

Metode analize ftalata u okolišu

Nestić, Dora

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:387864>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Dora Nestić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Dora Nestić

METODE ANALIZE FTALATA U OKOLIŠU
ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

Zagreb, srpanj 2021.

Ovaj rad izrađen u sklopu HRZZ projekta Primjena naprednih tehnologija obrade voda za uklanjanje mikroplastike (IP-2019-04-9661, AdWaTMiR).

Zahvaljujem profesorima fakulteta što su mi tijekom dosadašnjeg studiranja prenijeli brojna znanja, a posebice mentoru, izv. prof. dr. sc. Šimi Ukiću, na danim smjericama i nesebičnoj pomoći prilikom izrade ovog rada. Zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je omogućila neometano i bezbrižno obrazovanje te bila konstantna podrška. Zahvaljujem se svom zaručniku koji mi je pružao podršku, pomoć, savjet i motivaciju. Zahvaljujem se i svim kolegama i prijateljima što su me savjetovali i pružili mi razumijevanje. Posebno hvala i dragome Bogu koji mi je udijelio mudrost i strpljivost tijekom pisanja ovog rada.

SAŽETAK

Ftalati su skupina plastifikatora koji se koriste u proizvodnji i preradi plastike. Njihova fizikalna i kemijska svojstva čine ih pogodnima za tu namjenu. Zbog njihove raširene primjene, lako dospijevaju u okoliš. Budući da imaju štetan učinak na ekosustav, a time i na čovjeka (npr. poremećaj funkcije endokrinog/reproduktivnog sustava), nužan je njihov monitoring. Raznovrsne tehnike ekstrakcije u kombinaciji s plinskom ili tekućinskom kromatografijom spregnutom s masenom spektrometrijom pogodne su za pouzdano određivanje ftalata.

Ftalati su vrlo prisutni u laboratorijskom okruženju (zrak, reagensi, otapala, oprema za uzorkovanje i razni analitički uređaji) što otežava njihovu kvantifikaciju u uzorcima. Zbog navedenog, prilikom analize ftalata potrebno je u laboratoriju primijeniti osiguranje kvalitete.

Analiza ftalata u okolišu uključuje uzorkovanje, ekstrakciju odnosno izoliranje analita te detekciju koja omogućuje njihovo kvantitativno određivanje. U ovome radu, dan je pregled metoda za analizu ftalata iz okoliša uključujući vodu, tlo, sedimente, mulj, biotu i zrak. Opisane su i uspoređene tehnike pripreme uzoraka kao i kromatografski sustavi za kvantifikaciju ftalata.

Ključne riječi: ftalati, onečišćenje, osiguranje kvalitete, ekstrakcija, kromatografija

SUMMARY

Phthalates are commonly used as plasticizers in production of the plastics due to their physical and chemical properties. Because of their widespread use, they get easily into the environment. Phthalates have negative impact on ecosystem including the humans (e.g. they are disruptors of endocrine and reproductive system). Therefore, their monitoring in the environment is necessary. Various extraction techniques combined with gas or liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection are considered appropriate approaches in analysis of phthalates.

Phthalates are ubiquitous compounds in analytical laboratory environment including ambient air, reagents, solvents, sampling equipment, and various analytical devices, which complicates severely their quantification. Therefore, for phthalate analysis, it is necessary to implement the quality assurance in the laboratory.

Quantification of phthalates in various environmental matrices includes sampling, extraction and detection. This paper reviews the extensive literature data on the methods for analysis of phthalates in various environmental matrices such as water, soil, sediments, sludge, biota and air. Sample preparation techniques as well as chromatographic systems for phthalate quantification are described and compared.

Keywords : phthalates, pollution, quality assurance, extraction, chromatography

SADRŽAJ

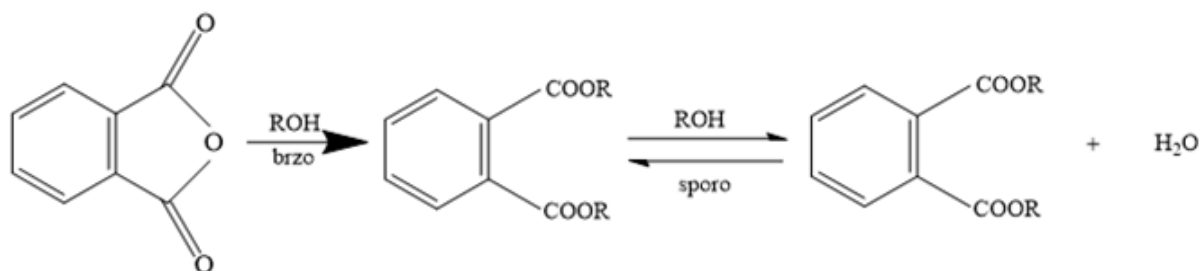
1	UVOD	1
2	PRISUTNOST FTALATA U OKOLIŠU	4
2.1	Izvori onečišćenja	4
3	OSIGURANJE KVALITETE	6
3.1	Uzorkovanje	6
3.2	Skladištenje i transport uzoraka.....	7
3.3	Priprema uzorka.....	7
3.4	Instrumentalna analiza	8
4	METODE ANALIZE.....	10
4.1	Analiza ftalata u vodenim uzorcima	10
4.1.1	Ekstrakcija kapljevina-kapljevina	11
4.1.2	Alternativni pristupi u ekstrakciji kapljevitom fazom	12
4.1.3	Ekstrakcija čvrstom fazom	13
4.1.4	Metode ekstrakcije čvrstom fazom bez uporabe otapala.....	14
4.1.5	Ostale metode ekstrakcije čvrstom fazom.....	15
4.2	Analiza ftalata u tlu, sedimentu i otpadnom mulju.....	15
4.2.1	Soxhletova ekstrakcija i njene alternative	16
4.2.2	Termalna desorpcija	18
4.2.3	Pročišćavanje uzorka.....	18
4.3	Analiza ftalata u zraku	19
4.3.1	Ekstrakcija otapalom.....	20
4.3.2	Termalna desorpcija	20
4.4	Analiza ftalata u biljkama	21
4.5	Kromatografska analiza ftalata.....	22
4.5.1	Analiza ftalata kapilarnom plinskom kromatografijom	22
4.5.2	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti.....	24

4.5.3	Micelarna elektrokinetička kromatografija	25
4.5.4	Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom.....	26
5	ZAKLJUČAK.....	27
6	LITERATURA	29
	ŽIVOTOPIS.....	33

1 UVOD

Ftalati su spojevi sintetskog podrijetla koji su vrlo rasprostranjeni u raznim potrošačkim proizvodima. Koriste se kao plastifikatori koji poboljšavaju svojstva plastičnih masa kao što su mekoća, savitljivost i rastezljivost. Njihova stabilnost, fluidnost, mala hlapljivost i velika molarna masa čini ih pogodnima za tu namjenu [1]. Neki od najčešće korištenih ftalata dani su u tablici 1.

Ftalati su po strukturi esteri ftalne kiseline i na sobnoj temperaturi su čiste, uljaste kapljevine. Budući da spadaju u organske spojeve, dobro su topivi u organskim otapalima te se dobro miješaju s ostalim plastifikatorima. Anhidrid ftalne kiseline i jednovalentni alkoholi su obično sirovine za sintezu ftalata. Prvi korak u sintezi ftalata je reakcija anhidrida i alkohola pri čemu dolazi do pucanja prstena i vezanja -OR dijela alkohola na jedan te vodika na drugi dio anhidrida pri čemu nastaje monoester. Ova reakcija je brza i ide do kraja, a uglavnom započinje na povišenim temperaturama te se nastavlja u egzotermnim uvjetima. Drugi korak je konverzija monoestera u diester uz izdvajanje molekule vode; voda se uklanja destilacijom kako bi se ravnoteža pomaknula u korist nastajanja diestera. Reakcija konverzije je spora i reverzibilna te određuje ukupnu brzinu kemijske reakcije nastanka estera ftalne kiseline. [2] Prikaz reakcije dan je slikom 1.



Slika 1. Reakcija nastanka ftalatnog estera

Brzina nastanka ftalata može se povećati uz korištenje katalizatora kao što su sulfatna i metasulfonska kiselina, p-toluensulfonska kiselina te natrijev hidrogensulfat ili dodatkom samog monoestera. Kataliziranje pomoću kiselina mora biti u temperaturnom intervalu 140-165 °C kako ne bi došlo do nepoželjnih reakcija (razgradnja alkohola, nastajanje etera i olefina), dok kod katalize samim monoesterom temperatura može biti i iznad 200 °C [2]. Raznolikost mogućih kemijskih struktura ftalatnih estera rezultira širokim spektrom fizikalno-

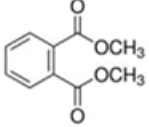
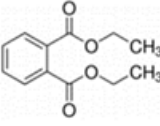
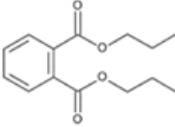
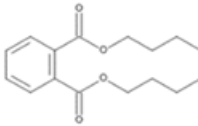
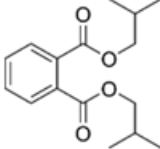
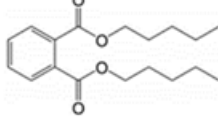
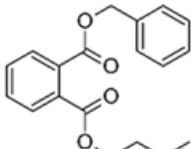
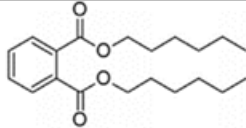
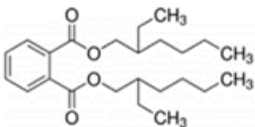
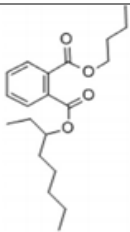
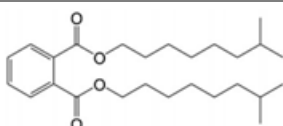
kemijskih svojstava što je uglavnom rezultat promjene duljine alkilnih lanaca supstituiranih na diester skupinama [1]. Početkom 20. stoljeća, dostupnost jednovalentnih alkohola bila je ograničena na one s lancem duljine do četiri atoma ugljika. To je rezultiralo razvojem i proizvodnjom četiriju estera ftalne kiseline među kojima su dimetil ftalat (DMP), dietil ftalat (DEP) koji se koristi kao ulje za prijenos topline i dibutil ftalat (DBP) koji smanjuje higroskopnost eksploziva [2]. Koliko su ftalati danas u uporabi govori činjenica da godišnja globalna potrošnja ftalata iznosi oko pet milijuna tona te da oni čine 87 % svih korištenih plastifikatora. Može se kazati da se ftalati danas nalaze gotovo u svemu. Tako su dugolančani ftalati dio polivinil-klorida (PVC), ljepila, ambalaže za hranu, medicinskih proizvoda (vrećice za transfuziju krvi, vrećice za intravensku tekućinu, cijevi, rukavice), automobilskih dijelova, dječjih igračaka te proizvoda koji sadrže vinilne spojeve (podne obloge, zavjese za tuširanje, kabanice, cipele, stolnjaci, presvlake za namještaj). S druge strane, kratkolančani ftalati su prisutni u kozmetici zbog dobrog svojstva otapanja. Oni se koriste u formulaciji parfema i kućnih mirisa jer su vrlo dobra otapala koja zadržavaju mirise. Također, oni osiguravaju da proizvodi učinkovitije prodiru i vlaže kožu pa ih nalazimo u kremama i dječjim losionima. U lakovima za nokte smanjuju njihovo pucanje, a u lakovima za kosu njihovu ukočenost [1,3-5].

Upravo zbog njihove široke primjene u raznim područjima, ftalati su postali sveprisutni zagađivači okoliša. Emisija ili migracija ftalata iz proizvoda u okoliš javlja se u svim fazama: od proizvodnje do primjene proizvoda. Budući da ftalati u proizvodu nisu vezani kemijskom vezom, oni lako migriraju u okoliš. Dio ftalata dolazi u okoliš kao posljedica gubitaka tijekom proizvodnje. Jednom kada dospiju u okoliš, akumuliraju se u gotovo svim njegovim sastavnicama (u vodi, tlu, zraku). [5,6]

Štetnost ftalata se očituje u raznim endokrinim i reproduktivnim poremećajima kod ljudi i životinja stoga njegovu prisutnost u urinu istražuju brojne studije. Nakon što je dokazana velika koncentracija ftalata u ljudskom urinu, pogotovo kod djece, neke institucije poput Vijeća Europske unije (ECHA, 2016) i Američke komisije za sigurnost potrošačkih proizvoda (CPSC, 2008), zabranile su njihovu uporabu u dječjim igračkama i odjeći [7].

