Todėl toliau buvo tiriamas 1-chlorooktadekano, *n*-heksadekano ir *n*-heptadekano tinkamumas BAJ nustatymui.

Kaip matyti iš 3.23 pav. pateiktų rezultatų, geriausiai analites ekstrahavo *n*-heksadekano. Tai galima paaiškinti ekstrahentų lydymosi temperatūros skirtumu. Kaip matyti iš 3.19 lentelėje pateiktų duomenų, 1-chlorooktadekano ir *n*-heptadekano lydymosi temperatūros yra atitinkamai 21,5 ir 21 °C. Darbo metu temperatūra laboratorijoje neviršijo 20 °C, todėl ekstrakcijos metu šie ekstrahentai buvo kieti ir butilalavo junginių ekstrakcija į juos vyko ne dėl pasiskirstymo, o dėl adsorbcijos.

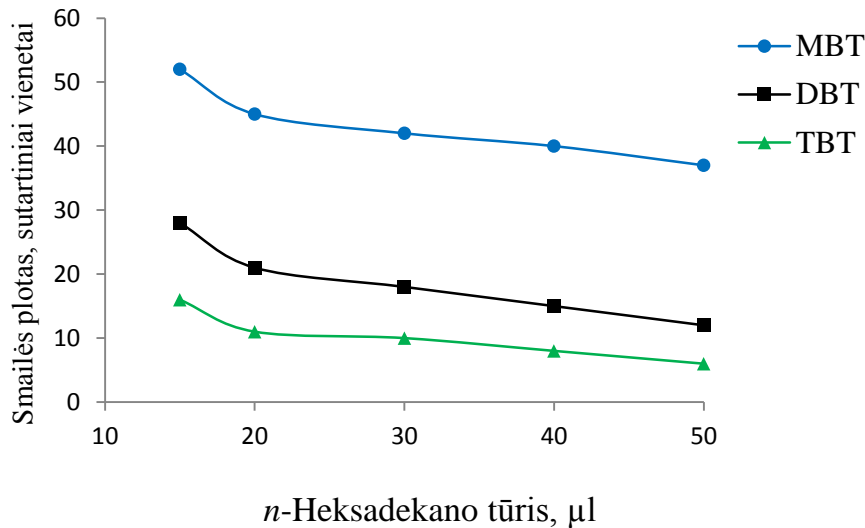


**3.23 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio prigimties poveikis BAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, BAJ koncentracija 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,02 %, derivatizacijos trukmė 5 min, ekstrakcijos trukmė 30 min.

Kaip matyti iš 3.23 pav. pateiktų rezultatų, *n*-heksadekanas analites ekstrahavo geriausiai, todėl buvo pasirinktas ekstrahentu tolimesniems tyrimams.

#### ***Ekstrahuojančiojo tirpiklio tūris***

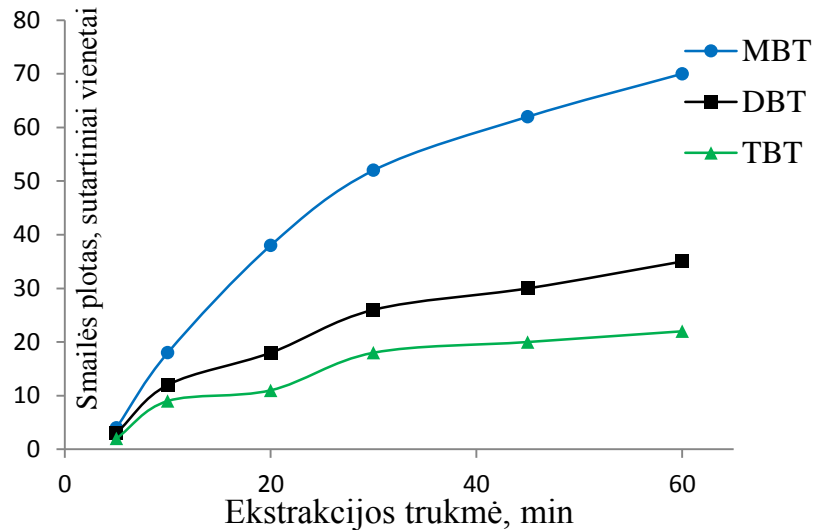
Optimalus ekstrahento tūris buvo nustatytas į 15 ml vandeninio derivatizuotų butilalavo junginių tirpalo (analičių koncentracija 1  $\mu\text{g/l}$ ) pilant 10 – 50  $\mu\text{l}$  *n*-heksadekano ir ekstrakciją vykdant 30 min. Imant 10  $\mu\text{l}$  ekstrahento, po ekstrakcijos jo nepavyko surinkti tiek, kad būtų galima chromatografinėi analizei paimti 1  $\mu\text{l}$  ekstrakto. Rezultatai, gauti naudojant 15 – 50  $\mu\text{l}$  *n*-heksadekano, pateikti 3.24 pav. Kuo didesnis ekstrahento kiekis buvo imamas ekstrakcijai, tuo mažesnė buvo analičių koncentracija ekstrahento laše. Kadangi analizei visada buvo imamas 1  $\mu\text{l}$  ekstrakto, mažėjant analičių koncentracijai, mažėjo ir analičių smalių plotai. Tolimesniam darbui buvo pasirinktas 15  $\mu\text{l}$  *n*-heksadekano tūris.



**3.24 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio (*n*-heksadekano) kiekio įtaka BAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, BAJ koncentracija 5 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,02 %, derivatizacijos trukmė 5 min, ekstrakcijos trukmė 30 min.

### *Ekstrakcijos trukmė*

Ekstrakcijos trukmė buvo keičiama nuo 5 iki 60 min. Didžiausias ekstrakcijos efektyvumas pasiekiamas, kai nusistovi analičių pusiausvyra tarp ekstrahuojančio tirpiklio ir mėginio. Iš 3.25 pav. pateiktų duomenų matyti, kad net po 60 min pusiausvyros pasiekti nepavyko, smailių plotai vis didėjo. Norint, kad analizė nebūtų labai ilga, bet ekstrakcijos efektyvumas būtų geras, buvo pasirinkta 30 min ekstrakcijos trukmė. Šios ekstrakcijos trukmės pakanka aukštam ekstrakcijos efektyvumui pasiekti, tačiau dirbant ne pusiausvyros sąlygom, būtina išlaikyti pastovią ekstrakcijos trukmę.



**3.25 pav.** Ekstrakcijos trukmės įtaka BAJ MEŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 15 ml, BAJ koncentracija 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,02 %, derivatizacijos trukmė 5 min.

Buvo ištirta galimybė apjungti derivatizacijos procedūrą ir ekstrakciją. Tam buvo atlikti du matavimai. Iš pradžių derivatizacija buvo vykdyta 10 min, o ekstrakcija *n*-heksanoliu 30 min, paskui ekstrakcija *n*-heksanoliu buvo pradėta iš karto įpylus derivatizacijos reagento, ekstrakcija truko 30 min. Atlikus ekstraktų analizę buvo nustatyta, kad analičių smailių plotai abiem atvejais panašūs. Tai leido apjungti derivatizacijos ir ekstrakcijos procedūrą ir taip sutrumpinti bendrą analizės trukmę.

### *Vidinis standartas*

Gautas ekstrakto tūris labai mažas ir jo nepakanka, norint į chromatografą mėginį leisti automatiškai. Antra vertus, sunku tiksliai paimti 1  $\mu\text{l}$  mėginio rankiniu būdu, dėl to gaunamos analizės paklaidos. Siekiant panaikinti paklaidą, atsirandančią dėl paimto nevienodo ekstrakto tūrio, į ekstrahentą patartina dėti vidinio standarto. Tada analičių koncentracijos skaičiavimui būtų naudojami ne absoliutūs analičių smailių plotai, o analitės smailės ploto ir vidinio standarto smailės ploto santykis.

Prenkant vidinį standartą buvo išbandyti *n*-nonanas, *n*-dekanas ir 1-chlorooktadekanas. Atlikus tyrimus paaiškėjo, kad visus vidiniam standartui keliamus reikalavimus atitinka ir geriausiai chromatogramoje nuo analičių smailių yra atskiriama 1-chlorooktadekano smailė, todėl buvo pasirinktas tolimesniems tyrimams kaip vidinis standartas (1 µg/ml *n*-heksadekane). 3.20 Lentelėje yra pateiktos optimalios BAJ nustatymo MEŠTL metodu sąlygos.

### 3.20 lentelė

#### Butilalavo junginių MEŠTL optimalios sąlygos

Parametras	Vertė
Ekstrahuojantis tirpiklis, jo kiekis	<i>n</i> -Heksadekanas, 15 µl
Vidinis standartas	1-Chlorooktadekanas
Derivatizacijos ir ekstrakcijos trukmė	30 min

#### 3.2.2.2. Metodo analizinės charakteristikos

Optimizavus mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas.

Kalibracinės kreivės buvo gaunamos į DCh įleidus 5 skirtingų koncentracijų standartinių derivatizuotų butilalavo junginių vandeninių tirpalų ekstraktus. Kalibracinės kreivės buvo tiesinės nuo 1,0 µg(Sn)/l (MBT), 1,1 µg(Sn)/l (DBT) ir 1,6 µg(Sn)/l (TBT) iki 500 µg(Sn)/l (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,996 – 0,998.

Rezultatų pasikartojamumui nustatyti buvo imti dviejų koncentracijų (10 ir 500 µg(Sn)/l) standartiniai butilalavo junginių tirpalai ir analizė atlikta penkis kartus. Santykinio standartinio nuokrypio ( $s_r$ ) vertės bei aptikimo ribos pateiktos 3.21 lentelėje. Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, rezultatai truputį geriau pasikartoja, kai analičių koncentracijos didesnės. Kai analičių koncentracijos 10 µg(Sn)/l, santykinis standartinis nuokrypis siekia iki 31 %.

Šie duomenys leidžia teigti, kad tirtuoju metodu gautų rezultatų pasikartojamumas nėra geras.

### 3.22 lentelė

BAJ aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus MEŠTL

Analitė	Aptikimo riba, $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	$s_r, \% (n = 5)$	
		10 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	500 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$
MBT	0,30	20,8	15,6
DBT	0,34	26,0	17,1
TBT	0,50	31,0	19,8

Nustačius DSSME bei MEŠTL metodikų pagrindines analizines charakteristikas, kaip ir metilalavo junginių nustatymo atveju, buvo padaryta išvada, kad geresni rezultatai yra pasiekiami butilalavo junginius analizuojant DSSME metodu, nepaisant to, kad yra naudojamas aplinkai kenksmingas anglies tetrachloridas (lentelė 3.22). Atsižvelgiant į žymiai geresnes DSSME analizines charakteristikas, realių mėginių analizei buvo pasirinktas šis metodas ir daroma prielaida, kad sunaudojamas anglies tetrachlorido kiekis (20  $\mu\text{l}$ ) yra toks mažas, kad realios žalos aplinkai ir žmonių sveikatai nebus padaryta. Be to, dujų chromatografinė analizei anglies tetrachloridas yra žymiai palankesnis ekstrahentas, palyginus su aukštos virimo temperatūros *n*-heksadekanu, jis yra mažiau teršiantis chromatografinę kolonėlę ir leidžiantis pasiekti mažesnę analizės trukmę.

