

Mikroekstrakcja na fazie stałej kontra ekstrakcja eterem dietylowym

- ²⁰ Hamilton Smith, Sten Forshufvud, Anders Wassen: Rozkład arsenu we włosach Napoleona, w: „Nature”, 26 V 1962, vol. 194, nr 4830, s. 725–726;
- ²¹ William Balcombe, który mieszkał na Świętej Helenie wraz ze swoją rodziną: żoną, dwiema córkami (w tym Betsy) i dwoma synami, miał monopol na dostawę artykułów żywnościowych na Świętą Helenę z East India Company. Po zesłaniu Napoleona na wyspę William Balcombe miał także zmonopolizować dostawy artykułów żywnościowych dla wygnanego cesarza oraz dla jego niewielkiego dworu;
- ²² Po latach Betsy opisała to wydarzenie na łamach swoich pamiętników, które ukazały się po raz pierwszy w 1844 roku. O tym wydarzeniu wspominał również Louis Marchand w swoich pamiętnikach. Zob.: Louis Marchand: Les Memoires, tom II, op.cit., s. 208;
- ²³ Substancje zewnętrznopochodne;
- ²⁴ Taka sytuacja mogłaby mieć miejsce w przypadku stosowania do pielęgnacji lub układania włosów płynów z dodatkiem arsenu, co było bardzo popularne w XIX stuleciu;
- ²⁵ Tabela została opracowana na podstawie: Jean-Francois Lemaire, Paul Fornés, Pascal Kintz, Thierry Lentz: Tajemnica „otrucia” Napoleona, Wydawnictwo Bellona, Warszawa 2003;
- ²⁶ Niegdyś arsenik wykorzystywano między innymi przy produkcji tapet i firanek;
- ²⁷ Cyt. za: Tajemnica „otrucia”... op.cit., s. 74.

W laboratoriach kryminalistycznych w badaniach materiałów popożarowych (głównie fragmentów porzeczisk) od lat stosowano procedurę przygotowania próbek do badań chromatograficznych polegającą na wykonywaniu ekstrakcji dostarczonego materiału eterem dietylowym. Wybór tego rozpuszczalnika nie był przypadkowy. O jego stosowaniu w tego rodzaju badaniach zdecydowała zdolność ekstrakcji określonych substancji, ograniczona dostępność środka dla potencjalnych sprawców podpałów oraz jego niska temperatura wrzenia, która sprzyja zatężaniu uzyskiwanych ekstraktów bez istotnych strat substancji poszukiwanych. Praca z eterem dietylowym wymaga jednak posiadania pracowni chemicznej z dobrze pracującymi wyciągami, a także ścisłego przestrzegania zasad pracy z tego rodzaju rozpuszczalnikami. Ta sytuacja oraz naturalne zainteresowanie nowymi technologiami spowodowały sięgnięcie w badaniach próbek popożarowych po włókna SPME wykorzystujące ekstrakcję substancji na fazie stałej. Zalety tej metody, jak również zasady doboru rodzaju włókien oraz optymalizacji warunków adsorpcji i desorpcji, przedstawił podinsp. dr W. Krawczyk w książce „Chromatografia gazowa w kryminalistyce”¹.

Praktyka stosowania ww. włókien w Laboratorium Kryminalistycznym Komendy Stołecznej Policji pozwala na przedstawienie pewnych spostrzeżeń, co – autorka ma nadzieję – wywoła odzew kolegów ekspertów z innych laboratoriów i dostarczy wszystkim więcej informacji na temat wykorzystywania tej metody w analizach.

Dla uściślenia informacji warto podać, że w LK KSP używane jest urządzenie do ręcznego nastrzyku, do którego stosuje się włókna czerwone o grubości filaru 100 µm firmy Supelco. Na etapie prób analitycznych można się przekonać, że powierzchnia tego typu włókna ulega całkowitemu zniszczeniu w zetknięciu z oparami eteru dietylowego. Stwierdzenie tego faktu pozwoliło na wyeliminowanie posługiwania się ww. włóknami przy próbkach podejrzanych o zawartość eteru dietylowego. Takich przypadków jest na szczęście bardzo mało.

Do czasu wyposażenia chromatografów w możliwość automatycznego nastrzykiwania przygotowanych próbek nastrzyki ręczne były na porządku dziennym, a doglądanie pracy chromatografu nie wywoływało zniecierpliwienia a ekspertów nie dziwił fakt, że muszą być cały czas zaangażowani w badanie kolejnych próbek. Obecnie, gdy upowszechniła się automatyczna praca sprzętu, a liczba spraw wpływających do laboratoriów wielokrotnie wzrosła, konieczność pełnego zaangażowania eksperta przez cały czas wykonywania badań wydaje się ogromną rozrzutnością i nieposzanowaniem czasu.

Zgodnie z przyjętą procedurą badań, próbka przeznaczona do badania z zastosowaniem SPME jest termostatowana w cieplarni, włókno kondycjonowane w dozowniku chromatografu gazowego, a następnie prowadzona jest ekspozycja włókna w fazie nadpowierzchniowej próbki. Wszystkie powyższe działania wymagają nadzoru i przestrzegania reżimu czasowego, a dopiero po nich następuje ręczne umieszczenie włókna w dozowniku chromatografu

i kontrolowana w czasie desorpcja. Powtarzanie ww. czynności, przy konieczności wykonania cyklu oznaczeń, całkowicie absorbuje eksperta. Analogiczne badania wykonane z zastosowaniem ekstrakcji eterem dietylowym pozwalają na przygotowanie kilkunastu lub nawet kilkudziesięciu ekstraktów, umieszczenie ich w podajniku do automatycznego nastrzykiwania i zajęcie się innym zagadnieniem, aż do chwili opracowania wyników, co również można wykonać zbiorczo po przeanalizowaniu całej nastawionej serii próbek. Przy dużym obciążeniu pomocą ekspertów, m.in. w LK KSP, sprowadzi to w wielu przypadkach czynnik decydujący o wyborze metody „eterowej”.