U ovome radu, sažete su i opisane metode za analizu ftalata u vodi, tlu, sedimentu i otpadnom mulju, zraku i bioti. Zbog njegove sveprisutnosti, u radu je opisan i problem kontaminacije uzoraka te način na koji se postiže osiguranje kvalitete pri analizi.

Tablica 1. Najčešće korišteni ftalati

Ime	Oznaka	Formula	Molekulska struktura	CAS No.
Dimetil ftalat	DMP	$C_{10}H_{10}O_4$		131-11-3
Dietil ftalat	DEP	$C_{12}H_{14}O_4$		84-66-2
Di-n-propil ftalat	DPP	$C_{14}H_{18}O_4$		131-16-8
Di-n-butil ftalat	DBP	$C_{16}H_{22}O_4$		84-74-2
Di-iso-butil ftalat	DIBP	$C_{16}H_{22}O_4$		84-69-5
Di-n-pentil ftalat	DNPP	$C_{18}H_{26}O_4$		131-18-0
Butilbenzil ftalat	BBP	$C_{19}H_{20}O_4$		85-68-7
Di-n-heksil ftalat	DHP	$C_{20}H_{30}O_4$		84-75-3
Di(2-etilheksil) ftalat	DEHP	$C_{24}H_{38}O_4$		117-81-7
Butil-2-etilheksil ftalat	BEP	$C_{20}H_{30}O_4$		85-69-8
Di-iso-nonil ftalat	DINP	$C_{26}H_{42}O_4$		28553-12-0

2 PRISUTNOST FTALATA U OKOLIŠU

Budući da se ftalati učestalo koriste kao dodaci koji poboljšavaju svojstva plastike, sadrži ih velik broj plastičnih proizvoda opće uporabe [1]. Ftalati lako migriraju iz plastičnih masa u prostor koji ih okružuje, odnosno u okoliš. Naime, ftalati su samo fizički vezani za polimer plastike, a budući da se plastika koristi u širokom rasponu temperaturnih uvjeta, tlaka i vlage te dolazi u kontakt s drugim tvarima, ftalati se lako oslobađaju iz proizvoda u zrak i/ili se otapaju nakon kontakta s kapljevinama ili mastima. Koncentracija ftalata u zraku je između granice kvantifikacije pa do nekoliko tisuća ng/m^3 , točnije do $7 \cdot 10^6 \text{ ng/m}^3$ u industrijskim zonama. U vodi su pronađene koncentracije do $0.5 \cdot 10^6 \text{ } \mu\text{g/L}$, a u tlu do nekoliko stotina mg/kg . U zraku se ftalati prvenstveno nalaze adsorbirani na čestice (uglavnom čestice prašine iz kućanstva) s ukupnom razinom ftalata do $9,504 \text{ mg/kg}$, a dio ftalata se može pojaviti i u plinskoj fazi (ukupna razina ftalata u plinskoj fazi se kreće između 200 i 8290 ng/m^3). [4]

2.1 Izvori onečišćenja

Mnogo je različitih putova preko kojih ftalati mogu dospjeti u okoliš te će se u ovom poglavlju navesti nekoliko primjera. Koncentracija ftalata u zraku općenito se može pripisati njihovoj velikoj hlapljivosti zbog koje iz plastičnih proizvoda dopijevaju u atmosferu [1]. Utvrđeno je da je razina ftalata veća u zatvorenom prostoru u usporedbi s vanjskim zrakom jer se glavni izvori ftalata nalaze u zatvorenom te zato što je razgradnja u vanjskom okruženju brža [8]. Za primjer se može uzeti povećanje razine ftalata u zatvorenim prostorijama zbog otplinjavanja iz građevinskih materijala koji su sačinjeni od vinilnih spojeva (poput podova) ili u svježe obojanim prostorijama uslijed primjene boja koje sadržavaju ftalate [9]. Što se tiče proizvodnje ftalata, vrlo male koncentracije ftalata se ispuštaju u atmosferu. U osnovi se ftalati tijekom proizvodnje i prerade oslobađaju u otpadne vode [1]. Zbog navedenih razloga, okolišni zrak se ne smatra medijem koji izaziva značajnu zabrinutost poradi izloženosti ftalatima [9]. Ipak, zrak je vrlo povoljan medij za prijenos ftalata na velike udaljenosti [4]. Što se tiče tla, neki ftalati koji se oslobađaju u tlo neće ispariti niti će se isprati u podzemnu vodu, već će imati jaku tendenciju adsorpcije na tlo i sedimente. Primjer takvog ftalata je dietil ftalat koji se u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda čvrsto adsorbira na mulj; nažalost taj mulj se kasnije vrlo često koristi kao gnojivo. K_{oc} vrijednost (koeficijent raspodjele organskog mikrozagađivala između organskog ugljika i vode) dietil ftalata izmjerena u otpadnim vodama iznosi 69 L/kg [9,10]. Također, velika razina ftalata se nalazi u

poljoprivrednim tlima, a posebice na područjima gdje se koriste plastenici ili plastični filmovi kojima se oblažu sadnice [10]. Povrće koje raste unutar platenika može uzimati ftalate iz tla kroz korijenje ili iz zraka kroz listove što za posljedicu ima visoke razine ftalata (od 0,46 do 12,0 mg/kg) [7]. Ftalati također mogu doći otopljeni u hrani koja je u dodiru sa svojim plastičnim pakiranjem, ali i u vodi za piće zbog korištenja PVC cijevi u cjevovodima [4]. Ftalati ulaze u vodene tokove i ispuštanjem iz tvornica te otjecanjem sa zemljišta na kojima je kao gnojivo primijenjen mulj dobiven pročišćavanjem otpadnih voda [11]. Svjetska zdravstvena organizacija definirala je maksimalnu dopuštenu koncentraciju najčešće upotrebljavanog ftalata, DEHP-a, u vodi za piće u vrijednosti od 8 µg/L [5].

Kao što prethodni primjeri ukazuju, visoke razine ftalata su najviše zastupljene u otpadnim vodama, uključujući čak i one koje se nakon pročišćavanja puštaju u okolišne vode [4]. Naime, konvencionalni sustavi za pročišćavanje otpadnih voda uglavnom nisu dovoljno efikasni za uklanjanje ftalata. Otpadne vode mogu potjecati iz raznih industrija, kućanstava te gradskih kanalizacija [10]. Što se tiče prirodnih voda (rijeke i jezera), ftalati u njih dospjevaju putem hidrološkog ciklusa odnosno kiše koja ih donosi iz atmosfere ili ih ispire iz tla. Izvori onečišćenja ftalatima su dakako i razna odlagališta smeća s kojih ftalati dalje migriraju u atmosferu i tlo, a odatle i u prirodne vode [10].

3 OSIGURANJE KVALITETE

Glavni problem u analizi ftalata je problem kontaminacije uzorka koji rezultira lažno pozitivnim rezultatima ili većim koncentracijama nego što one u stvarnosti jesu. Rizik od kontaminacije uzorka je prisutan tijekom cijele analize uključujući uzorkovanje, skladištenje uzorka, pripremu uzorka te sam proces analize. Zbog široke primjene ftalata postoji njihova značajna prisutnost u zraku, vodi, organskim otapalima, plastičnim, ali i drugim materijalima koji se koriste u laboratoriju. U nastavku su navedeni koraci analize u kojima je moguća kontaminacija uzorka, a dane su i preporuke za minimiziranje onečišćenja [12].

3.1 Uzorkovanje

Uzorkovanje je prvi korak kod kojeg može doći do kontaminacije uzorka. Za uzorkovanje kapljevine i krutina bi se po mogućnosti trebale koristiti staklene posude [12]. Kod uzorkovanja vode koriste se boce od jantarnog stakla ili od aluminijske (uz one od običnog stakla). Odmah nakon uzorkovanja, boce se moraju obložiti kalciniranom aluminijskom folijom kako bi se ograničila fotokemijska oksidacija, ali i kako bi se spriječila adsorpcija ftalata iz zraka. Za uzorke tla, sedimenta ili mulja, treba se koristiti alat za uzorkovanje od nehrđajućeg čelika koji je prethodno pročišćen, a nakon uzorkovanja se takvi uzorci stavljaju u aluminijske posude koje su prethodno isprane otpalom. Uzorci zraka se sakupljaju na kalciniranom filtru od kvarcnih vlakana (eng. *quartz fiber filters*, QFF) ili na sorbensu koji se nalazi u staklenoj cijevi. Kvarcni ili stakleni filtri se prije uzorkovanja kalciniraju nekoliko sati na 450-550 °C kako bi se uklonili organski spojevi koji mogu stvarati interferencije [13]. Staklene cijevi sa sorbensima se prije uzorkovanja prekrivaju aluminijskom folijom sprječavajući eventualnu adsorpciju ili taloženje neželjenih komponenata iz okoline ili prstiju [14]. Jedan od načina kontaminacije uzorka jest i onaj preko čepova ili poklopaca za boce koje se koriste za uzorkovanje. Oni također moraju biti očišćeni ili se prethodno mora provjeriti da ne sadrže ftalate. Tijekom uzorkovanja, važno je izbjegavati kontakt samog uzorka i ruku onog koji uzorkuje, a pogotovo ako ta osoba nosi klasične laboratorijske rukavice. Umjesto klasičnih rukavica mogu se nositi nitrilne rukavice bez ftalata (tzv. *PAE-free nitrile gloves*) [12,15-16].

3.2 Skladištenje i transport uzoraka

Spremnici kapljevityh uzoraka moraju se skladištiti u aluminijskim spremnicima ili u spremnicima od nehrđajućeg čelika na 4 °C te ne bi trebali stajati duže od 4 dana jer su ftalati podložni biorazgradnji. Kemijsko konzerviranje može se izvršiti dodavanjem 500 mg natrijevog azida po litri kapljevityh uzorka ili zakiseljavanjem na pH vrijednosti 2-3 pomoću klorovodične, mravlje, dušične ili sumporne kiseline. Čvrste čestice koje uključuju uzorke tla, sedimenta, mulja, čvrstih čestica iz vodenih uzoraka i čestica iz zraka zaostalih na filtrima, moraju se skladištiti u pročišćenim aluminijskim spremnicima te čuvati na hladnom (0 °C) tijekom transporta. U laboratoriju, potrebno ih je čuvati na -20 °C sve to početka analize. Što se tiče uzoraka zraka, oni se zajedno s filtrima stavljaju u kalcinirane staklenke koje moraju biti zatvorene teflonskom trakom ili obložene aluminijskom folijom. One se zatim stavljaju u teflonske vrećice i čuvaju na -20 °C [13].