### 3.22 lentelė

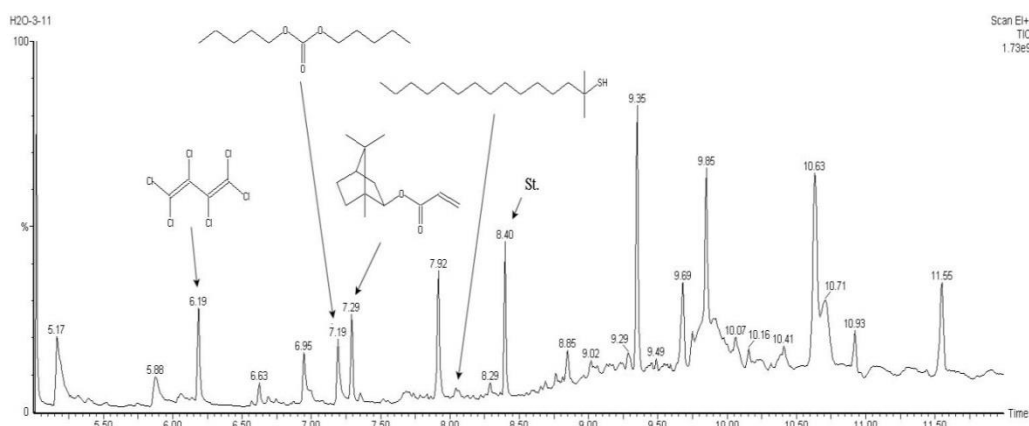
BAJ nustatymo, taikant DSSME ir MEŠTL, aptikimo ribų palyginimas

Analitė	Aptikimo riba, $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	
	DSSME	MEŠTL
MBT	0,0017	0,30
DBT	0,0025	0,34
TBT	0,0059	0,50

### 3.2.3. Butilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose

Paruoštas BAJ DSSME DCh-MS analizės metodas buvo pritaikytas trijų vandens mėginių analizei. Mėginiai buvo paimti iš trijų Lietuvos upių: Nemuno prie Druskininkų, Neries prie Panerių ir Šventosios žiotyse. Derivatizacija, ekstrakcija ir DCh-MS analizė buvo atlikti aukščiau aprašytu būdu. Tam, kad būtų išvengta matricos įtakos, mėginiai buvo analizuoti standartinių priedų metodu.

Kaip matyti iš vandens mėginio ekstrakto iš Šventosios žiočių chromatogramos (3.26 pav.), ekstrakto yra medžiagų, kurių sulaukymo trukmės artimos derivatizuotų butilalavo junginių sulaukymo trukmėms. Tačiau tų junginių masių spektrai nesutampa su butilalavo junginių masių spektrais.



3.26 pav. Vandens iš Šventosios upės žiočių ekstrakto chromatograma.

Kituose mėginiuose taip pat nebuvo rasta butilalavo junginių.

Matricos įtakai įvertinti į upių vandens mėginius buvo pridedama po 0,1 ir 1,0 µg(Sn)/l butilalavo junginių. Gauti rezultatai buvo lyginami su tais, kurie gaunami analizuojant distiliuoto vandens mėginius su tais pačiais priedais. Santykinės išeigos buvo nuo 90 iki 109 %, tai rodo, jog upės vandens matrica turėjo mažai reikšmės ekstrakcijos efektyvumui. Visi upių vandenų analizės rezultatai yra pateikti 3.23 lentelėje.

### 3.23 lentelė

Butilalavo junginių nustatymo realiuose mėginiuose rezultatai (n=3)

Analitė	Upės vanduo su 0,1 µg(Sn)/l priedu RSD, %			Upės vanduo su 1,0 µg(Sn)/l priedu RSD, %		
	Nemunas	Neris	Šventoji	Nemunas	Neris	Šventoji
MBT	98 (14,2)	95 (9,9)	91 (10,8)	97 (9,3)	92 (9,0)	99 (8,4)
DBT	94 (11,8)	98(10,4)	90 (13,2)	97 (10,9)	108(8,8)	108(10,1)
TBT	94 (15,1)	105(8,8)	109 (12,3)	93 (11,2)	100(6,7)	95 (10,6)

### 3.3. Fenilalavo junginių mikroekstrakcija ir nustatymas

#### 3.3.1. Fenilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija

##### 3.3.1.1. Fenilalavo junginių derivatizacija

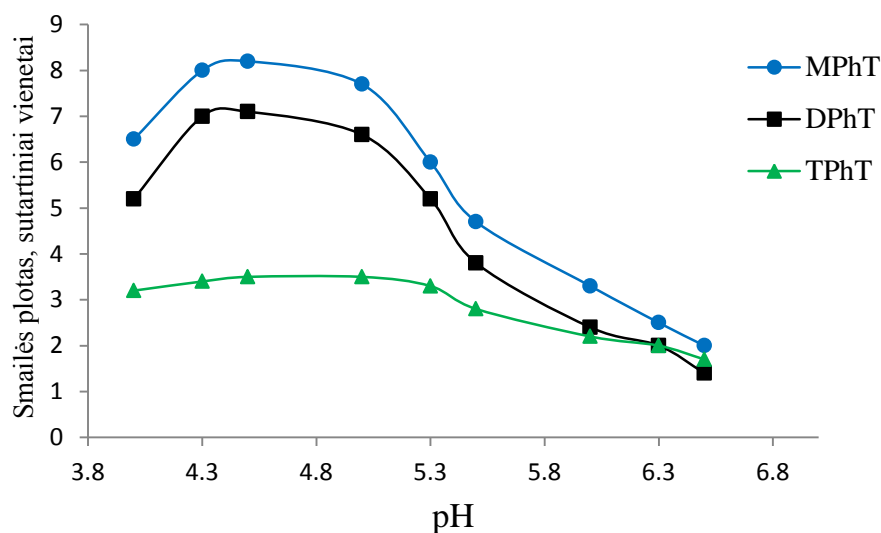
Optimalios fenilalavo junginių dujų chromatografinio perskyrimo sąlygos buvo parinktos naudojant derivatizuotų fenilalavo junginių ekstraktą *n*-heksane. Ekstraktas buvo ruošiamas taip: į 25 ml 10 µg/l vandeninį PhAJ tirpalą įpilta 250 µl 4 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalo (tai atitinka 0,04 % NaBEt<sub>4</sub> PhAJ tirpale), derivatizacija vyko 15 min, po to 2 min tirpalas buvo intensyviai purtomas su 1 ml *n*-heksano. Ekstraktas buvo perkeltas į mėginių ėmimo buteliuką ir automatiškai įleistas į dujų chromatografo garintuvą.



Naudojant taip paruoštą ekstraktą, buvo parinktos chromatografinio perskyrimo sąlygos, tinkančios PhAJ. Analitės gerai persiskyrė taikant chromatografinės kolonėlės temperatūros programą: pradinė temperatūra 60 °C, laikoma 1 min, po to temperatūra keliami 30 °C/min greičiu iki 250 °C, ši temperatūra palaikoma dar 6 min.

### *Derivatizacijos pH*

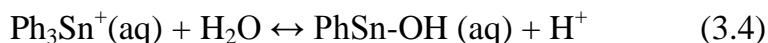
Fenilalavo junginių derivatizacijos su NaBEt<sub>4</sub> reakcijos priklausomybė nuo terpės pH buvo tiriama pH srityje nuo 4 iki 6,5. Fenilalavo junginių ekstrakto ruošimo sąlygos tokios kaip aprašyta aukščiau. Tyrimo rezultatai pateikti 3.27 paveiksle.



**3.27 pav.** pH vertės įtaka PhAJ derivatizacijai. Mėginio tūris 25 ml, PhAJ koncentracija 10 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 15 min, ekstrahentas *n*-heksanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

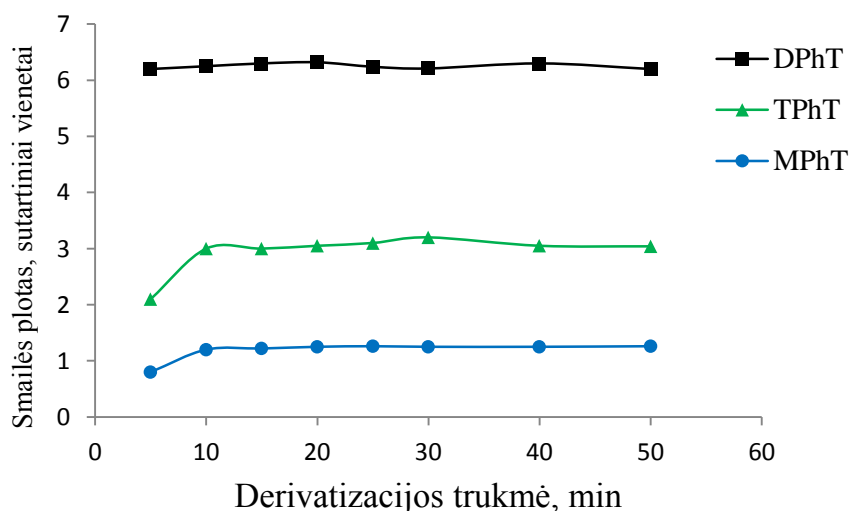
Iš 3.27 pav. pateiktų duomenų matyti, kad keičiant terpės pH nuo 4 iki 4,5, derivatizuotų PhAJ smailių plotai didėja. Keičiant pH nuo 4,5 iki 6,5, smailių plotai tolygiai mažėja. Taip yra todėl, nes rūgščioje terpėje PhAJ nėra stabilūs, o bazinėje aplinkoje jie egzistuoja katijono (PhSn<sup>+</sup>) formoje ir gali

sudaryti hidroksi-kompleksus (3.4 lygtis). Optimali pH vertė PhAJ derivatizacijai yra 4,5.



### ***Derivatizacijos trukmė***

Siekiant optimizuoti PhAJ derivatizacijos natrio tetraetilboratu trukmę, buvo atlikta serija matavimų, derivatizacijos trukmę keičiant nuo 5 iki 40 min. Iš 3.28 pav. pateiktų duomenų galima matyti, kad vykdant PhAJ derivatizaciją nuo 5 iki 15 min, analičių smailių plotai šiek tiek padidėja, tačiau derivatizaciją vykdant 15 min ar ilgiau PhAJ smailių plotai nebesikeičia. Remiantis gautais duomenimis, tolimesniam darbui buvo pasirinkta 15 min derivatizacijos trukmė.



**3.28 pav.** Derivatizacijos trukmės įtaka PhAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 25 ml, PhAJ koncentracija 10 μg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04 %, ekstrahentas *n*-heksanas, ekstrakcijos trukmė 2 min.