3.3 Priprema uzorka

Tijekom pripreme uzorka, rizik od onečišćenja ftalatima se smanjuje tako da se sama priprema svede na najmanju moguću mjeru što bi značilo: minimalni koraci ekstrakcije, minimalna koncentracija ekstrakta te minimalna uporaba staklenog posuđa [12]. Osim staklenog posuđa, u laboratoriju se za pripremu ftalata može koristiti i alat od teflona, politetrafluoretilena (PTFE), aluminijski i nehrđajućeg čelika [13]. Budući da su staklene posude i otapala glavni izvori onečišćenja tijekom pripreme uzorka, moraju se prethodno pročititi. Staklene posude se mogu pročititi ispiranjem s otapalom i termičkom obradom na 400 °C u trajanju od jednog do dva sata. Nakon hlađenja, staklene posude se moraju pospremiti u zatvorene spremnike ili obložiti aluminijskom folijom kako bi se spriječila adsorpcija ftalata iz zraka. Na početku korištenja, staklena posuda se mora isprati malom količinom organskog otapala koji je prethodno testiran na ftalate (cikloheksan, izooktan, *n*-heksan i dr.) kako bi se deaktivirala staklena površina budući da je njena aktivnost tijekom tretiranja visokom temperaturom povećana te se u tim trenucima ftalati najlakše adsorbiraju [12]. Uz ova otapala, staklene posude se može isprati i kiselim otopinama kao što su klorovodična kiselina, sulfokromna kiselina, smjesa amonijevog persulfata i sumporne kiseline ili otopina kalijevog hidroksida [13]. Podloge na koje se stavljaju ftalati moraju također biti staklene, od nehrđajućeg čelika ili prekrivene aluminijem [15]. Što se tiče otapala, ona često sadrže ftalate te je potrebno da njihove koncentracije budu što manje ne bi li i

kontaminacija ftalatima iz otapala bila na zanemarivoj razini [12]. Također, otapala moraju biti pročišćena destiliranjem i/ili dodatkom aktivnog aluminijevog oksida [17,18]. Reagens koji se često koristi u analizi ftalata je bezvodni natrijev sulfat koji može sadržavati do 0,5 mg/kg DEHP-a pa se i on prethodno mora ispitati na prisutnost ftalata [12]. Natrijev sulfat, kao i mnogi drugi reagensi poput aluminijevog oksida, silicijeva dioksida, natrijeva karbonata i natrijeva klorida, mogu se prethodno pročistiti kalciniranjem na 400-550 °C u trajanju od nekoliko sati [13]. Vrlo je važno paziti i da se smanji kontakt između uzorka i zraka u laboratoriju jer postoji opasnost kontaminacije uzorka ftalatima iz zraka. Koncentracija ftalata u zraku jednog laboratorija se često kreće između 100 i 500 ng/m³ (najčešće DIBP i DBP), a kao što je već spomenuto, staklene posude ga mogu adsorbirati. Ono što može kontaminirati zrak u laboratoriju su sredstva za čišćenje koja sadrže hlapljive ftalate (DEP, DIBP i DBP) kao i proizvodi za osobnu njegu poput krema za ruke, parfema, dezodoranasa i sl. Razni plastični predmeti koji se nalaze u laboratoriju, također mogu utjecati na količinu ftalata u zraku. Idealno rješenje bi bio laboratorij namijenjen isključivo za analizu ftalata u kojem ne bi postojali ovi izvori kontaminacije zraka i koji bi imao filtre za pročišćavanje zraka [12,13].

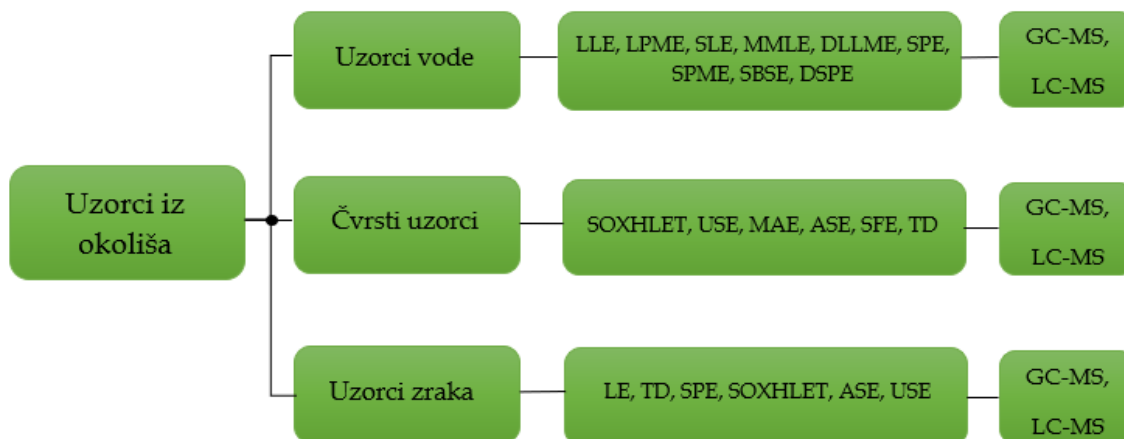
3.4 Instrumentalna analiza

Ftalati mogu biti prisutni i u kromatografskom sustavu koji se koristi za analizu. Tako su glavni izvori kontaminacije uzorka u plinskim kromatografskim (GC) analizama injektorska jedinica u kojoj se uzorak unosi, isparava, miješa s plinom i prenosi u kolonu te sustav za dovod plina. Injektorska jedinica može sadržavati dijelove čiji materijal sadrži ftalate, poput septuma ili brtvi [12]. Kada se kod GC analize sav uzorak prevede u paru i završi u koloni (eng. *splitless injection*; [19]), stvara se i velik oblak pare otapala koji iz spomenutih dijelova može ekstrahirati ftalate. Taj problem se može riješiti direktnim injektiranjem uzorka u kolonu gdje se koristi temperatura niža od temperature vrelišta otapala. Na taj način se uzorak ne prevodi u paru odmah u injektorskoj jedinici, već neposredno prije ulaska u kolonu (tzv. *cool on-column pristup*). [20,21] To se može postići i korištenjem PTV injektora (eng. *programmable temperature vaporization*) [22]. Ako se koristi „splitless“ tehnika injektiranja treba paziti kakve se pregrade, tj. septumi, koriste budući da one mogu sadržavati ftalate. Alternativa je da se koriste injektorske jedinice koje ih nemaju (npr. Merlin Microseal [23]). Ono što još može sadržavati ftalate, a potrebno je u analizi, su čepovi za vijale. Rješenje je da se injektiranje provede samo jedanput iz iste vijale jer kad se čep jednom

probuši, ftalati se iz njega ispuštaju u uzorak [12,24]. Tijekom analize, potrebno je osigurati da slijepa proba ne sadrži ciljane ftalate kako ne bi došlo do značajne kontaminacije. Nadalje, kako bi se minimalizirala pogreška kvantifikacije uzorka, uzorke slijepih proba bi trebalo ekstrahirati zajedno sa svakim nizom uzoraka ftalata te analizirati na kromatografskom sustavu tri puta. Za analizu ftalata, kalibracija se može provesti korištenjem unutarnjeg i vanjskog standarda. Ipak, preporuča se korištenje unutarnjeg standarda zbog brojnih koraka potrebnih između uzorkovanja i konačne analize. Gubitak ciljanih spojeva mogao bi biti značajan tijekom ekstrakcije, pročišćavanja, pretkoncentriranja, transporta i skladištenja uzorka [13].

4 METODE ANALIZE

U ovome poglavlju, dan je prikaz analitičkih metoda za određivanje ftalata u različitim uzorcima okoliša uključujući vodu, tlo, sedimente, mulj, zrak i biotu. Kako bi se ftalati izolirali iz matrica dobivenih iz navedenih sastavnica okoliša, potrebne su tehnike pripreme uzorka koje uključuju razne oblike ekstrakcije. Koja vrsta ekstrakcije će se upotrijebiti za pojedini uzorak, ovisi o podrijetlu matrice, stupnju onečišćenosti uzorka te željenom stupnju učinkovitosti, jednostavnosti, ekonomičnosti i sl. Nakon ekstrakcije ftalata iz različitih matrica, slijedi njihova analiza u nekom kromatografskom sustavu. Svaka metoda se odlikuje nekom karakteristikom i prednošću, a za navedene nedostatke razvijena su određena poboljšanja ili dana alternativna rješenja. Na slici 2. dan je shematski prikaz uobičajenog postupka analize ftalata iz različitih uzoraka okoliša [13].



Slika 2. Shematski prikaz uobičajenog postupka analize ftalata iz različitih uzoraka okoliša

4.1 Analiza ftalata u vodenim uzorcima

Analiza ftalata u vodenim uzorcima obično zahtijeva predtretman ekstrakcijom. Pri tome se koriste metode temeljene na ekstrakciji kapljevina-kapljevina ili ekstrakciji čvrstom fazom. Izbor metode ovisit će o složenosti matrice (voda za piće naspram otpadne vode) te o očekivanoj koncentraciji ftalata [12]. Što se tiče uzorkovanja vode, postoji aktivno i pasivno uzorkovanje. Aktivno uzorkovanje podrazumijeva uzimanje vode u određenoj količini (obično 1-10 L) na nekoj dubini. Ono je jednostavno za provođenje i nije skupo, a koristi se za kvantifikaciju ftalata koji su otopljeni u vodi, kao i oni koji se nalaze vezani za čestice u

vodi. Aktivno uzorkovanje je pogodno za određivanje ftalata kada se radi o nekoj ekološkoj katastrofi (ispuštanje industrijskog otpada, elementarne nepogode i sl.). S druge strane, pasivno uzorkovanje omogućuje određivanje prosječne koncentracije u nekom vremenskom periodu. U tu svrhu koriste se dva tipa uzorkivača: POCIS (eng. *Polar Organic Chemical Integrative Sampler*) i SPMD (eng. *Semipermeable Membrane Device*) koji mogu poslužiti za praćenje ultra-mikroskopskih količina ftalata otopljenih u vodi. SPMD je uzorkivač koji ne zahtjeva korištenje otapala u daljnjoj pripremi uzorka, dok POCIS zahtjeva, budući da se on sastoji od čvrstog adsorbensa smještenog između dviju hidrofилnih mikroporoznih membrana (efektivna površina mu iznosi 41 cm²). Karakteristika pasivnog uzorkovanja je mogućnost povećanja osjetljivosti analize čime se postiže niža granica detekcije [13].

4.1.1 Ekstrakcija kapljevina-kapljevina

Ekstrakcija kapljevina-kapljevina (eng. *liquid-liquid extraction*; LLE) odvija se na način da se organsko otapalo (50–500 mL) dodaje uzorku vode (500–1000 mL), a nakon protresanja i dekantiranja, ftalati će se sakupiti u organskom sloju. Otapalo koje se koristi može biti propanol u kojem su ftalati dobro topljivi, no njegov nedostatak je što se miješa s vodom pa mu je potrebno dodati amonijev sulfat kako bi se slojevi mogli bolje odijeliti. Kao otapalo se mogu koristiti i cikloheksan, heksan ili diklormetan koji nisu toliko mješljivi s vodom. Korištenje organskog otapala koje se ne miješa s vodom omogućuje izbjegavanje dodavanja organske soli što rezultira kraćim vremenom pripreme i manjim brojem koraka što minimalizira kontaminaciju samog uzorka. Kod najviše nepolarnih ftalata kao što su DEHP i DNOP, poželjno je dodati neki organski modifikator, npr. 50 %-tni metanol koji će poboljšati ekstrakciju. Nadalje, omjer organskog otapala i vodenog uzorka bi trebao biti manji od 20. Ako je taj omjer veći od 20, dobra učinkovitost ekstrakcije će se postići samo kod ftalata velike molarne mase ($\log K_{OW} = 7.73$ za DEHP), dok će oni sa malom molarnom masom biti slabije ekstrahirani ($\log K_{OW} = 1.61$ za DMP) budući da su takvi ftalati bolje topivi u vodi. LLE se može koristiti bez prethodnog odvajanja frakcija krutih čestica filtriranjem uzorka vode. Eventualna emulzija vode i krutih čestica može se spriječiti centrifugiranjem, dodatkom 20-150 g/L NaCl-a, ultrazvučnom kupelji, zamrzavanjem ili snažnim miješanjem. Nakon ekstrakcije, organski sloj se suši preko bezvodnog natrijevog sulfata. Nekada ekstrakt uz ftalate sadrži dodatne komponente kao što su ugljikovodici, detergentski ili steroidni alkoholi (podrijetlom iz biljaka). Takvi ekstrakti se pročišćavaju u kolonama od aktivnog aluminijskog oksida koje su prethodno isprane otapalom. Kolona se suši pod dušikom, a ekstrakt se eluira i

sakuplja u epruveti za daljnju analizu [12]. LLE ima prednost u analizi uzorka vode koji sadrže čestice ili kod jako kontaminiranih vodenih uzoraka (npr. otpadne vode). Također, prednost ove metode jest njena jednostavnost. Ipak, metoda je ograničavajuća kada se radi o analizi relativno čiste vode (voda za piće, riječna voda, morska voda) jer se u otapalima koja se koriste mogu naći tragovi ftalata. Zbog toga može doći do kontaminacije uzorka i velike pozadinske koncentracije ftalata u uzorku vode. Za takve uzorke, preferira se ekstrakcija čvrstom fazom. Još jedan nedostatak je taj što ova metoda zahtjeva veliku količinu, a time i potrošnju organskih otapala što može biti manje ekonomično [12,13].

4.1.2 Alternativni pristupi u ekstrakciji kapljevitom fazom

Tehnike koje su se razvile kao alternativni pristupi u ekstrakciji kapljevitom fazom su: ekstrakcija kapljevinom na čvrstoj podlozi (eng. *supported liquid extraction*; SLE), mikroekstrakcija kapljevinom-kapljevinom (eng. *liquid-phase microextraction*; LPME), ekstrakcija kapljevinom-kapljevinom uz mikroporoznu membranu (eng. *micro porous membrane liquid extraction*; MMLE) te disperzivna mikroekstrakcija kapljevinom-kapljevinom (eng. *dispersive liquid-liquid microextraction*; DLLME).

SLE je tehnika u kojoj i dalje koristimo dva nemiješljiva otapala od kojih je jedan voda. Međutim, za razliku od standardne LLE, voda je nanosena na kruti nosač visoke polarnosti. Primjena ove tehnike smanjuje utjecaj matrice uzorka [13]. LPME je relativno nova metoda pripreme uzorka. To je minijaturizirana primjena konvencionalne ekstrakcije kapljevinom-kapljevinom jer se koriste vrlo male količine otapala (u mikrolitrima). Tako je primjerice za ekstrakciju ftalata iz 10 ml vode potrebno svega 100 μL 1-dodekanola [13,25]. LPME se najčešće koristi za pretkoncentriranje uzorka radi lakše analize (povećanja granice detekcije i kvantifikacije). Ova tehnika je jednostavna, jeftina i ekološki povoljna budući da se koriste male količine otapala [25]. MMLE je također nadograđena metoda koja omogućuje automatizaciju procesa mikroekstrakcije kapljevinom-kapljevinom koristeći polipropilensku membranu koja ima dva utora – jedan za ulaz vodene faze, a drugi za ulaz otapala. Ekstrakcija se događa raspodjelom između dviju faza i difuzijom analita kroz membranu [13]. Još jedna inačica ove automatizirane tehnike ekstrakcije je ona u kojoj se koristi ekstrakcijska šprica (eng. *extracting syringe*). Ekstrakcijska šprica djeluje kao injektor pozicioniran na vrhu GC-a koji u istom koraku kombinira ekstrakciju i proces injektiranja. Ova tehnika se može koristiti za analizu ftalata u kompleksnim vodenim uzorcima [26]. Za ekstrakciju ftalata iz vodenih

uzoraka, može se koristiti i DLLME. Kod DLLME se otapalo za ekstrakciju (npr. CCl₄) dodaje prikladno disperzno otapalo (npr. acetonitril ili metanol) čime se povećava kontaktna površina između dviju faza. Smjesa ovih otapala se špricom brzo unosi u vodeni uzorak kako bi se stvorila mutna otopina. Ova tehnika je često potpomognuta ultrazvučnim tretmanom jer se na taj način omogućuje brže stvaranje mutne otopine s manje disperznog otapala što u konačnici povećava učinkovitost ekstrakcije i smanjuje vrijeme procesa [13].

4.1.3 Ekstrakcija čvrstom fazom

U usporedbi s LLE, kod ekstrakcije čvrstom fazom (eng. *solid-phase extraction*; SPE) nije potrebno koristiti veliku količinu otapala; to je puno ekonomičnije i manje štetno za okoliš budući da ne postoji problem odlaganja organskog otpada. Vodeni uzorak (100 mL do 2 L) se prevodi preko nepolarnog sorbensa na koji se ftalati adsorbiraju. Najpogodniji sorbens za adsorpciju ftalata je oktadecil silikagel (ODS, C18), a kao eluens se koriste različita otapala poput diklormetana, etil-acetata, heksana, metanola i drugih. Ekstrakcija čvrstom fazom može biti izvedena pomoću klasičnih kolonica koje su punjene sorbensom, no njihov je nedostatak što su sačinjene od polietilena ili polipropilena koji, kao aditive, mogu sadržavati ftalate i time kontaminirati uzorak. Primjerice kolonice za 500 mg ODS-a mogu otpustiti oko 3-14 ng DIBP-a, DNBP-a i DEHP-a. Zato se često koriste kolonice napravljene od stakla kako bi se analizirali uzorci u tragovima. Alternativa plastičnim kolonicama su i diskovi za ekstrakciju koji se sastoje od 100 do 500 mg oktadecil silikagela ugrađenog u niti teflona. Oni se koriste u slučaju velike količine vodenog uzorka koji se propušta pod visokim protokom. U klasičnom procesu ekstrakcije čvrstom fazom, kada se kolonice ispune sorbensom, kondicioniraju se etil acetatom i zatim suše u struji dušika kako bi se spriječila kontaminacija ftalatima iz zraka. Kondicioniranje se provedi s metanolom, pazeći da dio otapala ostane u koloni kako ne bi došlo do njenog sušenja. Uzorak se eluira brzinom protoka 2-10 mL/min. Nakon eluiranja, kolonica se suši dušikom oko pet minuta. Na kraju se uzorak prikuplja u kivetu koja sadrži 2 mL etil acetata koji predstavlja unutarnji standard (ISO 18856:2004). Ekstrakcija čvrstom fazom u analizi ftalata dobiva sve veću pažnju zbog mnogih prednosti kao što su manja količina organskog otapala (a posljedično tome i manja kontaminacija ftalatima iz dotičnih otapala) zatim jednostavnost same izvedbe i relativno kratko vrijeme izvođenja, poluautomatiziranost procesa (istodobno se mogu ekstrahirati i do 24 uzoraka vode) te mogućnost uklanjanja emulzija. Nadalje, ekstrakcija čvrstom fazom se može koristiti *on-line* što znači da se može povezati s kromatografom. Ekstrakcija čvrstom fazom se provodi u

analizi relativno čistih vodenih uzoraka (voda za piće, riječna voda, morska voda) stoga često nije potrebno dodatno pročišćavanje uzorka. Ipak, ukoliko se analizira otpadna voda ovom metodom, potrebno je pročišćavanje uzorka koje se izvodi pomoću aluminijevog oksida. Ftalati se ovom metodom mogu ekstrahirati direktno iz vode bez prethodne filtracije ako je količina krutih čestica u vodi manja od 1 g/L, no to je rijetko pa je često filtracija neizbježna kako bi se izbjeglo začepljenje kolonica. U slučaju male količine krutih čestica, potrebno je (nakon eluiranja) pustiti eluat da upije čestice nekoliko minuta. U drugom slučaju, potrebno je prvo filtrirati uzorak te mjeriti količinu ftalata odvojeno za vodu i za same krute čestice. Nekada su uzorci visoko kontaminirani organskim materijalom kao što su otapala, ulja ili to mogu biti detergentsi. Njihova prisutnost smanjuje sorpciju ftalata na sorbens stoga se kod takvih vodenih uzoraka preferira ekstrakcija kapljevina-kapljevina [12,13].

4.1.4 Metode ekstrakcije čvrstom fazom bez uporabe otapala

U posljednje vrijeme, sve više su poznate metode ekstrakcije bez uporabe otapala koje se primjenjuju u analizi vodenih uzoraka koji sadrže poluhlapive tvari u koje spadaju i ftalati. Jedna takva metoda je mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. *solid phase microextraction*; SPME) u kojoj se koriste silikatna vlakna prekrivena tankim (7-100 μm) slojem nekog polimera (najčešće polidimetilsiloksana), uronjena u uzorak vodene otopine koji se miješa. Nakon što se uzorak adsorbirao, silikatna vlakna se prebacuju u injektor GC-a u kojem je temperatura 250 °C. U injektoru se analit desorbira te prelazi u kolonu na daljnju analizu. Nedostatak SPME metode je mali volumen prevlake koji se dobije adsorpcijom (svega oko 0.5 μL) što rezultira vrlo velikim omjerom između volumena uzorka i ekstrakta. Zbog toga se samo otopljene tvari s vrlo visokim koeficijentom raspodjele oktanol-voda ($K_{ow} > 4$) mogu ekstrahirati ovom metodom uz dovoljno veliko iskorištenje [12]. Druga metoda ekstrakcije koja ne koristi otapalo je ekstrakcija miješalom (eng. *stir bar sorptive extraction*; SBSE). Ova metoda se temelji na adsorpciji otopljenih ftalata na magnetnom miješalu (magnetiću) prekrivenom polimerom (PDMS debljine 0,5-1,0 mm) i uronjenom u uzorak vode. Uzorak se miješa 30-120 minuta. Nakon ekstrakcije, magnetno miješalo se vadi iz uzorka i stavlja u instrument za termalnu desorpciju nakon čega se analizira GC-MS sustavom. SBSE su uglavnom provodi pri sobnoj temperaturi u trajanju od jednog do nekoliko sati pri 500-1000 okretaja u minuti. No, može se provesti i na većoj temperaturi (oko 50 °C) te pri većoj brzini miješanja (1200 okretaja u minuti). Prednost ovog tipa ekstrakcije je mala količina vodenog uzorka koja je dovoljna za analizu (2-10 mL) te vrlo visoka osjetljivost [12,13].

4.1.5 Ostale metode ekstrakcije čvrstom fazom

Disperzivna ekstrakcija čvrstom fazom (eng. *dispersive solid phase extraction*; DSPE) još jedna je alternativa klasičnoj SPE tehnici. DSPE za ekstrakciju ftalata iz vodenih otopina koristi grafen [17]. Grafen je alotropska modifikacija ugljika koji ima pogodna svojstva poput velike specifične površine, velikog adsorpcijskog afiniteta i mogućnosti brze adsorpcije (ali i desorpcije) zbog čega se u novije vrijeme koristi kao adsorbens za predkoncentraciju ftalata [27]. Postupak se sastoji u tome da se grafen dispergira u vodeni uzorak koji se zatim vrtložno miješa ne bi li se analit adsorbirao na dispergirane čestice grafena. Čestice se zatim od otopine odvajaju centrifugiranjem nakon čega slijedi desorpcija analita pomoću pogodnog otapala (najčešće acetonitril, aceton ili etil-acetat [13]) i bezvodnog Na₂SO₄ koji na sebe veže ostatak vode. Uzorak se potom analizira na GC-MS-u [17]. DSPE metoda je brza i jednostavna, no ima nisku osjetljivost: granica detekcije na GC-MS-u je između 2 i 7 µg/L [13]. Razlog tome je činjenica da je grafen vrlo lagan materijal kojeg je teško odvojiti iz suspendirane otopine čak i kada se koriste velike brzine centrifugiranja. Rješenje je dodatak magnetskih svojstava u grafen te dobivanje produkta s velikim adsorpcijskim afinitetom i velikom mogućnosti odvajanja [27]. Metoda koja koristi otopinu na bazi željeza u kojoj su dispergirane čestice grafena (otopina s magnetskim svojstvima) zove se magnetska ekstrakcija čvrstom fazom (eng. *magnetic solid phase extraction*; MSPE). Prednost magnetske ekstrakcije čvrstom fazom je vrlo dobra osjetljivost metode koja omogućuje nisku vrijednost granice kvantifikacije (LOQ: 3,1–37 ng/L na GC-MS sustavu). Također, u ovoj metodi, separacijski proces se može izvoditi direktno iz vodenih uzoraka koji sadrže suspendirane čvrste čestice bez prethodnog centrifugiranja i filtracije što ukazuje na jednostavnost, brzinu i isplativost metode [13].

4.2 Analiza ftalata u tlu, sedimentu i otpadnom mulju

Za razliku od uzoraka vode, određivanje ftalata iz čvrstih uzoraka zahtjeva dva koraka prije analize u nekom kromatografskom sustavu: ekstrakciju i pročišćavanje uzorka. Čvrstim uzorcima smatramo uzorke tla, sedimenta, otpadnog mulja, ali i čvrstih čestica podrijetlom iz vodenih uzoraka. Uzorkovanje sedimenata koristi se za proučavanje povijesne onečišćenosti ftalatima i za određivanje lokalne kontaminacije te njihove biorazgradnje. Određivanje ftalata u uzorcima mulja važno je kako bi se utvrdilo može li se određeni mulj koristiti kao gnojivo za biljke, ali i u svrhu povezivanja otpadnog mulja s onečišćenosti ftalatima u postrojenjima

za obradu otpadnih voda. Uzorke tla, mulja i sedimenta treba prvo osušiti na sobnoj temperaturi u spremištu odvojenom od laboratorija, a prije ekstrakcije usitniti i prosijati. Osušeni mulj obično sadrži 20–30 % suhe mase i može se analizirati na sličan način kao tlo i sedimenti. Mokri mulj (suha masa < 5 %) može se analizirati kao takav ili nakon uklanjanja vodene faze (centrifugiranje, filtriranje). Uočeno je da veliki spektar otapala kao što su aceton, acetonitril, diklormetan, heksan i etil acetat pogoduje ekstrakciji iz uzorka tla, sedimenta i mulja. Izdvajanje ftalata iz čvrstih čestica uobičajeno se izvodi Soxhletovom tehnikom ekstrakcije, no razvijene su i druge pogodne tehnike za ekstrakciju ftalata koje koriste manje otapala, zahtijevaju manje vremena ili imaju poboljšanu preciznost. Najjednostavnija i najjeftinija metoda ekstrakcije ftalata iz uzoraka tla koja se također može koristiti je klasična ekstrakcija mućkanjem [12,13].