### **3.3.1.2. Dujų chromatografinio perskyrimo ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygų optimizavimas**

Nustačius optimalią derivatizacijos pH bei trukmę buvo optimizuotos fenilalavo junginių chromatografinio nustatymo (3.24 lentelė) bei masių spektrometrinio detektavimo sąlygos. Iš pradžių buvo parinktas kitas ekstrahavimo tirpiklis. Preliminarių tyrimų rezultatai parodė, kad *n*-heksaną geriausia yra pakeisti anglies tetrachloridu, nes šis tirpiklis atitinka DSSME ekstrahentui keliamus reikalavimus ir yra tinkamas PhAJ ekstrakcijai.

### 3.24 lentelė

Optimalios fenilalavo junginių chromatografinio perskyrimo sąlygos

Parametras	Vertė
Pradinė kolonėlės temperatūra, $T_0$	60 °C
Temperatūros ( $T_0$ ) išlaikymas	1 min
Temperatūros kėlimo greitis (nuo $T_0$ iki $T_1$ )	30 °C/min
Kolonėlės temperatūra, $T_1$	250 °C
Temperatūros ( $T_2$ ) išlaikymas	6 min
Bendra chromatografinės analizės trukmė	12 min

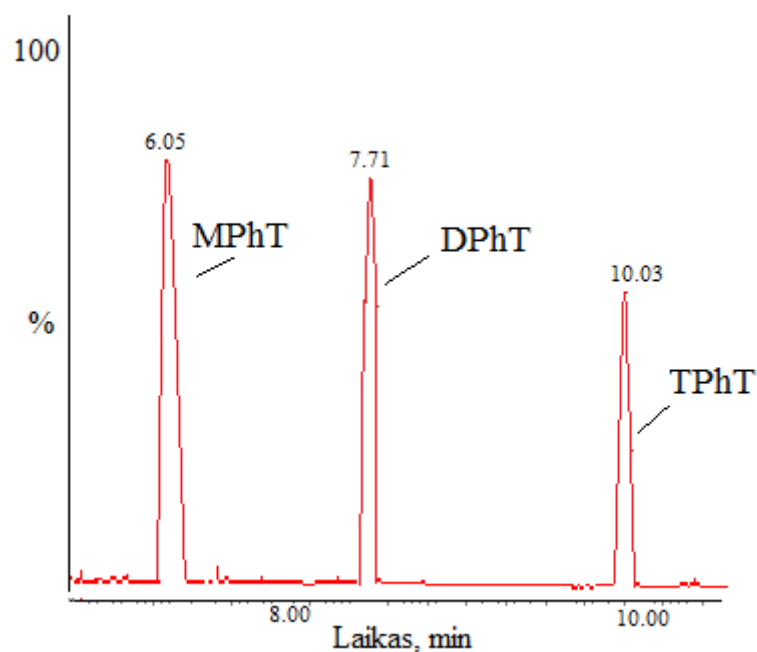
Prieš optimizuojant DSSME metodą, buvo pakeistos ir masių spektrometrinio detektavimo sąlygos ir pritaikytas SIR režimas. Buvo pasirinkta matuoti po tris būdingas PhAJ *m/z* vertes.

### 3.25 lentelė

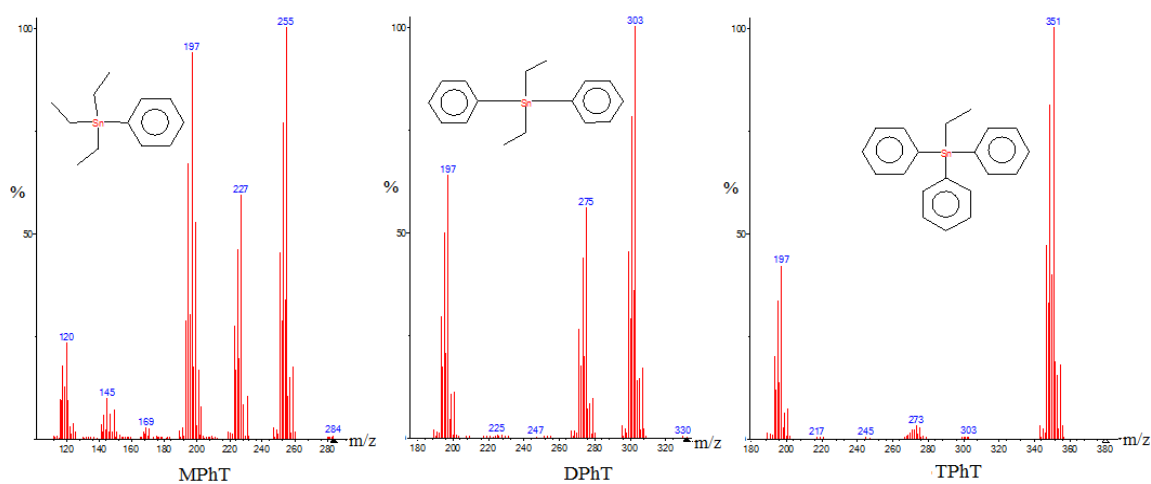
Derivatizuotų fenilalavo junginių MS SIR režime nustatomi jonai

Analitė	<i>m/z</i>
MPhT	197, 227, 255
DPhT	197, 275, 303
TPhT	120, 197, 351

Taikant 3.24 lentelėje pateiktas chromatografinio perskyrimo sąlygas gauta chromatograma pateikta 3.29 pav., teoriniai masių spektrai pateikti 3.30 pav.



**3.29 pav.** Derivatizuotų fenilalavo junginių ekstrakto chromatograma.



**3.30 pav.** Derivatizuotų fenilalavo junginių teoriniai masių spektrai.

### 3.3.1.3. DSSME sąlygų optimizavimas

#### *Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis*

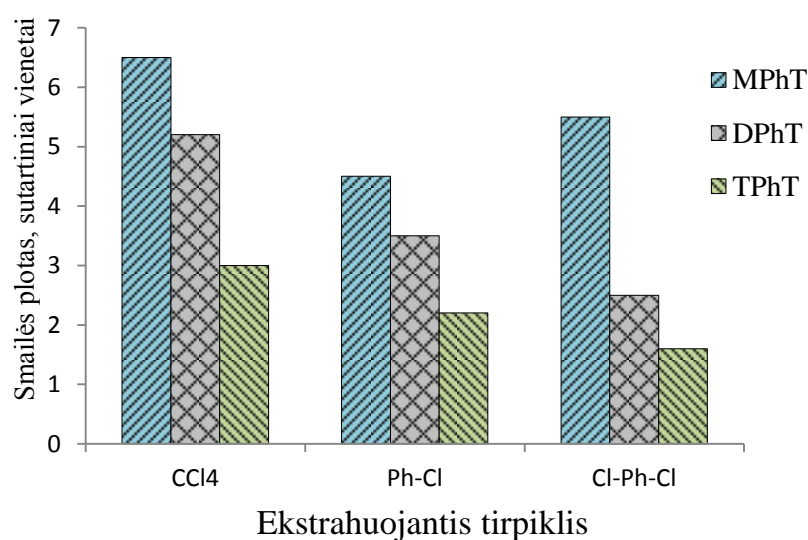
Fenilalavo junginių ekstrakcijai po derivatizacijos buvo išbandyti trys tirpikliai, kurie atitinka visus DSSME ekstrahentams keliamus reikalavimus: anglies tetrachloridas, chlorbenzenas ir 1,2 dichlorobenzenas (3.26 lentelė).

## 3.26 lentelė

## Ekstrahuojančiųjų tirpiklių fizikinės savybės

Tirpiklis	Tankis, g/ml	Tirpumas vandenyje, g/l	Virimo temperatūra, °C
Anglies tetrachloridas	1,58	0,8	76,5
Chlorbenzenas	1,11	0,5	132
1,2-Dichlorbenzenas	1,30	0,16	180

DSSME buvo atliekama taip: į 8 ml vandeninio 5 µg/l fenilalavo junginių tirpalo, kurio pH 4,5, įpilta 80 µl 4 % NaBEt<sub>4</sub>, palaikyta 10 min. Tada išvirkšta 550 µl mišinio, sudaryto iš 500 µl acetono ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio (anglies tetrachlorido, chlorbenzeno arba 1,2 dichlorbenzeno) ir centrifuguota 3 min 5000 aps./min greičiu. Mikrošvirštu paimtas 1 µl ekstrakto (iš apatinio sluoksnio) ir rankiniu būdu įleistas į dujų chromatografo garintuvą. Palyginus smailių plotus buvo nustatyta, kad naudojant anglies tetrachloridą yra pasiekiamas didžiausias ekstrakcijos efektyvumas, todėl šis tirpiklis ir buvo pasirinktas ekstrahentu tolimesniems tyrimams (3.31 pav.).

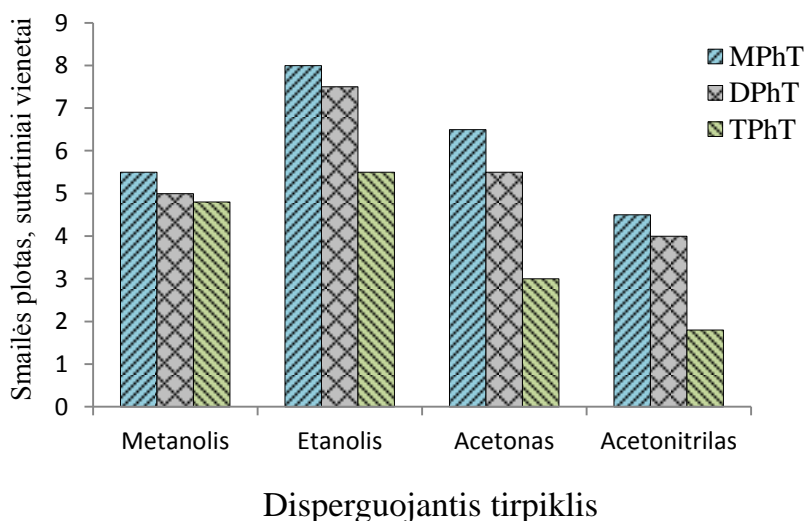


**3.31 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio prigimties poveikis PhAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracijos 5 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min, disperguojantis tirpiklis acetonas.

### *Disperguojančio tirpiklio prigimtis*

Pagrindinis reikalavimas disperguojančiam tirpikliui yra jo gebėjimas maišytis tiek su ekstrahuojančiu tirpikliu, tiek su vandenine faze. Šį reikalavimą tenkina ir šiame darbe buvo palyginti keturi tirpikliai: acetonas, acetonitrilas, metanolis ir etanolis.