4.2.1 Soxhletova ekstrakcija i njene alternative

Soxhletova ekstrakcija je ekstrakcija krutina-kapljevina koja se izvodi na način da se čvrsti uzorak stavi u Soxhletov cilindar napravljen od čvrstog filter papira. Cilindar se zatim stavlja u Soxhletovu aparaturu gdje refluksirano ekstrakcijsko otapalo kondenzira u cilindar i ispire topljive komponente [28]. Najčešća otapala koje se koriste u analizi ftalata su toluen, tetraklormetan s dodatkom karbinola i diklormetan [29]. Ponekad ekstrakti dobiveni iz čvrstih uzoraka, osim ftalata, mogu sadržavati i neke komponente poput sulfatnih spojeva koji se prije analize u kromatografskom sustavu uklanjaju ultrazvučnom obradom uz korištenje tzv. bakrenog praha [12]. Prednosti ove tehnike ekstrakcije su prihvatljiva cijena (u odnosu na modernije metode ekstrakcije) te mogućnost analize male količine uzorka [28]. Ipak, ova metoda ima više nedostataka. Američka agencija za zaštitu okoliša (Environmental Protection Agency, EPA) je u svojim analizama koristeći ovu tehniku pokazala da i nakon dugotrajnog refluksiranja otapalom (3 dana), ftalati zaostaju u aparaturi [13]. Uz to, Soxhletova ekstrakcija je spora metoda (4–72 h) koja koristi relativno velike količine otapala (100–250 mL po uzorku). Upravo zbog velike uporabe otapala, glavni problem ove tehnike ekstrakcije je kontaminacija ftalatima iz otapala. Posljednjih godina automatizirane i minijaturizirane tehnike ekstrakcije polako zamjenjuju klasičnu Soxhletovu ekstrakciju. Te tehnike uključuju automatiziranu Soxhletovu ekstrakciju (tzv. Soxtec), ultrazvučnu ekstrakciju (eng. *ultrasonic extraction*; USE), mikrovalnu ekstrakciju (eng. *microwave-assisted extraction*; MAE), ubranu ekstrakciju otapalom uz visok tlak (eng. *accelerated solvent extraction*; ASE) i ekstrakciju superkritičnim fluidom (eng. *supercritical fluid extraction*; SFE) [12].

Automatizirana Soxhletova ekstrakcija je brza tehnika ekstrakcije koja koristi puno manje otapala nego klasična Soxhletova ekstrakcija. Daljnje smanjenje potrošnje otapala moguće je primjenom SFE ekstrakcije. U toj tehnici se za ekstrakciju ftalata koristi superkritični fluid CO₂. Ova metoda ekstrakcije se provodi na nešto višoj temperaturi (60 °C) uz heksan kao otapalo. Učinkovitost ovog tipa ekstrakcije, najčešće za uzorke sedimenata i kanalizacijskog mulja, vrlo je visoka. Primjerice za DBP i DEHP iznosi 90 %, a za DINP 84 % [12]. Prednosti ove metode su brzina, smanjena potreba za staklenim posuđem, mala uporaba otapala te dobra učinkovitost kod rada s malim količinama uzorka (< 1 g) [30]. MAE je još jedna od tehnika ekstrakcije koja se može koristiti za pripremu uzoraka ftalata. Ova tehnika ne zahtjeva pročišćavanje uzorka kao ni predkoncentriranje. Mikrovalna ekstrakcija vrlo je prikladna za rutinsku analizu te nudi kraće vrijeme postupka i manju potrošnju otapala. Neka od primjenjivih su aceton/diklormetan (1:1), aceton/diklormetan (1:4), diklormetan/aceton (1:4) te acetonitril koji se pokazao najpogodnijim za ekstrakciju ftalata. Jedna uobičajena mikrovalna pećnica za analizu ftalata opremljena je s 10 teflonskih posuda u kojima se nalaze uzorci tla s ekstrakcijskim otapalom. Prije nego li se posude stave u mikrovalnu pećnicu, svaka posuda se mora zabrtviti kako bi se spriječio prolazak plina te promućkati nekoliko sekundi. Kada završi ekstrakcija, posude se vade iz pećnice kako bi postigle sobnu temperaturu. Ekstrakt se filtrira (promjer pora otprilike 0,45 µm) te se dobiveni talog ispire ekstrakcijskim otapalom uslijed čega se u njemu otapa za daljnju analizu u kromatografskom sustavu. Vrlo je važna i temperatura mikrovalnog zračenja jer ona utječe na interakcije i brzinu ravnoteže te kontrolira raspodjelu analita između uzorka i otapala. Optimalni uvjeti za ekstrakciju ftalata iz tla su temperatura od 100 °C i vrijeme od 30-tak minuta [31]. USE je vrlo jednostavna tehnika ekstrakcije koja se može izvesti jednostavnim protresanjem uzorka s otapalom ili korištenjem ultrazvučne kade [13]. Tehnika je brza i ne koristi velike količine otapala, a njena učinkovitost je visoka kao i kod Soxhletove ekstrakcije. Ona se obično izvodi na način da se suhom ili mokrom čvrstom uzorku (npr. sedimenata) doda mala količina otapala (acetonitrila) nakon čega se on podvrgava kratkom ultrazvučnom djelovanju u trajanju od 10-ak minuta. Nakon toga se dodaje drugi obrok otapala te ponovno podvrgava ultrazvučnom djelovanju na malo duže vrijeme (20–30 minuta). Drugi obrok otapala koji se dodaje se, zapravo, sastoji od dva otapala koji su u nekom određenom omjeru. Najčešće je to heksan pomiješan s acetonitrilom, diklormetanom ili acetonom. Nastali organski sloj se izolira i ispire vodom, a faza koja sadrži heksan se čisti aluminijevim oksidom. Ultrazvučno djelovanje se može ponoviti i do tri puta, a svaki puta je potrebno izolirati gornji, organski sloj te ga zamijeniti novim obrokom otapala [12]. U ASE tehnici, otapala se mogu zagrijavati

na temperaturi iznad temperature vrelišta što im omogućuje puno veću mogućnost otapanja ciljanih komponenata iz same matrice. Štoviše, ova tehnika održava stalne uvjete ekstrakcije, te je moguća njena automatizacija što posljedično daje pouzdanu ponovljivost tehnike. Kao i kod ostalih ekstrakcija, čvrste čestice je potrebno prethodno osušiti, samljati i prosijati na situ (veličine pora između 0,2 i 2,0 mm). Usitnjavanje čestica je važno zbog veće učinkovitosti ekstrakcije budući da je na taj način bolji kontakt između otapala i uzorka. U uzorak se često dodaju i sredstva poput bezvodnog natrijevog sulfata koja sprječavaju nakupljanje čestica [13]. Ekstrakcija se vrši tako da se otapalo (diklormetan, heksan i dr.) u tlači do 5000 psi te zagrijava na nekih 100 °C. Zatim se ono pumpa do ekstrakcijske ćelije s uzorkom. Ekstrakcija se vrši u prosjeku 15 minuta na 100 °C i tlaku od 2000 psi [12]. Visoki tlak omogućava da otapalo može prodrijeti dublje u maticu uzorka pospješujući ekstrakciju ftalata iz pora matrice, dok povišena temperatura povećava topljivost analita te ubrzava prijenos tvari [32]. Ova tehnika koristi minimalnu količinu otapala, omogućuje uštedu vremena te smanjuje napor. Osim toga, proces pročišćavanja se može odvijati tijekom simultane ekstrakcije. Za tu potrebu se koriste sorbensi poput C18 smole, sintetskog magnezijevog silikata, kiselog aluminijevog oksida i dr. [33].

4.2.2 Termalna desorpcija

Termalna desorpcija (eng. *thermodesorption*; TD) je tehnika koja koristi toplinu kako bi povećala nestabilnost ftalata u čvrstim česticama (tla, sedimenta) i na taj način ih uklonila od čvrste faze [34]. To je tehnika koja ne zahtjeva nužno pripremu uzorka (npr. usitnjavanje), već se uzorak može direktno analizirati dajući zadovoljavajuće rezultate. Uređaj za termalnu desorpciju je najčešće povezan s nekim kromatografskim sustavom (npr. GC-MS). Uzorak se zagrijava do temperature na kojoj se ftalati desorbiraju iz čvrstih čestica, isparavaju i kroz cijev putuju do detektora (npr. Spektrometra masa) [13].

4.2.3 Pročišćavanje uzorka

Budući da su uzorci tla, sedimenta i mulja vrlo heterogeni, ekstrakti koji su dobiveni iz njih često sadrže razne interferencije ili su ekstrahirane spojeve poput biljnih sterola. Zbog toga, ekstrakti se moraju pročistiti. Najčešće se za tu svrhu koristi jednostavna metoda pročišćavanja koja se temelji na ekstrakciji čvrstom fazom. Ekstrakt iz sedimenta se nanosi na sorbens smješten u staklenoj koloni koja se potom ispire otapalom ili smjesama otapala tri

puta; treća frakcija predstavlja onu koja sadrži ftalate. Eluiranje se provodi najčešće sljedećim smjesama otapala: heksan i metil terc-butil eter, heksan i diklormetan te aceton i diklormetan. Izbor otapala ovisi o vrsti sorbensa koji se koristi. Sorbensi za pročišćavanje ekstrakata mogu biti neutralna glinica (obična ili dodatno prekrivena bezvodnim natrijevim sulfatom), magnezijev silikat ili silicijev dioksid [13,35]. Ponekad se za pročišćavanje ekstrakta koristi centrifugiranje ili filtracija koja može ukloniti preostale čvrste čestice [13].

4.3 Analiza ftalata u zraku

Većina ftalata je adsorbirana na neku krutu tvar pa tako i na čestice prašine koje lete zrakom. No, budući da su ftalati poluhlapivi spojevi, u zraku su i u plinovitoj fazi, ali i kao aerosol. Ftalati se u zraku nalaze u tragovima (od nekoliko ng ili μg po metru kubnom) stoga njihova direktna analiza nije moguća, već su potrebne neke tehnike „obogaćivanja“ uzorka. Obogaćivanje spojeva u zraku se može postići aktivnim ili pasivnim koncentriranjem otopljenih tvari na sorbensima [12]. Osim toga, uzorci zraka se ne mogu podvrgnuti klasičnim postupcima analize kao vodeni i čvrsti uzorci jer kod zraka postoji veliki rizik od kontaminacije [36]. Kod zraka može se koristiti pasivno i aktivno uzorkovanje. Pasivnim uzorkovanjem se analit (ftalati) postepeno izdvaja iz zraka difuzijom ili taloženjem u prikladan medij tijekom određenog vremena, dok se aktivnim uzorkovanjem, određeni volumen zraka propuhuje kroz uređaj za uzorkovanje [37]. U aktivnim metodama uzorkovanja ftalata iz zraka, uzima se obično 60 do 240 L zraka brzinom od 1 L/min [14]. Za određivanje ukupne koncentracije ftalata u zraku (ftalati adsorbirani na čestice + aerosol + parna faza), uzorkovanje se provodi pomoću cijevi koja je iznutra obložena odgovarajućim sorbensom. U tu svrhu, najviše se koriste aktivni ugljen, porozni polimeri (npr. polimer difenilfenilen oksida) i smole (npr. XAD-2). Za uzorkovanje i analizu ftalata u obliku aerosola i parne faze, može se koristiti i kolonica ispunjena smolom koja dolazi u kombinaciji s čepom od poliuretanske pjene. Ftalati vezani za čestice iz zraka mogu, prije kontakta sa sorbensom u cijevi, biti sakupljeni na filtru od staklenih vlakana. Na taj način se ftalati adsorbirani na čestice (prašine) mogu analizirati odvojeno od ftalata prisutnih u aerosolu i parnoj fazi. Ipak, takav princip je još uvijek upitan budući da može doći do toga da se čestice parne faze također zadrže na filtru ili na česticama prašine (koje su zadržane na filtru). Uzorkovanje čestica prašine se može izvesti pomoću vakuum-cijevi, filtara od staklenih vlakana ugrađenih u pumpe za uzorkovanje velikog volumena zraka ili posebnim uzorkivačima prašine. Ekstrakcija ftalata iz čestica prašine se može izvesti metodama koje se koriste za ekstrakciju

čvrstih uzoraka [12]. Pasivno uzorkovanje je pogodno za mjerenje količine ftalata u zatvorenim prostorijama. Metoda uključuje uporabu sorbensa (npr. ugljen) koji se stavi u držač (npr. polupropusni membranski uređaj) koji se postavi na određeno mjesto. Nakon nekog vremena, ftalati će se nataložiti na tom sorbensu [14]. Osim toga, za pasivno uzorkovanje se mogu koristiti razni filtri od kvarcnog stakla (eng. *quartz filter fiber*, QFF) kao i aluminijske boce [13]. Neovisno o tome je li uzorkovanje pasivno ili aktivno, desorpcija uzorka se može provesti pomoću ekstrakcije otapalom ili termalnom desorpcijom.

4.3.1 Ekstrakcija otapalom

Ekstrakcija otapalom (eng. *liquid extraction*, LE) se koristi kada se na filtrima istalože krute čestice koje lete zrakom. Ekstrakcijski postupak za izdvajanje ftalata iz takvih čestica je vrlo sličan onom za čvrste uzorke (tla i sedimenti) [12]. LE može biti izvedena koristeći različite uvjete kao što su temperatura, tlak ili ultrazvučno djelovanje (Soxhletova ekstrakcija, tlačna ekstrakcija ili ultrazvučna ekstrakcija). U ovoj tehnici se koriste otapala poput toluena, cikloheksana, smjese diklormetana i heksana i sl. Nakon provedene ekstrakcije, ekstrakti otapala obično koncentriraju pomoću lagane struje dušika koja omogućuje isparavanje otapala i time obogaćivanje analita [4]. Ova tehnika predstavlja problem budući da se uzorci mogu kontaminirati korištenjem otapala, a uz to je prisutna i smanjena osjetljivost metode [36,14]. Ipak, ima i nekoliko prednosti. Kod ekstrakcije otapalom može se postići kvantitativna ekstrakcija otopljenih tvari, ekstrakt se može dalje frakcionirati ili pročistiti, a posljednji se ekstrakt može analizirati nekoliko puta [12].

4.3.2 Termalna desorpcija

Termalna desorpcija ima za prednost veliku osjetljivost jer se sve adsorbirane komponente kvantitativno prenesu do detektora. Zbog toga, ova tehnika ne zahtjeva uporabu velike količine uzorka. Ipak, kod termalne desorpcije postoji problem utjecaja interferencija, pogotovo kod analize ftalata, te slaba učinkovitost desorpcije kada se radi o komponentama s velikom molarnom masom. Tada je potrebna velika količina energije, tj. topline, pogotovo kad se koriste klasični sorbensi poput aktivnog ugljena i poroznih polimera. Zbog navedenih razloga, uzorci se moraju „obogatiti“ odnosno potrebno je provesti predkoncentriranje. U tu svrhu, koristi se 100 %-tni polidimetilsiloksan (PDMS) kao sorbens koji se nalazi u staklenoj cijevi uređaja za termalnu desorpciju. PDMS se u cijevi nalazi iznad temperature staklastog

prijelaza, na temperaturi uzorkovanja (0–30 °C), a otopljene tvari se sorbiraju, odnosno otapaju u kapljevitoj fazi PDMS-a umjesto na aktivnoj površini kako je to slučaj kod klasičnih metoda uzorkovanja. Takav princip rada omogućava dovoljno „obogaćivanje“ uzorka pri umjerenim temperaturama i relativno velikim brzinama uzorkovanja. PDMS je inertan materijal koji ima veliku toplinsku stabilnost. Što se tiče interferencija, najčešće se radi o silikatima male molekulske mase koji se pojavljuju na kromatogramima zajedno s ekstrahiranim ftalatima. Alternativno rješenje je presvlačenje inertne podloge poput dijatomejske zemlje s 5 %-tnom PDMS gumom nakon čega se cijev, ispunjena tim materijalom, kondicionira na 300 °C tijekom dva sata pri protoku helija od 300 mL/min. Budući da je uređaj za termalnu desorpciju povezan s GC-MS uređajem, po završetku desorpcije otopljeni ftalati se automatski injektiraju u kapilarnu kolonu [12,14].

4.4 Analiza ftalata u biljkama

Određivanje ftalata u biološkim matricama poput onih iz biljaka i životinja je relativno teško zbog kompleksnosti matrice. Metodologija određivanja ftalata u bioti se može podijeliti u dvije skupine ovisno o udjelu lipida u matrici. Lipidi predstavljaju problem jer imaju sličnu polarnost kao i ftalati pa ih je teško razdvojiti metodama temeljenim na kolonskoj kromatografiji ili ekstrakciji čvrstom fazom. Oni se odvajaju od ftalata primjenom kromatografije isključenjem po veličini (kromatografija na propusnom gelu). Ona može biti povezana s dijelovima HPLC-a te na taj način postaje automatizirana i troši puno manje otapala. Ako uzorci sadrže mali udio lipida (< 1 %), ftalati se iz njih mogu ekstrahirati metodama koje se koriste za ekstrakciju iz tla i sedimenata. Nakon ekstrakcije, potreban je proces pročišćavanja ekstrakta budući da ostale sastavnice poput sterola, pigmenta i flavonoida se ekstrahiraju zajedno s ftalatima. Ovdje se kao metode pročišćavanja mogu primijeniti kolonska kromatografija i ekstrakcija čvrstom fazom jer navedene komponente i ftalati imaju različitu polarnost. Za ekstrakciju ftalata iz biljnih uzoraka koristi se ekstrakcija tekuće-čvrsto te svi tipovi ekstrakcija za čvrste uzorke (soxhletova ekstrakcija, ASE, SFE, USE). Visoka učinkovitost je uočena i kod klasične ekstrakcije mućkanjem i ultrazvučne ekstrakcije. Obje metode su vrlo brze, jeftine i ne zahtijevaju veliku količinu otapala. Uzorci biljaka se prvo moraju homogenizirati miješalicom („blenderom“). Nakon toga, mokr uzorak se dodaje unutarnjem standardu i pomiješa s bezvodnim natrijevim sulfatom dok se ne postigne suhi uzorak. Suhi uzorak se ekstrahira npr. ultrazvučnom ekstrakcijom uz korištenje smjese heksana i diklormetana kao otapala (otapalo može biti i aceton). Nakon što se suspendirane

čestice istalože, supernatant se uklanja. Ekstrakcija se ponavlja tri puta nakon čega se frakcije koje sadrže ftalate koncentriraju u struji dušika. Postoji i pristup u kojem se uzorak ne suši uz pomoć bezvodnog natrijevog sulfata, već se mokar dodaje unutarnjem standardu. U tom slučaju, postupak ekstrakcije zahtjeva nešto više vremena i miješanja. Proces pročišćavanja ekstrakata dobivenih iz biljnih uzoraka je jednak onom za čvrste čestice (tla i sedimenta). Može se koristiti i kolonska kromatografija pri kojoj se koncentrirani ekstrakt stavlja u kolonu od glinice ispunjenu smjesom same glinice i bezvodnog natrijevog sulfata. Elucija se provodi pomoću 30 mL heksana, zatim 30 mL 10 %-tnog diklormetana u heksanu i na kraju s 30 mL 50 %-tnog diklormetana u heksanu. Posljednja frakcija sadrži ftalate te ide na daljnju analizu u kromatografski sustav. [12]

4.5 Kromatografska analiza ftalata

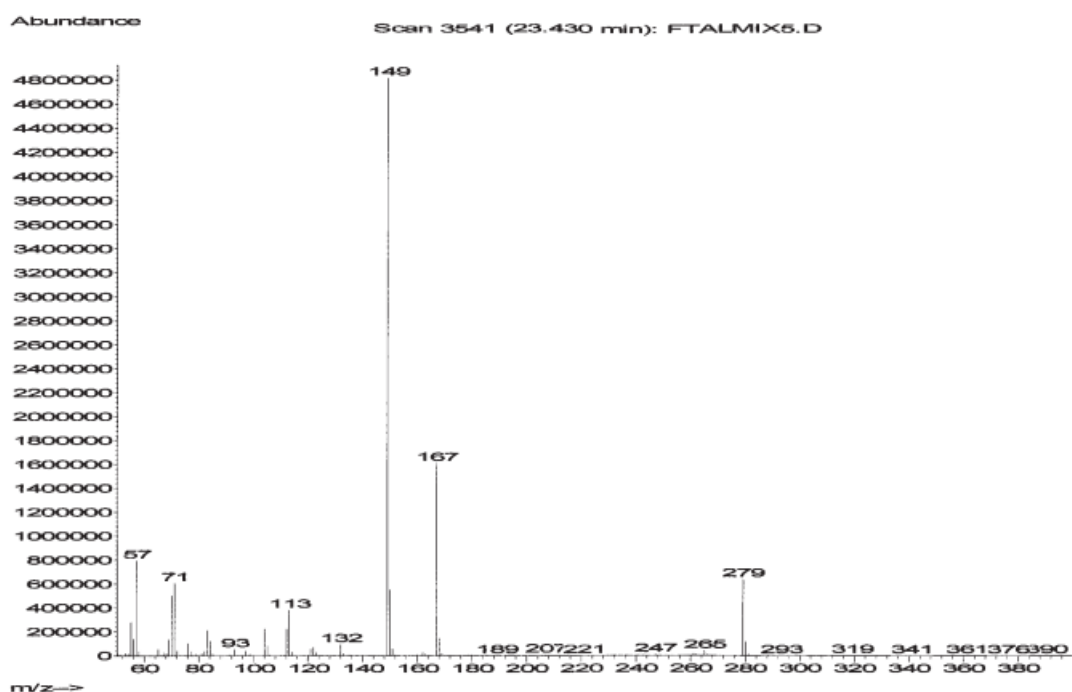
Analiza ftalata je najčešće provedena pomoću plinske kromatografije (eng. *gas chromatography*; GC). Budući da su prilično hlapivi i termostabilni, analiziraju se i kapilarnom plinskom kromatografijom (eng. *capillary gas chromatography*; CGC). Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high-performance liquid chromatography*; HPLC) koristi se kao alternativna tehnika koja je posebno korisna za analizu smjese izomera.

4.5.1 Analiza ftalata kapilarnom plinskom kromatografijom

CGC je najčešće korištena metoda za određivanje ftalata. Kapilarne kolone su presvučene nepolarnom stacionarnom fazom (polidimetilsiloksan ili polimetilfenilsiloksan) koja omogućava dobru razlučivost na visokim radnim temperaturama naspram polarnih stacionarnih faza (polietilen glikol ili cijanopropil). Uobičajeni uvjeti za izvođenje separacije ftalata su kapilarna kolona dimenzija 30 m × 0,25 mm koja je presvučena 0,25 μm tankim slojem sastava 5 % fenil i 95 % metilpolisiloksan (HP-5MS) te konstantan protok helija od 1 mL/min na temperaturi od 50 °C. Ovi uvjeti daju dobar kompromis između kvalitete razlučivanja i brzine analize. Ako je kolona nešto duža te je temperaturni program pećnice sporiji, dobit će se veće razlučivanje, no nedovoljno veliko da potpuno razdvoji sve izomere. Brži temperaturni programi pećnice su stoga bolji izbor jer omogućavaju veću osjetljivost, a time i bolje razlučivanje izomera. Što se tiče injektiranja, koristi se više različitih tehnika. Kod