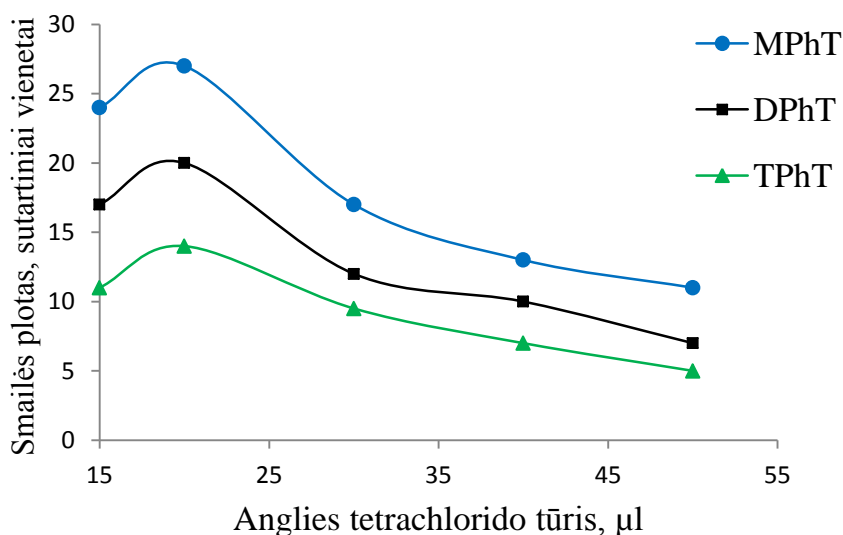
Buvo atlikta DSSME ir DCh-MS analizė aukščiau aprašytu būdu. Ekstrakcijai buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 500 µl disperguojančio tirpiklio (acetono, acetonitrilo, metanolio arba etanolio) ir 50 µl ekstrahuojančio tirpiklio anglies tetrachlorido. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.32 pav., iš kurio matyti, kad šiek tiek didesnis ekstrakcijos efektyvumas buvo pasiektas naudojant etanolį, nei kurį nors kitą tirpiklį, todėl etanolis buvo pasirinktas disperguojančiu tirpikliu.



**3.32 pav.** Disperguojančio tirpiklio prigimties poveikis PhAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracijos 5 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min, ekstrahentas anglies tetrachloridas.

### *Ekstrahuojančio tirpiklio tūris*

Parinkus ekstrahuojantį bei disperguojantį tirpiklius, buvo optimizuojami jų kiekiai. Pirmiausia buvo ieškoma optimalaus ekstrahuojančio tirpiklio anglies tetrachlorido tūrio. Šiam tikslui buvo naudojamas tirpalas, kuriame buvo 500 µl etanolio ir 15 - 50 µl anglies tetrachlorido. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.33 pav., kuriame galima matyti, kad didinant ekstrahuojančio tirpiklio tūrį nuo 15 iki 20 µl, smailių plotai didėjo. Ekstrahento tūrį keičiant nuo 20 iki 50 µl, smailių plotai mažėjo. Tokią ekstrakcijos efektyvumo priklausomybę nuo ekstrahento kiekio galima paaiškinti analičių praskiedimu ir todėl mažėjančiu analičių smailių plotu didėjant ekstrahento tūriui. Tolimesniems darbams buvo pasirinktas 20 µl anglies tetrachlorido tūris.

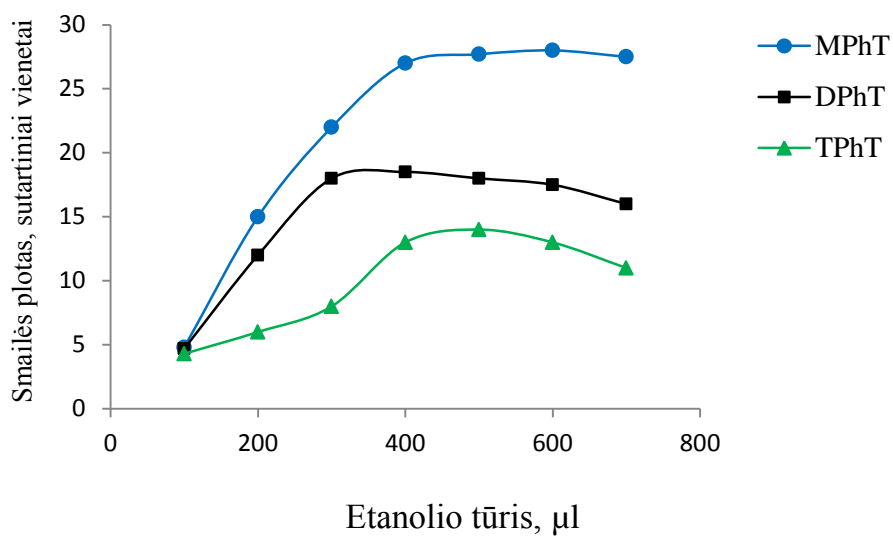


**3.33 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio (anglies tetrachlorido) kiekio įtaka PhAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracija 5 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min, disperguojantis tirpiklis etanolis.

### *Disperguojančio tirpiklio tūris*

Tiriant disperguojančio tirpiklio tūrio poveikį ekstrakcijos efektyvumui, buvo naudojamas tirpalas su skirtingu etanolio tūriu (0,1 - 0,7 ml) ir 20 µl anglies tetrachlorido. Iš 3.34 pav. pateiktų duomenų galima matyti, kad didžiausias ekstrakcijos efektyvumas pasiekiamas, kai etanolio tūris yra tarp

0,4 – 0,6 ml. Esant mažesniai etanolio tūriui nei 0,4 ml susidariusi emulsija nebuvo stabili ir tai lėmė nedidelį ekstrakcijos efektyvumą. Etanolio tūriui padidėjus virš 0,6 ml, ekstrakcijos efektyvumo pokyčiai buvo nereikšmingi. Tolimesniame darbe buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 20  $\mu$ l anglies tetrachlorido ir 0,48 ml etanolio, t.y. bendras tirpiklių tūris 0,5 ml – tai tūris, kurį patogiu paimti švirkštu.

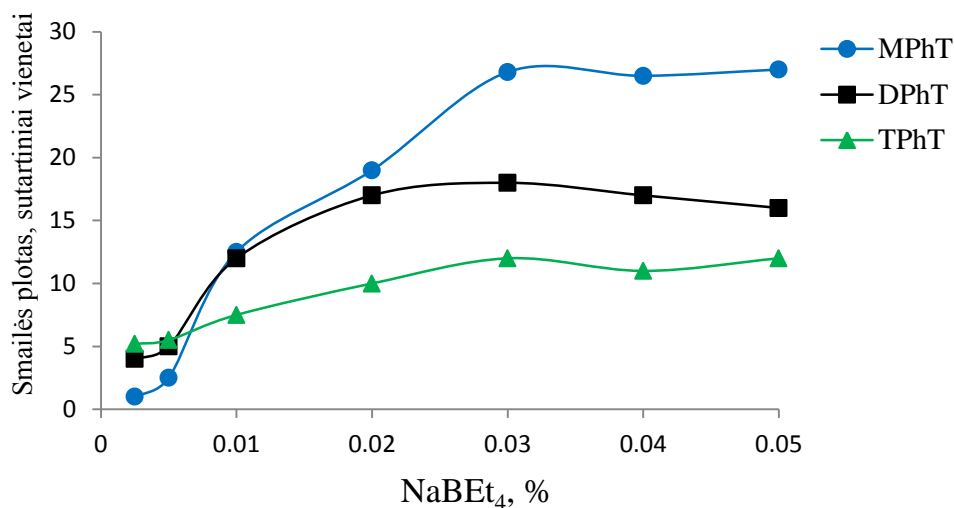


**3.34 pav.** Disperguojančio tirpiklio (etanolio) kiekio įtaka PhAJ DSSME efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracija 5  $\mu$ g/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 15 min, ekstrahentas anglies tetrachloridas.

### *NaBEt<sub>4</sub> koncentracija*

Anksčiau aprašytiems tyrimams derivatizavimo reagento NaBEt<sub>4</sub> koncentracija PhAJ tirpale buvo 0,04 %. Pasirinktomis DSSME sąlygomis derivatizavimo reagento koncentracija buvo papildomai ištirta 0,0025 – 0,05 % srityje. Visų PhAJ smailių plotai didėjo, NaBEt<sub>4</sub> koncentracijai didėjant iki 0,04 % (3.35 pav.) Remiantis gautais rezultatais, tolimesniems tyrimams buvo pasirinkta 0,04 % NaBEt<sub>4</sub> koncentracija.





**3.35 pav.** NaBEt<sub>4</sub> kiekio įtaka PhAJ derivatizacijos efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracijos 5 μg/l, ekstrahentas anglies tetrachloridas, disperguojantis tirpiklis etanolis.

### *Druskų įtaka*

Analizuojant PhAJ DSSME metodu, vandeniniuose tirpaluose jau yra druskų, naudojamų ruošiant buferinį tirpalą bei vykdant derivatizaciją. Papildomai buvo ištirta, kaip keisis ekstrakcijos efektyvumas, jei į mėginį bus pridėta dar ir natrio chlorido. Pridedant iki 0,005 g/ml NaCl, analičių ekstrakcija šiek tiek padidėjo. Tačiau tolesnis NaCl koncentracijos didinimas lėmė vandeninės fazės tankio padidėjimą. Organinės fazės tankis tapo mažesnis negu vandeninės fazės. Dėl to organinė fazė nebensėdavo į centrifuginio mėgintuvėlio dugną, bet sudarydavo ploną plėvelę virš vandeninės fazės. Siekiant to išvengti, tolesniuose eksperimentuose NaCl nebuvo naudojamas.

### *Vidinis standartas*

Siekiant išvengti paklaidos, atsirandančios dėl nevienodo į dujų chromatografo garintuvą įleidžiamo ekstrakto tūrio, naudojamas vidinis

standartas. Jo pridedama į ekstrahuojantį tirpiklį anglies tetrachloridą. Remiantis atliktų tyrimų duomenimis tolimesniems tyrimams kaip vidinis standartas buvo pasirinktas heksachloretanas ir naudotas 1 µg/ml heksachloretano tirpalas ekstrahuojančiame tirpiklyje.

### 3.27lentelė

Fenilalavo junginių DSSME optimalios sąlygos

Parametras	Vertė
Ekstrahuojantis tirpiklis, jo kiekis	Anglies tetrachloridas, 20 µl
Disperguojantis tirpiklis, jo kiekis	Etanolis, 480 µl
Vidinis standartas	Heksachloretanas
Tirpalo pH	4,5
Derivatizacijos trukmė, min	15
NaEt <sub>4</sub> B kiekis	0,04 %

#### 3.3.1.4. Metodo analizės charakteristikos

Optimizavus dispersinės skysčių - skysčių mikroekstrakcijos sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas.

Rezultatų pasikartojamumas buvo įvertintas, naudojant vandenius tirpalus, kuriuose PhAJ koncentracija buvo 1 µg(Sn)/l ir 10 µg(Sn)/l. DSSME buvo atliekama 5 kartus. Gautos santykinų standartinių nuokrypių vertės siekia 4,6 – 17,3 %, tai rodo, kad rezultatų pasikartojamumas yra geras.

Tiesiniam koncentracijų intervalui nustatyti buvo ruošiama serija 8 skirtingų koncentracijų standartinių PhAJ tirpalų, praskiedžiant distiliuotu vandeniu pradinį standartinį tirpalą. Smailių plotų priklausomybė nuo PhAJ koncentracijos buvo tiesinė nuo 46 ng(Sn)/l (MPhT), 191 ng(Sn)/l (DPhT) ir 152 ng(Sn)/l (TPhT) iki 1 mg(Sn)/l (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių

koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,996 - 0,999. Tyrimų rezultatai pateikti 3.28 lentelėje.