cool on-column tehnike injektiranja, sav kapljeviti uzorak stavlja se direktno u kapilarnu kolonu. Ova tehnika injektiranja je vrlo pogodna jer kod nje dolazi do najmanje kontaminacije uzorka ftalatima koji potječu iz plastičnih dijelova instrumenta. Ipak, kod ove tehnike postoji problem kontaminacije nehlapivim komponentama koje u ekstraktu mogu zaostati ukoliko se radi o vrlo kompleksnim matricama kao što su otpadne vode i otpadni muljevi. Zato se *cool on-column* tehnika injektiranja u praksi koristi za analizu čistih uzoraka poput ekstrakata iz vode za piće ili površinske vode. Za rutinske analize, može se koristiti *splitless* tehnika injektiranja. Za razliku od prethodne tehnike, ona se može koristiti u analizi onečišćenih ekstrakata. Također, *splitless* način injektiranja omogućava ulazak veće količine uzorka i time nižu granicu detekcije. Međutim u kolonu se također unosi više otapala i matrice iz uzorka pa je potrebno češće održavanje detektora. Danas su sve više primjenjivani i tzv. PTV injektor (eng. *programmed temperature vaporising inlets*). Injektiranje se provodi najprije na niskoj temperaturi (otprilike temperaturi vrelišta otapala) pri kojoj otapalo isparava i izlazi van (tzv. „*solvent vent mode*“), zatim slijedi brzo zagrijavanje ($10\text{ }^{\circ}\text{C s}^{-1}$) do nekih 250–300 °C koje potiče isparavanje otopljenih komponenti. Glavna prednost PTV injektiranja je mogućnost unošenja velikog volumena uzorka. Detekcija ftalata je moguća pomoću plameno-ionizacijskog detektora (eng. *flame ionisation detection*; FID), detektora apsorpcije elektrona (eng. *electron capture detection*; ECD), fotoionizacijskog detektora (eng. *photoionization detector*; PID) i pomoću najčešće korištenog spektrometra masa (MS). GC-FID sustav nije često korišten jer FID detektor nije specifičan za analizu ftalata. S druge strane, ECD detektor je relativno osjetljiv na ftalate, ali mu je ograničena specifičnost jer je osjetljiviji na halogene spojeve [12,13,14]. PID ima izvrstan linearni odziv u širokom rasponu koncentracija što poboljšava točnost mjerenja, no mana mu je nedovoljna selektivnost [38]. Detektor koji se najčešće koristi je spektrometar masa (MS). Mogu se koristiti svi tipovi analizatora masa uključujući kvadrupolni analizator, trostruki kvadrupolni analizator, stupica iona (tzv. „ion-trap“ analizator) te analizator s magnetskim sektorom. Tzv. „Benchtop“ kvadrupolni sustav je najviše zastupljen zbog svoje robusnosti, stabilnosti, linearnosti i niske cijene. Stupice iona jer imaju dobru osjetljivost, no nešto manji dinamički raspon kada se radi o koncentriranim otopinama [12]. Koristeći MS detektor, svaki ftalat se može ionizirati elektronima (EI) ili kemijskom ionizacijom (CI) te detektirati na jedan od načina rada kao što su SIM (eng. *single ion monitoring*), SIS (eng. *selected ion storage*), MS/MS (tandemska MS) ili MRM (eng. *multiple reaction monitoring*). Spektrometar masa visoke razlučivosti (HRMS), u sprezi s GC-om, također se često koristi za određivanje ftalata i to iz kanalizacijskog mulja i tla jer daje dobru selektivnost, no nije uobičajena metoda za rutinsku analizu ftalata zbog smanjene

osjetljivosti i dinamičkog raspona naspram klasičnog MS-a. Ftalati iz okolišnih uzoraka se mogu odrediti i spektrometrijom ionske pokretljivosti (IMS) koja može biti spregnuta s spektrometrijom masa. Ta tehnika ne zahtjeva nužno separaciju prije određivanja ftalata te je vrlo brza, jeftina metoda s visokom osjetljivošću [13]. Spektri masa za većinu ftalata izgledaju isto, a primjer spektra dobivenog za DEHP je prikazan na slici 3. Za kvantifikacija ftalata može se koristiti metoda unutarnjeg ili vanjskog standarda s time da se preferira unutarnji standard jer se može primijeniti pri različitim tipovima injektiranja i uvjetima rada spektrometra masa. Kao unutarnji standard, koriste se izotopi ftalata poput D4-dibutil-ftalata, D4-dioktil-ftalata i dialilftalata [12].

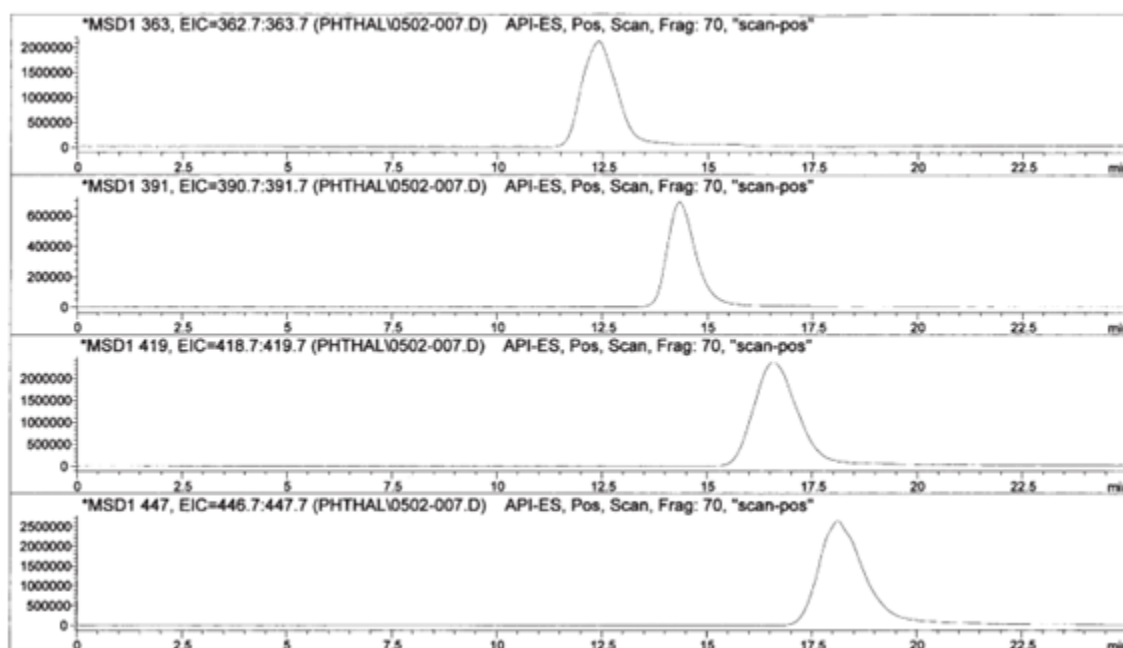


Slika 3. Spektar masa di(2-etilheksil) ftalata ioniziranog udarom elektrona

4.5.2 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Budući da niti jedna kapilarna kolona nije u mogućnosti potpuno razdvojiti sve izomere, GC analiza nije pogodna za izomerne smjese ftalata. U tu svrhu se stoga koristi tekućinska kromatografija iako je kod nje primijećena manja osjetljivost naspram GC-a. No, tekućinska kromatografija je vrlo učinkovita za analizu produkata razgradnje ftalata i kraće traje. Kod analize tekućinskom kromatografijom, ftalati se prvo otapaju u mobilnoj fazi, zatim prolaze kroz kolonu punjenu stacionarnom fazom na kojoj se razdvajaju. Stacionarna faza je

najčešće nepolarni C18 ODS, iako je C8 ODS pokazao bolju separacijsku moć između izomera što je potvrđeno dobro definiranim i preciznijim kromatografskim krivuljama. Ako je temperatura kolone između sobne i 80 °C, separacijska moć još više raste. Mobilna faza je organsko otapalo poput metanola ili acetonitrila koji su prethodno puferirani ili zakiseljeni (uz dodatak trifluoroctene kiseline). Detektori koji se mogu koristiti za analizu ftalata pomoću tekućinske kromatografije su MS i UV detektor. Ako se koristi spektrometrija masa, ftalati se ioniziraju elektrosprej ionizacijskom tehnikom (ESI) dajući pozitivne ione te kemijskom ionizacijom kod atmosferskog tlaka [12,13]. Primjer razdvajanja izomerne smjese ftalata pomoću HPLC-MS sustava prikazan je na slici 4. [12] Za detekciju ftalata UV detektorom, koristi se valna duljina između 200 i 350 nm (apsorbancija za DEHP iznosi 275 nm). Izvedba s UV detektorom je vrlo jednostavna i jeftina [39,40]. Suspregnuti sustav HPLC-MS/MS se također koristi u određivanju ftalata posebice ako su oni ekstrahirani iz kompleksnih matrica kao što su biljke [12]. Treba napomenuti još i UHPLC (eng. *ultra high pressure liquid chromatography*) kao metodu koja značajno skraćuje vrijeme analize [13].



Slika 4. Primjer izomerne smjese ftalata analizirane HPLC-MS sustavom

4.5.3 Micelarna elektrokinetička kromatografija

Micelarna elektrokinetička kromatografija (MEKC) je alternativa HPLC-u koja nije toliko raširena, ali se ipak može koristiti u određivanju ftalata. Izvodi se u aparaturi istoj kao i

kod kapilarne elektroforeze, no njen princip rada se temelji na kromatografiji, tj. drugačija je raspodjela između mobilne faze (vodena otopina pufera) i micela koje tvore ionski surfaktanti koji predstavljaju pseudo-stacionarnu fazu. Micelarna elektrokinetička kromatografija se koristi za određivanje ftalata u otpadnim vodama, površinskim vodama i tlima. Njen nedostatak je manjak osjetljivosti i slaba rezolucija. Međutim, povećanje rezolucije može se postići dodatkom metanola puferskoj otopini koja sadrži natrijev dodecil sulfat kao surfaktant. Razvijena je i poboljšana verzija metode, tzv. (β -CD)-MEKC metoda s UV detektorom koja koristi pepeo od ugljena kao sorbens u SPE ekstrakciji te β -ciklodekstrin (β -CD) kao aditiv u elektroforezi. Spregnuti sustav MEKC-a i MS-APCI-a također je korišten u analizi ftalata iz okolišnih matrica te je pokazao bolju osjetljivost nego klasična micelarna elektrokinetička kromatografija. [13]

4.5.4 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) je jednostavna tehnika koja omogućava identifikaciju sastavnica uzorka analizom apsorpcijskih ili emisijskih spektara infracrvenoga zračenja. Ova tehnika koristi jedinstveni „otisak“ tvari i vrlo je korisna za kvalitativnu analizu. Princip rada je taj da tvar koja posjeduje kovalentnu vezu i dipolni moment apsorbira frekvencije elektromagnetskog zračenja. Svaka tvar apsorbira zračenje na svojim karakterističnim frekvencijama što omogućava njihovu identifikaciju. FTIR se koristi zbog brzine analize i dobrog odziva. Ovisno o stanju matrice, analiza ftalata se provodi na različite načine [13]. Ako se radi o kapljevitom uzorku (npr. vodeni uzorci), kapljevina se jednostavno stavi u kivetu kroz koje će se propustiti zračenje ili se nakapa na optički gust kristal s visokim indeksom loma pod određenim kutom. Unutarnja refleksija stvara kratkotrajni val koji se proteže kroz površinu kristala u uzorak koji je s njim u dodiru [41]. U slučaju čvrstog uzorka poput uzorka tla, postupak se sastoji od stvaranja filma zagrijavanjem i/ili tretiranjem pod visokim tlakom nakon čega slijedi analiza. I za kapljevite i za čvrste uzorke, može se primijeniti i prigušena ukupna refleksija (ATR) kao tehnika uzorkovanja koja omogućuje izravno ispitivanje uzoraka bez dodatne pripreme uzorka. Primjena FTIR-a je ograničena radi smanjene osjetljivosti i slabe razlučivosti, ali u sprezi s drugim separacijskim tehnikama (npr. plinskom kromatografijom) ili za primjenu sekundarne detekcije može davati zadovoljavajuće rezultate [13].

5 ZAKLJUČAK

U današnje vrijeme, ljudi su sve više u kontaktu s raznim štetnim tvarima koja predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje. Među njima su i ftalatni esteri, odnosno kraće ftalati, s kojima se ljudi susreću na dnevnoj bazi. Njihova rasprostranjenost je toliko velika da ih je gotovo nemoguće izbjeći. Njihova fizikalna i kemijska svojstva čine ih pogodnima za poboljšavanje svojstava plastičnih masa kao što su PVC proizvodi, plastične vrećice, igračke, automobilski dijelovi, razne ambalaže i dr. Ftalati su vrlo mobilni i lako migriraju iz plastičnih masa u prostor koji ih okružuje, a na taj način dospijevaju i u okoliš. Jednom kada dospiju u okoliš, akumuliraju se u gotovo svim njegovim sastavnicama: u tlu, zraku i vodi. Zrak je vrlo pogodan medij za njihov prijenos, no ne smatra se značajnim po pitanju izloženosti štetnom utjecaju ftalata. Neki ftalati se jako vežu za tlo i sedimente, a do njih dospijevaju iz mulja, zaostalog nakon pročišćavanja otpadnih voda, koji se koristi kao gnojivo. Visoka razina ftalata u tlu se može pripisati i korištenjem plastenika i plastičnih filmova u poljoprivredi. Izvori voda su najčešće kontaminirani ftalatima zbog ispuštanja otpadnih voda iz tvornica ili zbog otjecanja vode sa zemljišta na kojima se, u svrhu gnojenja, koristio mulj. U svrhu smanjenja onečišćenja okoliša ftalatima, a time i poboljšanja kvalitete života i smanjenja rizika za ljudsko zdravlje, potrebno je praćenje njihove razine u okolišnim sastavnicama koristeći razne metode za određivanje njihove koncentracije. Zbog njihove sveprisutnosti u laboratorijskom okruženju, reagensima i opremi, točno i precizno određivanje ftalata u uzorcima okoliša može biti vrlo izazovno. Rizik od kontaminacije uzorka prisutan je tijekom uzorkovanja, pripreme uzorka kao i kod instrumentalne analize. Za pouzdanu kvantifikaciju, mora se izbjegavati svaki oblik plastične laboratorijske opreme birajući onaj alat koji je preporučan za analizu ftalata kao i korištenje filtera za pročišćavanje zraka budući da se ftalati nalaze i u zraku laboratorija. Analiza ftalata u okolišu se sastoji od pripreme uzorka, separacije ili izoliranja ftalata iz uzorka te detekcije u nekom kromatografskom sustavu. Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, došlo je do značajnog poboljšanja u tehnikama ekstrakcije i analize ftalata stoga se danas brojne tehnike obrade i detekcije mogu primijeniti za identificiranje i kvantificiranje ftalata prisutnih u niskim koncentracijama unutar različitih matrica okoliša. Neke metode analize su jednostavne za primjenu, ali zahtijevaju uporabu velikih količina otapala i intenzivan rad, skupe su ili dugo traju. Također, neke konvencionalne metode nisu ekološki prihvatljive. Zbog navedenih problema, razvijene su poboljšane metode analize uzorka kao i alternativne zamjene, kako za separaciju uzorka tako i za njegovu detekciju. Izbor metode ovisit će o dostupnosti materijala i uređaja u svakom

laboratoriju. Naravno, za različite matrice uzorka, koriste se različite metode. Uzorci čiste vode (površinska voda ili voda za piće) mogu biti ekstrahirani tehnikama koje se temelje na ekstrakciji čvrstom fazom. Za vrlo kontaminirane, prljave vode (otpadne vode) preferira se neki oblik ekstrakcije kapljevina-kapljevina. Uzorci tla, sedimenta i mulja mogu se ekstrahirati npr. ultrazvučnom ili mikrovalnom ekstrakcijom. Za uzorke biljaka se koriste isti tipovi ekstrakcije kao i za tlo i sedimente, dok se uzorci zraka najviše obrađuju pomoću termalne desorpcije. Neke ekstrakte je potrebno naknadno pročistiti, a u tu svrhu, najčešće se koristi metoda pročišćavanja temeljena na ekstrakciji čvrstom fazom. Kromatografsku analizu pojedinog izomera ftalata omogućuje GC-MS spregnuti sustav, a HPLC-MS sustav nudi rješenje za analizu izomerne smjese ftalata.

6 LITERATURA

1. Ian T. Cousins, Donald Mackay, Thomas F. Parkerton, Physical-Chemical Properties and Evaluative Fate Modelling of Phthalate Esters, u: Charles Staples, The Handbook of Environmental Chemistry, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2003. pp. 57–84
2. Peter M. Lorz, Friedrich K. Towae, Walter Enke, Rudolf Jäckh, Naresh Ghargava, Wolfgang Hillesheim, Phthalic Acid and Derivatives u: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 2012. pp. 131–180
3. https://www.cdc.gov/biomonitoring/Phthalates_FactSheet.html (pristupljeno 3.3.2021.)
4. Ewa Olkowska, Joanna Ratajczyk, Lidia Wolska, Determination of phthalate esters in air with thermal desorption technique - Advantages and disadvantages, Trends in Analytical Chemistry, 91 (2017) 77–90
5. Karlo Jurica , Natalija Uršulin-trstenjak , Darija Vukić Lušić, Dražen Lušić, Zdenko Šmit, Izloženost ftalatima i njihova pojavnost u alkoholnim pićima, Phthalates in alcoholic beverages, 64 (2013) 317–325
6. Mihir Tanay Das, Smita S Kumar, Pooja Ghosh, Goldy Shah, Sandeep K Malyan, Somvir Bajar, Indu Shekhar Thakur, Lakhveer Singh, Remediation strategies for mitigation of phthalate pollution: Challenges and future perspectives, Journal of Hazardous Materials, 409 (2021) 124496
7. Chen Ning, Shuai Wenjuan, Hao Xinmei, Zhang Huichun, Zhou Dongmei and Gao Juan, Contamination of Phthalate Esters in Vegetable Agriculture and Human Cumulative Risk Assessment, Pedosphere, 27 (2017) 439–451
8. Durba Kashyap, Tripti Agarwal, Concentration and factors affecting the distribution of phthalates in the air and dust: A global scenario, Science of the Total Environment, 635 (2018) 817–827
9. S. Saeidnia, Phthalates, u: Philip Wexler, Encyclopedia of Toxicology, Elsevier, Tehran, 2014. pp. 928–933
10. Da-Wen Gao, Zhi-Dan Wen, Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes, Science of the Total Environment 541 (2016) 986–1001
11. Xu-Liang Cao, Phthalate esters in foods: sources, occurrence, and analytical methods, Comprehensive reviews in food science and food safety, 9 (2010) 21–43

12. Frank David, Pat Sandra, Bart Tienpont, Freddy Vanwalleghem, Michael Ikonou, Analytical Methods Review, u: Charles Staples, The Handbook of Environmental Chemistry, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2003. pp 9–56
13. Sopheak Net, Anne Delmont, Richard Sempéré, Andrea Paluselli, Baghdad Ouddane, Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review, Science of the Total Environment 515–516 (2015) 162–180
14. Bart Tienpont, Determination of Phthalates in Environmental, Food and Biomaterials - An Analytical Challenge, disertacija, Ghent University, Gent, 2004.
15. Heather Trim, Quality Assurance Project Plan, Phthalates Research and Education for Source Control, Zero Waste Washington, Washington, 2019.
16. <https://www.alconox.com/industries/medical-device> (pristupljeno 5.4.2021.)
17. Xiaoli Wu, Huijie Hong, Xiaotong Liu, Wenbi Guan, Lixuan Meng, Yong Ye, Yongqiang Ma, Graphene-dispersive solid-phase extraction of phthalate acid esters from environmental water, Science of the Total Environment, 444 (2013) 224–230
18. Brunella Cavaliere, Barbara Macchione, Giovanni Sindona, Antonio Tagarelli, Tandem mass spectrometry in food safety assessment: The determination of phthalates in olive oil, Journal of Chromatography A, 1205 (2008) 137–143
19. https://www.shsu.edu/~chm_tgc/primers/pdf/GC.pdf (pristupljeno 6.4.2021.)
20. <http://www.ecs.umass.edu/evc/facilities/equipment/Agilent6890/The%20Cool%20On-Column%20Inlet.pdf> (pristupljeno 6.4.2021.)
21. <https://www.glsciences.eu/html/on-column.html> (pristupljeno 6.4.2021.)
22. <https://www.kobis.hr/prodajni-program/kromatografija/plinska-kromatografija/gc-injectors/> (pristupljeno 6.4.2021.)
23. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-supplies-accessories/inlet-septa-for-gc/merlin-microseal-for-gc> (pristupljeno 6.4.2021.)
24. <https://www.shimadzu.hr/inlet-liner> (pristupljeno 6.4.2021.)
25. Hadi Farahani, Mohammad Reza Ganjali, Rassoul Dinarvand, Parviz Norouz, Screening method for phthalate esters in water using liquid-phase microextraction based on the solidification of a floating organic microdrop combined with gas chromatography–mass spectrometry, Talanta 76 (2008) 718–723
26. Staffan Bergstrom, Thaeer Barri, Jan Norberg, Jan Ake Jonsson, Lennart Mathiasson, Extracting syringe for extraction of phthalate esters in aqueous environmental samples, Analytica Chimica Acta, 594 (2007) 240–247

27. Qing Ye, Linhai Liu, Zhongbao Chen, liming Hong, Analysis of phthalate acid esters in environmental water by magnetic graphene solid phase extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1329 (2014) 24–29
28. F. Settle, *Hanbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice Hall, New Jersey, 1997.
29. Lina Huang, Zhongyong Liu, Lezhou Yi, Chonghua Liu, Danhua Yang, Determination of the Banned Phthalates in PVC Plastic of Toys by the Soxhlet Extraction-Gas Chromatography/Mass Spectrometry Method, *International Journal of Chemistry* 3 (2011) 169–173
30. John L. Ezzell, Bruce E. Richter, *Supercritical Fluid Extraction of Pesticides and Phthalate Esters Following Solid Phase Extraction from Water*, u: Kari Hartonen, Matti Jussila, Pekka Manninen, Marja-Liisa Riekkola, *Journal of Microcolumn Separations*, Wiley, Salt Lake City, 1992. pp. 319–323
31. Pei Liang, Linlin Zhang, Lili Peng, Qian Li, Ehong Zhao, Determination of Phthalate Esters in Soil Samples by Microwave Assisted Extraction and High Performance Liquid Chromatography, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85 (2010) 147–151
32. Ariel R. Fontana, Andrea Antonioli, Rubén Bottini, Grape Pomace as a Sustainable Source of Bioactive Compounds: Extraction, Characterization, and Biotechnological Applications of Phenolics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2015) 8987–9003
33. Ailun Hu, Min Qiu, Hang Liu, Yiwen Xu, Yufeng Tao, Guiling Yang, Yan He, Jianming Xu, Zhijiang Lu, Simultaneous determination of phthalate diesters and monoesters in soil using accelerated solvent extraction and ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1626 (2020) 4–74
34. Iva Hrelja, *Suvremene metode sanacije tla u urbanim sredinama*, diplomski rad, Agronomski fakultet, zagreb, 2016.
35. Ying Guo, Kurunthachalam Kannan, Challenges encountered in the analysis of phthalate esters in foodstuffs and other biological matrices, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404 (2012) 2539–2554
36. Bart Tienpont, Frank David, Pat Sandra, Freddy Vanwalleghem, Evaluation of Sorptive Enrichment for the Analysis of Phthalates in Air Samples, u: Kari Hartonen,

- Matti Jussila, Pekka Manninen, Marja-Liisa Riekkola, *Journal of Microcolumn Separations*, John Wiley & Sons, Salt Lake City, 2000. pp. 194–203
37. <https://www.envirotech-online.com/article/health-and-safety/10/skc/active-versus-passive-air-sampling-eddie-salter/923> (pristupljeno 2.5.2021.)
38. <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/photoionization-detector> (pristupljeno 20.5.2021.)
39. Jidong Li, Yaqi Cai, Yali Shi, Shifen Mou, Guibin Jiang, Analysis of phthalates via HPLC-UV in environmental water samples after concentration by solid-phase extraction using ionic liquid mixed hemimicelles, *Talanta*, 74 (2008) 498–504
40. Afsaneh Mollahosseinia, Yousef Elyasia, Mohammad Rastegarib, Flat membrane-based electromembrane extraction coupled with UV–visible spectrophotometry for the determination of diethylhexyl phthalate in water samples, u: Miguel de la Guardia, *Microchemical Journal*, Elsevier, Teheran, 2019. pp. 104–191
41. <https://www.thermofisher.com/hr/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-sample-handling-techniques/ftir-sample-handling-techniques-attenuated-total-reflection-atr.html> (pristupljeno 25.5.2021.)

ŽIVOTOPIS

Dora Nestić [REDACTED] Osnovnu školu pohađala je u Brezovici, a 2013. godine upisuje XI. Gimnaziju u Zagrebu. Maturirala je 2017. godine nakon čega upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, smjer Primijenjene kemije. Po završetku druge godine studija odrađuje stručnu praksu u farmaceutskoj tvrtki „Dechra“ koja se bavi razvojem i proizvodnjom veterinarskih proizvoda.