### 3.28 lentelė

Fenilalavo junginių aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus DSSME

Analitė	Aptikimo riba, $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	RSD, % (n=5)	
		1 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$	10 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$
MPhT	0,014	10,1	4,6
DPhT	0,058	17,3	11,2
TPhT	0,046	13,5	10,8

### 3.3.2. Fenilalavo junginių dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu

#### 3.3.2.1. DSSME-ŠTL sąlygų optimizavimas

Ankstesniuose skyriuose buvo pasiūlyti du mikroekstrakcijos metodai OAJ nustatymui vandeniniuose tirpaluose (DSSME ir MEŠTL). Tyrimų rezultatai parodė, kad DSSME metodas yra tinkamas metil-, butil- bei fenilalavo junginių nustatymui, o mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu metodo taikymas metil- bei butilalavo junginių nustatymui nedavė gerų rezultatų. Dėl to PhAJ nustatymui buvo pasiūlytas visiškai naujas metodas – dispersinė skysčių – skysčių mikroekstrakcija užšaldomu tirpiklio lašu (DSSME-ŠTL). Šis metodas – tai DSSME variantas, kai fazės atskiriamos užšaldant ekstraktą. Atskyrus ekstraktą nuo vandeninės terpės, jis yra išlydomas kambario temperatūroje ir analizuojamas. Taikant šį metodą yra naudojami mažiau toksiški ekstrahuojantys tirpikliai, o ekstrakcija įvyksta akimirksniu.

**DSSME-ŠTL metodas iki šiol nebuvo pritaikytas organinių alavo junginių nustatymui.**

Optimizuojant klasikinės DSSME sąlygas buvo nustatyta, kad didžiausias PhAJ derivatizacijos efektyvumas yra pasiekiamas, kai pH 4,5, NaEt<sub>4</sub>B kiekis PhAJ tirpale 0,04 %, o derivatizacija vykdoma 15 min. Atliekant dispersinės skysčių – skysčių mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu efektyvumo analizę buvo nustatyta ekstrahuojančio bei disperguojančių tirpiklių prigimtis bei kiekiai.

### ***Ekstrahuojančio tirpiklio prigimtis***

Taikant šį ekstrakcijos metodą, ekstrahentas turi tenkinti kelis reikalavimus. Pirmiausiai, jis turi gerai ekstrahuoti analites, netirpti vandenyje, pasižymėti aukšta virimo temperatūra ir mažu garų slėgiu, siekiant sumažinti garavimo tikimybę ekstrakcijos metu. Be to, lydymosi temperatūra turi būti artima kambario temperatūrai (10 - 30 °C), o analitės ir tirpiklio smailės chromatogramoje turi gerai atsiskirti viena nuo kitos.

Fenilalavo junginių mikroekstrakcijai buvo išbandyti septyni tirpikliai: n-heksadekanas, 2-dodekanolis, cikloheksanolis, 1-chlorooktadekanas, n-heptadekanas, 1-undekanolis, 1-dodekanolis. Šių organinių tirpiklių fizinės savybės pateiktos 3.19 lentelėje.

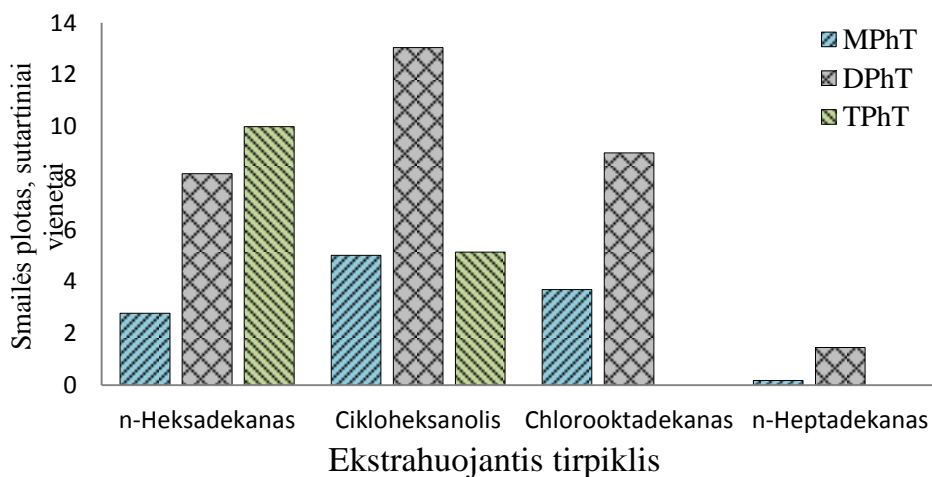
Atlikus pirminę analizę buvo nustatyta, kad 2-dodekanolio, 1-undekanolio ir 1-dodekanolio chromatografinės smailės persikloja su PhAJ smailėmis, todėl negali būti naudojami ekstrahuojančiais tirpikliais.

Tinkamiausio ekstrahuojančio tirpiklio nustatymas buvo atliekamas taip: į 8 ml vandeninį PhAJ tirpalą, kurio pH 4,5, buvo įpilta 250 µl 4 % NaBEt<sub>4</sub> tirpalo (tai atitinka 0,04 % NaBEt<sub>4</sub> PhAJ tirpale) ir 15 min vykdyta derivatizacija. Po derivatizacijos į reakcijos mėgintuvėlį buvo staigiai suleidžiamas tirpiklių mišinys, sudarytas iš 500 µl acetono ir 50 µl ekstrahento. Gauta emulsija buvo centrifuguojama 3 min 5000 aps./min greičiu. Vėliau mėgintuvėlis su tirpalu patalpintas į ledo vonią ir laikytas tol, kol ekstraktas

užšala. Užšalęs ekstraktas buvo perkeltas į konusinį indelį, išlydytas ir rankiniu būdu įleistas į dujų chromatografo garintuvą (1 µl).

Analizuotų ekstrahuojančių tirpiklių lydymosi temperatūrų skirtumai lėmė, kad 1-chlorooktadekanas bei *n*-heptadekanas blogiau ekstrahavo trifenilalavo junginius. 3.36 Paveiksle pateikti rezultatai rodo, kad didžiausias PhAJ ekstrakcijos efektyvumas yra gaunamas naudojant cikloheksanolį ir *n*-heksadekaną.

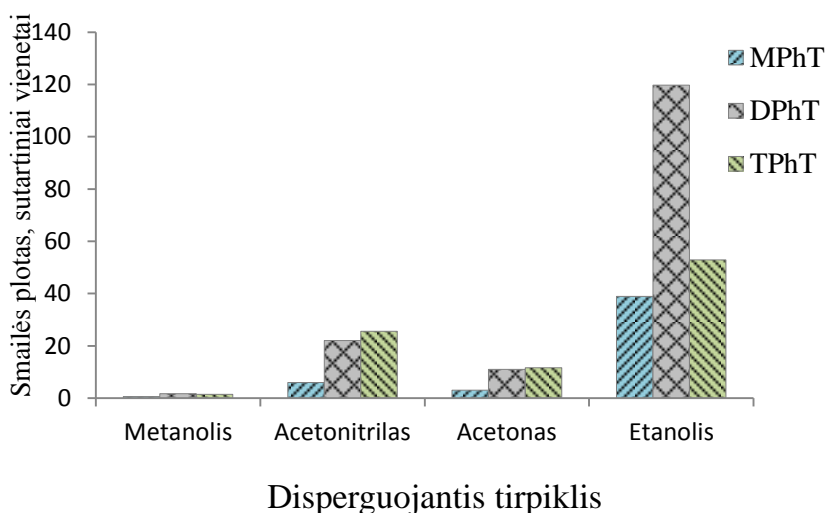
Iš 3.19 lentelėje pateiktų duomenų galima matyti, kad 1-chlorooktadekano ir *n*-heptadekano lydymosi temperatūros yra šiek tiek didesnės, todėl ekstrakcijos metu jie buvo kieti ir PhAJ ekstrakcija į juos vyko ne dėl pasiskirstymo, o dėl adsorbcijos. Tuo tarpu cikloheksanolis geriausiai ekstrahavo MPhT ir DPhT, o *n*-heksanolis – TPhT. Literatūros apžvalga parodė, kad tri-pakeisti alavo organiniai junginiai pasižymi didžiausiu toksiškumu, tai pasirenkant ekstrahuojantį tirpiklį buvo į tai atsižvelgta ir tolimesniems tyrimams pasirinktas *n*-heksadekanas.



**3.36 pav.** Ekstrahuojančio tirpiklio poveikis PhAJ DSSME-ŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracija 5 µg/l, NaBEt<sub>4</sub> koncentracija 0,04%, derivatizacijos trukmė 15 min.

### ***Disperguojantis tirpiklis***

Disperguojantis tirpiklis buvo išsirinktas iš keturių tirpiklių: acetono, acetonitrilo, metanolio bei etanolio (3.37 pav.)



**3.37 pav.** Disperguojančio tirpiklio poveikis DSSME-ŠTL efektyvumui. Mėginio tūris 8 ml, PhAJ koncentracijos 5  $\mu\text{g/l}$ ,  $\text{NaBEt}_4$  koncentracija 0,04 %, derivatizacijos trukmė 15 min.

Buvo atlikta DSSME-ŠTL ir DCh-MS analizė aukščiau aprašytu būdu. Ekstrakcijai buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 500  $\mu\text{l}$  disperguojančio tirpiklio ir 50  $\mu\text{l}$  ekstrahuojančio tirpiklio *n*-heksadekano. Šio tyrimo rezultatai yra pateikti 3.37 pav., iš kurio matyti, kad didžiausias ekstrakcijos efektyvumas buvo pasiektas naudojant etanolį, todėl etanolis buvo pasirinktas disperguojančiu tirpikliu.

### ***Ekstrahuojančio ir disperguojančio tirpiklių kiekiai***

Parinkus ekstrahuojantį bei disperguojantį tirpiklius, buvo optimizuojamas jų kiekis. Kaip ir klasikinėje DSSME, ieškant optimaliausio tirpiklių kiekio buvo atkreipiamas dėmesys į tai, kad kuo mažesnis ekstrahuojančio tirpiklio tūris, tuo labiau sukonzentruojamos analitės, tačiau tūris turi būti ne per mažas, o pakankamas analizei, t.y. toks, kad šaldant mėginio indą, ekstraktas suformuotų stabilų užšalusį lašą ir jį dar būtų galima perkelti į konusinį indelį, o ekstraktą išlydžius būtų mikrošvirkštu paimamas 1  $\mu\text{l}$  ekstrakto. Taip pat svarbu yra tai, kad nuo disperguojančio tirpiklio tūrio tiesiogiai priklauso emulsijos susidarymas, ekstrahuojančio tirpiklio dispergavimo laipsnis, o todėl ir ekstrakcijos efektyvumas. Disperguojančio

tirpiklio tūris lemia ir ekstrahuojančio tirpiklio tūrį, gaunamą po centrifugavimo, nes didesnis disperguojančio tirpiklio kiekis padidina ekstrahuojančio tirpiklio tirpumą vandenyje.

Pirmiausiai buvo ieškoma optimalaus ekstrahuojančio tirpiklio *n*-heksadekano tūrio. Šiam tikslui buvo naudojamas tirpalas, kuriame buvo 500 µl etanolio ir 10 – 50 µl *n*-heksadekano. Tyrimų metu paaiškėjo, kad 10 µl *n*-heksadekano nepakanka, kad atlikus ekstrakciją ir šaldant reakcijos indą, susiformuotų užšalusio ekstrakto lašas, kurį būtų galima perkelti į konusinį indelį. Tuo tarpu, naudojant 15 µl *n*-heksadekano užšalęs ekstrakto lašas buvo pakankamai didelis ir tinkamas analizei. Ekstrahuojančio tirpiklio tūrį didinant nuo 20 iki 50 µl, ekstrakcijos išeiga palaipsniui mažėjo, dėl analičių koncentracijos mažėjimo didėjančiame ekstrakto tūryje. Siekiant naudoti kuo mažesnę ekstrahuojančio tirpiklio kiekį ir gauti kuo didesnę ekstrakcijos išeigą, tolimesni tyrimai buvo atliekami naudojant 15 µl *n*-heksadekano.

Norint iširti disperguojančio tirpiklio tūrio poveikį, buvo naudojamas tirpalas su skirtingu etanolio tūriu (0,1 - 0,7 ml) ir 15 µl *n*-heksadekano. Esant mažam etanolio tūriui, ekstrakto lašą ne visada pavykdavo perkelti į konusinį indelį. Kai etanolio tūris viršijo 0,4 ml, ekstrakcijos efektyvumo pokyčiai buvo nereikšmingi. Dėl to, 0,4 ml etanolio kiekis buvo laikomas optimaliu, nes naudojant šį disperguojančio tirpiklio kiekį šaldymo metu susiformuodavo pakankamai didelis ekstrakto lašas, kurį buvo įmanoma perkelti į konusinį indelį. Tolimesniame darbe buvo naudojamas mišinys, sudarytas iš 15 µl *n*-heksadekano ir 0,4 ml etanolio.

### **3.3.2.2. Metodo analizės charakteristikos**

Optimizavus DSSME-ŠTL sąlygas, buvo nustatytos paruoštos metodikos pagrindinės analizinės charakteristikos: tiesiniai koncentracijų intervalai, aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumas. Siekiant sumažinti paklaidą,

atsirandančią dėl ekstrakto tūrio paėmimo paklaidos, buvo naudojamas vidinis standartas – 1 µg/ml chloroheksadekano ekstrahuojančiame tirpiklyje.

Rezultatų pasikartojamumas buvo įvertintas, naudojant vandeninį tirpalą, kuriame PhAJ koncentracija buvo 1 ir 10 ng(Sn)/l. DSSME buvo atliekama 5 kartus. Gautos santykinų standartinių nuokrypių vertės siekia 18,4 - 32,8 % (3.29 lentelė).

Tiesiniam koncentracijų intervalui nustatyti buvo ruošiama serija 8 skirtingų koncentracijų standartinių PhAJ tirpalų, praskiedžiant distiliuotu vandeniu pradinį standartinį tirpalą. Smalių plotų priklausomybė nuo PhAJ koncentracijos buvo tiesinė nuo 248 ng(Sn)/l (MPhT), 198 ng(Sn)/l (DPhT) ir 228 ng(Sn)/l (TPhT) iki 10 µg(Sn)/l (visoms analitėms). Kalibracinių kreivių koreliacijos koeficientų vertės buvo 0,993-0,997.

### 3.29 lentelė

Fenilalavo junginių aptikimo ribos ir rezultatų pasikartojamumai, atlikus DSSME-ŠTL

Analitė	Aptikimo riba, µg(Sn)/l	RSD, % (n=5)	
		1 µg(Sn)/l	10 µg(Sn)/l
MPhT	0,075	23,1	22,6
DPhT	0,060	24,1	18,4
TPhT	0,069	32,8	26,9

Palyginus tradicinės DSSME naudojant sunkesnę už vandenį ekstrahentą anglies tetrachloridą ir DSSME naudojant užšaldomą ekstrahentą *n*-heksadekaną rezultatus matyti, kad abiem atvejais gaunamos panašios aptikimo ribos, tačiau naudojant anglies tetrachloridą, rezultatų pasikartojamumas žymiai geresnis (žr. 3.30 lentelę). Dirbti su *n*-heksadekanu sudėtingiau, nes gana sudėtinga perkelti užšalusį ekstraktą į konusinį indelį taip, kad ten nepatektų vandens. Be to, naudojant užšaldomą tirpiklio lašą darbas trunka ilgiau, nes ekstraktą reikia užšaldyti, o po to išlydyti. Dujų chromatografinėi analizei anglies tetrachloridas yra žymiai palankesnis, mažiau teršiantis



chromatografinę kolonėlę ir leidžiantis pasiekti mažesnę analizės trukmę ekstrahentas, nei aukštos virimo temperatūros *n*-heksadekanas. Taigi vienintelis dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos naudojant užšaldomą ekstrahentą privalumas yra tas, jog nenaudojamas kenksmingas aplinkai chlorintas organinis tirpiklis. Antra vertus, ekstrakcijai tirpiklio sunaudojama vos 20 µl, todėl šis trūkumas nėra esminis. Todėl realių mėginių analizė buvo atliekami naudojant dispersinę skysčių – skysčių mikroekstrakciją su anglies tetrachloridu.

### 3.30 lentelė

Fenilalavo junginių nustatymo, taikant DSSME ir DSSME-ŠTL, aptikimo ribų palyginimas

Analitė	Aptikimo riba, ng(Sn)/l	
	DSSME	DSSME-ŠTL
MPhT	14	75
DPhT	58	60
TPhT	46	69

#### 3.3.3. Fenilalavo junginių nustatymas realiuose mėginiuose

Paruoštas PhAJ DSSME DCh-MS analizės metodas buvo pritaikytas trijų vandens mėginių analizei. Analizei buvo paimti mėginiai iš Lietuvos upių: Nemuno netoli Kauno, Ventos netoli Kuršėnų ir Akmenos žiotyse. Derivatizacija, ekstrakcija ir DCh-MS analizė buvo atlikti aukščiau aprašytu būdu. Tyrimo rezultatai parodė, kad šių upių mėginiuose fenilalavo junginių nėra arba jų koncentracijos mažesnės už aptikimo ribas. Tam, kad būtų išvengta matricos įtakos, mėginiai buvo analizuoti standartinių priedų metodu, į upių vandens mėginius buvo pridedama po 1,0 ir 10,0 µg(Sn)/l fenilalavo junginių. Gauti rezultatai buvo lyginami su tais, kurie gaunami analizuojant distiliuoto vandens mėginius su tais pačiais priedais. Santykinės išeigos buvo

nuo 91 iki 108 %, tai rodo, jog upės vandens matrica turėjo mažai reikšmės ekstrakcijos efektyvumui. Visi upių vandenų analizės rezultatai yra pateikti 3.31 lentelėje.

### 3.31 lentelė

Fenilalavo junginių nustatymo realiuose mėginiuose, taikant DSSME rezultatai

Analitė	Upės vanduo su 1,0 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$ priedu $s_r$ , %			Upės vanduo su 10,0 $\mu\text{g}(\text{Sn})/\text{l}$ priedu $s_r$ , %		
	Nemunas	Venta	Akmėna	Nemunas	Venta	Akmėna
MPhT	94 (13,4)	100(16,0)	95 (12,6)	99 (15,5)	108(18)	104(14,8)
DPhT	97 (15,2)	98 (18,4)	102(21,2)	95 (16,9)	102(20)	93 (20,5)
TPhT	91 (17,9)	101(19,6)	104(22,0)	97 (19,3)	92(21,1)	96 (21,0)

## IŠVADOS

1. Ištirtos organinių alavo junginių derivatizavimo sąlygos. Optimizuota reakcijos pH (metilalavo junginiams 3, butil- ir fenilalavo junginiams 4,5) bei trukmė (metilalavo junginiams 10 min, butilalavo junginiams 5 min, fenilalavo junginiams 15 min). Optimizuotos derivatizuotų organinių alavo junginių dujų chromatografinio-masių spektrometrinio nustatymo sąlygos.
2. Ištirtos dispersinės skysčių – skysčių mikroekstrakcijos metodo galimybės ekstrahuoti organinius alavo jungnius. Ekstrahuojančiais ir disperguojančiais tirpikliais pasirinkti: metilalavo junginiams 1,2-dichlorbenzenas ir etanolis, butilalavo junginiams anglies tetrachloridas ir metanolis, fenilalavo junginiams anglies tetrachloridas ir etanolis. Nustatyta, kad ekstrahuojančio tirpiklio visų OAJ ekstrahavimo atveju pakanka vos 20  $\mu$ l. Nustatytos paruošų metodikų analizinės charakteristikos: aptikimo ribos (MAJ 0,05-0,13 ng(Sn)/l, BAJ 1,7-5,9 ng(Sn)/l, PhAJ 14-58 ng(Sn)/l), rezultatų pasikartojumas (santykiniai standartiniai nuokrypiai MAJ 6,9-12,1 %, BAJ 9,0-17,0 %, PhAJ 4,6-17,3 %).
3. Ištirtos mikroekstrakcijos užšaldomu tirpiklio lašu metodo galimybės ekstrahuoti metil- ir butilalavo jungnius. Ekstrahuojančiais tirpikliais pasirinkta metilalavo junginiams *n*-heksadekanas, butilalavo junginiams 1-undekanolis. Nustatytos paruoštos metodikos analizinės charakteristikos: aptikimo ribos (MAJ 28-158 ng(Sn)/l, BAJ 300-500 ng(Sn)/l), rezultatų pasikartojumas (santykiniai standartiniai nuokrypiai MAJ 18,1-23,7 %, BAJ 15,6-31,0 %).
4. Ištirtos dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos panaudojant užšaldomą tirpiklio lašą metodo galimybės ekstrahuoti fenilalavo junginius. Ekstrahuojančiu ir disperguojančiu tirpikliu pasirinkta *n*-heksadekanas ir etanolis. Nustatytos paruoštos metodikos analizinės charakteristikos: aptikimo ribos (60-75 ng(Sn)/l), rezultatų pasikartojumas (santykiniai standartiniai nuokrypiai 18,4-32,8 %).

5. Palyginus paruošas organinių alavo junginių mikroekstrakcijos metodikas, nustatyta, kad tinkamiausia metodika realių mėginių analizei yra dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija. Šis metodas buvo pritaikytas Lietuvos upių vandens analizei. Atlikus tyrimus buvo nustatyta, kad Lietuvos upių (Nemunas, Skirvytė, Šventoji, Akmena, Venta, Neris) mėginiuose organinių alavo junginių nėra arba jų koncentracijos mažesnės už aptikimo ribas. Buvo pritaikytas priedo metodas ir nustatyta, kad upės vandens matrica turi mažai reikšmės ekstrakcijos efektyvumui.

**AUTORIAUS MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ, APIBENDRINTŲ  
DAKTARO DISERTACIJOJE, SĄRAŠAS**

**Moksliniai straipsniai**

1. **Vaida Šmitienė**, Inga Baškirova, Vida Vičkačkaitė. Speciation of butyltins by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chemija* **24**(3) (2013) 210-216.
2. **V. Smitiene**, I. Semasko, V. Vickackaite. Speciation of methyltins by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography with mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* **37** (2014) 1989-1995.
3. **Vaida Šmitienė**, Birutė Bugelytė, Vida Vičkačkaitė. Phenyltin compounds: dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination. *Chemija* **26** (2015) 32-37.

**Mokslinių konferencijų tezės**

1. **Vaida Šmitienė**, Vida Vičkačkaitė. Determination of organotin compounds in water using GC-MS with selected ion recording. Konferencijos „10th International conference of Lithuanian chemists „Chemistry 2011““ tezės, Vilnius, Lietuva (2011) 101.
2. **V. Šmitienė**, I. Semaško, I. Baškirova, V. Vičkačkaitė. Dispersive liquid-liquid microextraction of methyltin compounds. Konferencijos „18th International Scientific Conference „EcoBalt 2013““ tezės, Vilnius, Lietuva, (2013) 33.
3. **V. Smitiene**, I. Semasko, V. Vickackaite. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of Methylstannanes. Konferencijos “16th International Symposium on Advances in Extraction Technologies, ExTech 2014“ tezės, Chania-Kreta, Graikija, (2014) 145.

4. V. Vickackaite, **V. Smitiene**, B. Bugelyte. Phenyltins: Derivatization, Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and GC-MS Determination. Konferencijos “16th International Symposium on Advances in Extraction Technologies, ExTech 2014“ tezės, Chania-Kreta, Graikija, (2014) 146.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Oliveira R. de C., Santelli R. E., *Talanta*, **82** (2010) 9-24.
2. Nicholson J. W., *Journal of Chemical Education*, **66**(8) (1989) 621-623.
3. Hoch M., *Applied Geochemistry*, **16** (2001) 719-743.
4. Lieblich A. Bestimmung von Organozinnverbindungen in Sedimenten mittels GC-AED – Entwicklung von Extraktions- und Derivatisierungsmethoden. Dissertation. Der Technischen Universität Berlin (2005) D83.
5. Davies A. G. Organotin chemistry. Wiley-VCH, 2nd, Completely Revised and Updated Edition (2004) 438, ISBN: 3-527-31023-1.
6. Van der Kerk G. J. M., *Advances in Chemistry*, **157** (1976) 1–25.
7. Senaratne C., Emmanuel Y. Osei-Twum, Tawabini B. S., Al-Arfaj A. A. Organotin Compounds in the Marine Environment”. The 7<sup>th</sup> International Conference and Exhibition on Chemistry in Industry (CHEMINDIX) (2007).
8. Dobson S., Howe P. D., Wood M., Floyd P. Mono- and di- substituted methyltin, butyltin, and octyltin compounds. Concise International Chemical Assessment Document. World Health Organization **73** (2006) ISBN: 92 4 153073 1.
9. Ayanda O. S, Fatoki O. S., Adekola F. A., Ximba B. J., *Chem. Sci. Trans.*, **1**(3) (2012) 470-481.
10. Guard H. E., Cobet A. B., Coleman W. M., *Science*, **213** (1981) 770-771.
11. Pagliarani A., Trombetti F., Ventrella V. Biochemical and biological effects of organotins. University of Bologna, Italy (2012) 53-69, ISBN: 978-1-60805-265-3.
12. Blunden S. J., Evans C. J. Organotin compounds. In: Hutzinger O. (Ed.). The Handbook of Environmental Chemistry, Anthropogenic Compounds, *Springer*, **3** (1990) 1-44.
13. Sattelberger R. Organozinnverbindungen in der aquatischen Umwelt. Wien (2002) BE-214, ISBN: 3-85457-661-7.

14. Abdel-Ilah Sadiki, Williams D. T., *Chemosphere*, **38**(7) (1999) 1541-1548.
15. Attar K. M., *Applied Organometallic Chemistry*, **10** (1996) 317-337.
16. Henno P. van Dokkuma, Huwera S. L., *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **41** (2005) 73–81.
17. Bjorn A., Horsing M., Ejlertsson J., Svensson Bo H., *Waste Management & Research*, **29** (12) (2011) 1327–1336.
18. Zachariadis G. A., Rosenberg E., *Journal of Chromatography B*, **877** (2009) 1140–1144.
19. Basu Baul T. S., *Applied Organometallic Chemistry*, **22** (2008) 195-204.
20. Zhen-Hua Y., Miao J., Geng W., Hong-Mei Q., Yan-Lian H., Xiao-Ru W., *Chinese Journal Of Analytical Chemistry*, **36**(8) (2008) 1035–1039.
21. Ayoko G. A., Bonire J. J., Abdulkadir S. S., Olurinola P. F., Ehinmidu J. O., Kokot S., Yiasel S., *Applied Organometallic Chemistry*, **17** (2003) 749-758.
22. Tumkevičius S. Organiniai metalų junginiai: I dalis (Li, B, Si, Sn). Vilnius (2008) 122. Internetinė prieiga:  
[http://www.chf.vu.lt/siuntiniai/organiniai\\_metalu\\_junginiai\\_li\\_b\\_si\\_sn.pdf](http://www.chf.vu.lt/siuntiniai/organiniai_metalu_junginiai_li_b_si_sn.pdf)  
[žiūrėta 2015 m. vasario 19 d.].
23. Stille J. K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **25** (6) (1986) 508-524.
24. Nath M., *Applied Organometallic Chemistry*, **22** (2008) 598-612.
25. Li Y., Liu J., Li Q., *Molecular Carcinogenesis*, **49** (2010) 566-581.
26. Le Gac M., Lespes G., Potin-Gautier M., *Journal of Chromatography A*, **999** (2003) 123–134.
27. Tzollas N. M., Zachariadis G. A., *J. Sep. Sci.*, **33** (2010) 1610-1616.
28. Moser V. C., Barone Jr. S., Phillips P. M., McDaniel K. L., Ehman K. D., *NeuroToxicology*, **27** (2007) 409–420.
29. Chang-Hwan Oh, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **83** (2009) 239-243.
30. Sousa Ana C. A., Pastorinho M. R., Takahashi S., Tanabe S., *Environ. Chem. Lett.*, **12** (2014) 117–137.
31. Zhai G., Liu J., Li L., Cui L., He B., Zhou Q., Jiang G., *Chemosphere*, **72** (2008) 389–399.



32. Vahcic M., Milacic R., Scancarm J., *Analytica Chimica Acta*, **694**(1-2) (2011) 21–30.
33. Hoth A., Johannisson R., Ali S. S., Schulze J., Siegers C. P., *Toxicology and Industrial Health*, **21** (2005) 131-136.
34. Whalen M. M., Hariharan S., Loganathan B. G., *Environmental Research Section A*, **84** (2000) 162-169.
35. Huang G., Dai S., Sun H., *Applied Organometallic Chemistry*, **10** (1996) 377-387.
36. Byrd J. T., Andreae M. O., *Science*, **218** (1982) 565-569.
37. Arambarri I., Garcia R., Millan E., *Chemosphere*, **51** (2003) 643-649.
38. Godoi A. F. L., Montone R. C., Silva M. S., *Journal of Chromatography A*, **985** (2003) 205-210.
39. Biselli S., Bester K., Huhnerfuss H., Fent K., *Marine Pollution Bulletin*, **40** (2000) 233-243.
40. Shim W. J., Oh J. R., Kahng S. H., Shim J. H., Lee S. H., *Environmental Pollution*, **106** (1999) 351-357.
41. Horiguchi T., Shiraishi H., Shimizu M., Morita M., *Applied Organometallic Chemistry*, **11** (1997) 451-455.
42. Barroso C. M., Reis-Henriques M. A., Ferreira M., Gibbs P. E., Moreira M. H., *Applied Organometallic Chemistry*, **19** (2005) 1141-1148.
43. Schulte-Oehlmann U., Oehlmann J., Bauer B., Fioroni P., Leffler U. S., *Hydrobiologia*, **378** (1998) 215-225.
44. Klingmüller D., Watermann B. TBT – Zinnorganische Verbindungen – Eine wissenschaftliche Bestandsaufnahme. Berlin (2003) 132. Internetinė prieiga:  
<http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/publikation/long/2245.pdf> [žiūrėta 2015 m. vasario 21 d.]
45. Trabucco A., Di Pietro P., Nori S. L., Fulceri F., Fumagalli L., Paparelli A., Fornai F., *Archives Italiennes de Biologie*, **147** (2009) 141-153.
46. Paredes-Cervantes V., Diaz-Cedillo F., Aguilar-Santelises M., *FORMATEX*. (2013) 1675-1679.

47. Buck-Koehntop B. A., Porcelli F, Lewin J. L., Cramer C. J., Veglia G., *Journal of Organometallic Chemistry*, **691**(8) (2006) 1748–1755.
48. Internetinė prieiga: [http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem\\_TBT.htm](http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_TBT.htm) [žiūrėta 2015 m. kovo 7d.]
49. Europos Sąjungos Teršalų emisijos registras (2000/479/EC). Internetinė prieiga: [http://eper-prtr.kvvm.hu/docs/2000\\_479EC.pdf](http://eper-prtr.kvvm.hu/docs/2000_479EC.pdf) [žiūrėta 2015 m. vasario 24d.]
50. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva (2000/60/EB), nustatanti Bendrijos veiksmų vandens politikos srityje pagrindus. Internetinė prieiga: <http://www.am.lt/VI/files/0.325904001228308909.pdf> [žiūrėta 2015 m. vasario 24d.]
51. IMO (International Maritime Organisation), International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships, London, UK (2001). Internetinė prieiga: [www.imo.org/About/Conventions/listofconventions/pages/international-convention-on-the-control-of-harmful-anti-fouling-systems-on-ships-%28afs%29.aspx](http://www.imo.org/About/Conventions/listofconventions/pages/international-convention-on-the-control-of-harmful-anti-fouling-systems-on-ships-%28afs%29.aspx) [žiūrėta 2015 m. vasario 24d.]
52. Ataskaita „Vandens aplinkai pavojingų medžiagų nustatymas Lietuvoje“ (2007). Internetinė prieiga: [http://gamta.lt/files/Ataskaita\\_apie\\_vandens\\_aplinkai\\_pavojingu\\_medziagu\\_nustatyma\\_Lietuvoje.pdf](http://gamta.lt/files/Ataskaita_apie_vandens_aplinkai_pavojingu_medziagu_nustatyma_Lietuvoje.pdf) [žiūrėta 2015 m. vasario 24d.]
53. Lietuvos Aplinkos ministro įsakymas Nr. D1-416, 2010 m gegužės 18 d. Internetinė prieiga: <https://www.e-tar.lt/portal/lt/legalAct/TAR.2510FB677ADD> [žiūrėta 2015 m. vasario 28d.]
54. COHIBA. WP3 tyrimų Lietuvos rezultatų nacionalinė ataskaita Vilnius (2011) Internetinė prieiga: <http://gamta.lt/cms/index?rubricId=d17c7078-66af-4e3f-8418-cbcedb5727f> [žiūrėta 2015 m. vasario 24d.]
55. Campillo N., Aguinaga N., Vinas P., Lopez-Garcia I., Hernandez-C´ordoba M., *Analytica Chimica Acta*, **525**(2) (2004) 273–280.

56. Vičkačkaitė, V. Ekstrakciniai mėginio paruošimo dujų chromatografinėi analizei metodai. Vilnius (2008) 45, ISBN: 978-9955-33-277-0.
57. Vercauteren J., Peres C., Devos C., Sandra P., Vanhaecke F., Moens L., *Analytical Chemistry*, **73** (2001) 1509-1514.
58. Zachariadis G. A., Tzollas N. M., Nikolaou M., Rosenberg E., *Biomed. Chromatogr.*, **27** (2013) 299-305.
59. Aguilar-Martinez R., Palacios-Corvillo M. A., Greenwood R., Mills G. A., Vrana B., Gomez-Gomez M. M., *Analytica Chimica Acta*, **618**(2) (2008) 157–167.
60. Cacho J. I., Campillo N., Vinas P., Hernandez-Cordoba M., *Journal of Chromatography A*, **1279** (2013) 1-6.
61. Ikonou M. G., Fernandez M. P., He T., Cullon D., *Journal of Chromatography A*, **975**(2) (2002) 319-333.
62. Vella A. J., Adami J. P. T., *Applied Organometallic Chemistry*, **15** (2001) 901-906.
63. Webster L., Keith D., Hayes P., Davies I. M., Fisheries Research Services Internal Report No 06/03 (2003) 13.
64. Millan E., Pawliszyn J., *Journal of Chromatography A*, **873** (2000) 63-71.
65. Shioji H., Tsunoi S., Harino H., Tanaka M., *Journal of Chromatography A*, **1048** (2004) 81-88.
66. Dietz C., Sanz J., Sanz E., Munoz-Olivas R., Camara C., *Journal of Chromatography A*, **1153** (2007) 114-129.
67. Mersiowsky I., Brandsch R., Ejlertsson J., *J. Environ. Qual.*, **30** (2001) 1604-1611.
68. Tarptautinis norminis dokumentas ISO 17353:2004. Water quality. Determination of selected organotin compounds. Gas chromatographic method.
69. Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M. R. M., Aghaee E., Ahmadi F., Berijani S., *Journal of Chromatography A*, **1116**(1-2) (2006) 1-9.
70. Munoz J., Gallego M., Valcarcel M., *Analytica Chimica Acta*, **548** (2005) 66-71.

71. Belardi R., Pawliszyn J., *Water Pollut. Res. J. Canada*, **24** (11) (1989) 179-185.
72. Cardellicchio N., Giandomenico S., Decataldo A., Di Leo A., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369** (2001) 510-515.
73. Bravo M., Lespes G., De Gregori I., Pinochet H., Gautier M. P., *Anal. Bioanal. Chem.*, **383** (2005) 1082-1089.
74. Lambropoulou D. A., Konstantinou I. K., Albanis T.A., *Journal of Chromatography A*, **1152** (2007) 70-96.
75. Bravo M. M., Valenzuela A.S., Fuentes E. P., Quiroz W.V., *Journal of Chromatography A*, **1223** (2012) 9-14.
76. Bianchi F., Careri M., Maffini M., Mangia A., Mucchino C., *J. Anal. At. Spectrom.*, **21** (2006) 970-973.
77. Crnoja M., Haberhauer-Troyer C., Rosenberg E., Grasserbauer M., *J. Anal. At. Spectrom.*, **16** (2001) 1160-1166.
78. Noventa S., Barbaro J., Formalewicz M., Gion C., Rampazzo F., *Analytica Chimica Acta*, **858** (2015) 66-73.
79. Campillo N., Vinas P., Penalver R., Cacho J.I., Hernandez-Cordoba M., *Journal of Food Composition and Analysis*, **25** (2012) 66-73.
80. Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C., *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, **64**(1) (2009) 1-15.
81. Liu H., Dasgupta K. P., *Analytical Chemistry*, **68** (11) (1996) 1817-1821.
82. Jeannot M. A., Cantwell F. F., *Analytical Chemistry*, **68** (13) (1996) 2236-2240.
83. Jeannot M. A., Cantwell F. F., *Analytical Chemistry*, **69** (1997) 2935-2940.
84. Nerin C., Salafranca J., Aznar M., Batlle R., *Anal. Bioanal. Chem.*, **393** (2009) 809-833.
85. Sheikhloie H., Saber-Tehrani M., Abrumand-Azar P., Waqif-Husain S., *Acta Chromatographica*, **21** (2009) 577-589.
86. Xu L., Basheer C., Lee K. H., *Journal of Chromatography A*, **1152** (2007) 184-192.

87. Colombini V., Bancon-Montigny C., Yang L., Maxwell P., *Talanta*, **63** (2004) 555-560.
88. Leong M. I., Huang S. D., *Journal of Chromatography A*, **1211** (2008) 8–12.
89. Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K. E., *Analytical Chemistry*, **71** (1999) 2650–2656.
90. Psillakis E., Kalogerakis N., *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **22** (2003) 565-574.
91. Saraji M., Boroujeni M. K., Bidgoli A. A. H., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **400** (2011) 2149-2158.
92. Demeestere K., Dewulf J., De Witte B., Van Langenhove H., *Journal of Chromatography A*, **1153** (2007) 130–144.
93. Zang X. H., Wu Q. H., Zhang M. Y., Xi G. H., Wang Z., *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **37**(2) (2009) 161-168.
94. Birjandi A. P., Bidari A., Rezaei F., Hosseinia M. R. M., Assadi Y., *Journal of Chromatography A*, **1193** (2008) 19-25.
95. Sahin A., Duruka I., Bektas S., *E3S Web of Conferences.*, **1** (2013) 1-3.
96. Farajzadeh M. A., Khoshmaram L., Sheykhizadeh S., *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, **1** (2014) 1-19.
97. Wu C., Zhao B., Li Y., Wu Q., Wang C., Bull Z. W., *Korean Chem. Soc.*, **32** (2011) 829-835.
98. Biparva P., Matin A. A. Microextraction Techniques as a Sample Preparation Step for Metal Analysis. Atomic Absorption Spectroscopy. Dr. Muhammad Akhyar Farrukh (Ed.) (2012) 61-88, ISBN: 978-953-307-817-5.
99. Abadi M. D. M., Chamsaz M., Arbab-Zavar M. H., Shemirani F., *Anal. Methods*, **5** (2013) 2971-2977.
100. Ganjali M. R., Sobhi H. R., Farahani H., Norouzi P., Dinarvand R., Kashtiaray A., *Journal of Chromatography A*, **1217** (2010) 2337–2341.
101. Harrington C. F., Eigendorf G. K., Cullen W. R., *Applied Organometallic Chemistry*, **10** (1996) 339-362.

102. Zhai G., Liu J., Li L., Cui L., He B., Zhou Q., Jiang G., *Talanta*, **77** (2009) 1273–1278.
103. Montes R., Canosa P., Pablo Lamas J., Pineiro A., Orriols I., Cela R., Rodriguez I., *Anal. Bioanal Chem.*, **395** (2009) 2601-2610.
104. Garcia E. S., Garcia Alonso I., Sanz-Medel A., *Journal of mass spectrometry*, **32** (1997) 542-549.
105. GuiDi Yanga, JinHua Xua, LiangJun Xua, GuoNan Chena, FengFu Fua, *Talanta*, **80** (2010) 1913–1918.
106. Kaur V., Malik A. K., Verma N., *J. Sep. Sci.*, **29** (2006) 333–345.
107. Wang X., Ding L., Zhang H., Cheng J., Yu A., Zhang H., Liu L., Liu Z., Li Y., *Journal of Chromatography B*, **843** (2006) 268–274.
108. Morabito R., Massanisso P., Quevauviller P., *Trends in analytical chemistry*, **19** (2000) 113-119.
109. Nsengimana H., Cukrowska E. M., Dinsmore A., Tessier E., Amouroux D., *J. Sep. Sci.*, **32** (2009) 2426-2433.
110. Cai Y. Derivatization and Vapor Generation Methods for Trace Element Analysis and Speciation. Department of Chemistry & Southeast Environmental Research Center, Florida (2002) 10.
111. Seon H., Kwon E.Y., Lee D.S., *Bull. Korean Chem. Soc.*, **14** (1993) 234-238.
112. Calle-Guntinas M. B., Scerbo R., Chiavarini S., Quevauviller P., Morabito R., *Applied Organometallic Chemistry*, **11** (1997) 693-702.
113. Champ M. A., Seligman P. F. Organotin – Environmental, Fate and Effects. Chapman & Hall, (1996) 629, ISBN: 0-412-58240-6.
114. Liu W., Lee H. K., *Journal of Chromatography A*, **834** (1999) 45-63.
115. Martin F. M., Donald O. F. X., *Fresen. J. Anal. Chem.*, **351** (1995) 230-236.
116. Huang J. H., Matzner E., *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, **167** (2004) 33-38.
117. Carlier-Pinasseau C., Lespes G., Astruc M., *Talanta*, **44** (1997) 1163-1171.

118. Carlier-Pinasseau C., Lespes G., Astruc M., *Environ. Technol.*, **18** (1997) 1179-1186.
119. Smaele T. de, Moens L., Dams R., Sandra P., Eycken J. van der, Vandyck J *Journal of Chromatography A*, **793** (1998) 99-106.
120. Cassi R., Tolosa I., Bartocci J., de Mora S., *Applied Organometallic Chemistry*, **16** (2002) 355-359.
121. *Matematičeskij enciklopedičeskij slovar* 1988, Maskva: Sovetskaja enciklopedija.
122. Skug D., Uest D., *Osnovy analitičeskoj chimii*, 1 tomas, Maskva, Mir (1979) 438.
123. Magi E., Liscio C., Di Carro M., *Journal of Chromatography A*, **1210** (2008) 99-122.
124. Zachariadis G.A., Rosenberg E., *Talanta*, **78** (2009) 570-576.
125. Arnold C. G., Weidenhaupt A., David M. M., Muller S. R., Haderlein S. B., *Environmental Science and Technology*, **31** (1997) 2596-2602.
126. Lespes G., Desauziers V., Montigny C., Potin-Gautier M., *Journal of Chromatography A*, **826** (1998) 67.
127. Rezaee M., Yamini Y., Faraji M., *Journal of Chromatography A*, **1217** (2010) 2342-2357.