Są jednak rodzaje próbek, które lepiej badać z użyciem metody z SPME. Chodzi o próbki, w których widoczne są elementy styropianu, pianek imitujących gąbkę lub z dużą ilością klejów. Zastosowanie w tych przypadkach ekstrakcji eterem powoduje uzyskanie ekstraktu niszczące-

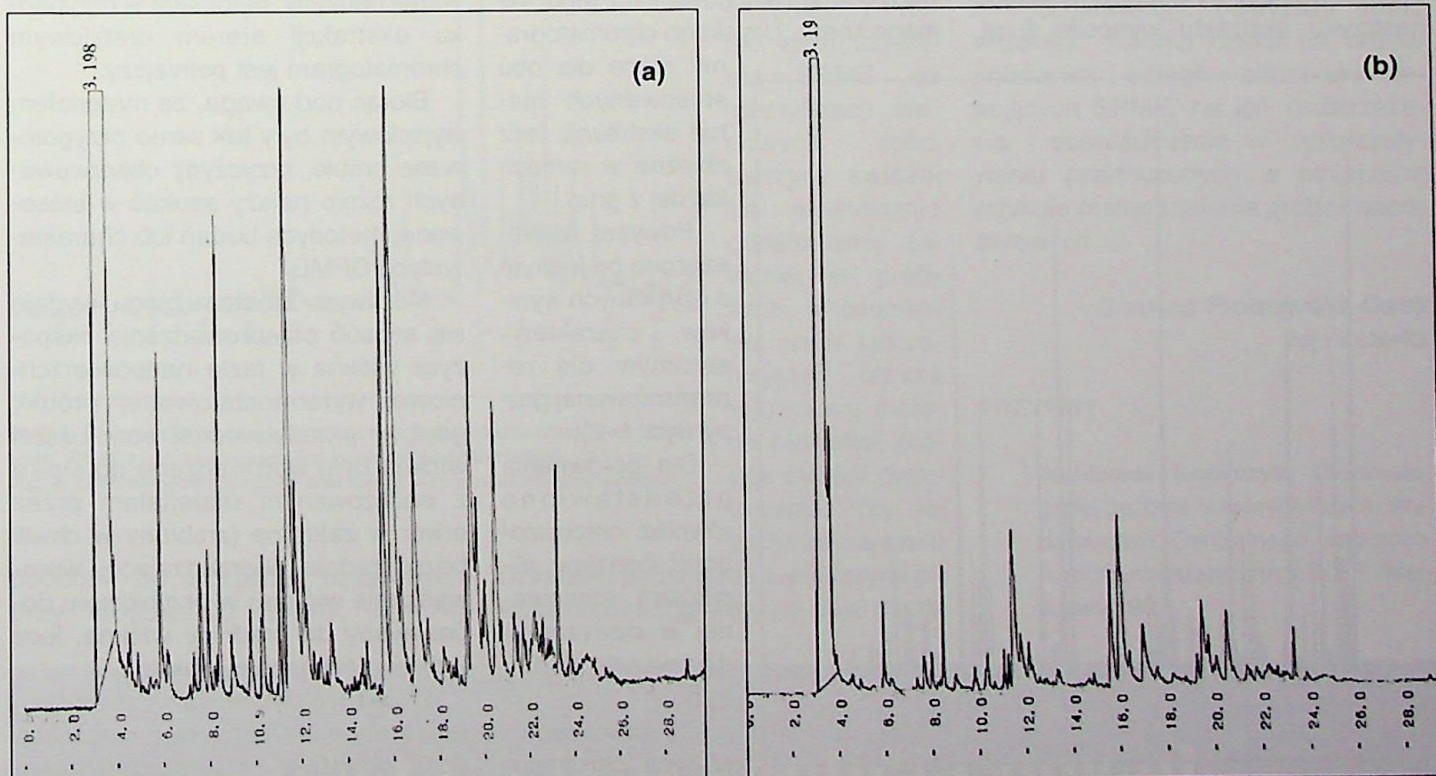
go (zalepiającego) strzykawkę dozującą próbki do komory nastrzykowej chromatografu, czego nie ma przy użyciu SPME. W przypadku dużych gabarytowo materiałów, np. odzieży osoby pokrzywdzonej lub podejrzanej, ekstrakcje eterem przypominałyby pralnię chemiczną i można przypuszczać, że warunków do wyekstrahowania np. grubej zimowej kurtki nie ma nie tylko LK KSP, lecz i inne policyjne laboratoria. Tu też z pomocą przychodzi SPME.

Podczas stosowania w badaniach obu opisywanych metod autorka zaobserwowała pewną prawidłowość. Dla jej zobrazowania wykonano serię badań przygotowanych wcześniej próbek. W zakręcanych słoikach (typu twist) umieszczono jednakowe fragmenty bibuły, naniesiono na nie po jednej kropli benzyny silnikowej i od razu zakręcono słoiki. Tak przygotowane próbki pozostawiono kilka godzin, a następnie siedem z nich (losowo wybranych) ekstrahowano eterem dietylowym (po ok. 20 ml).

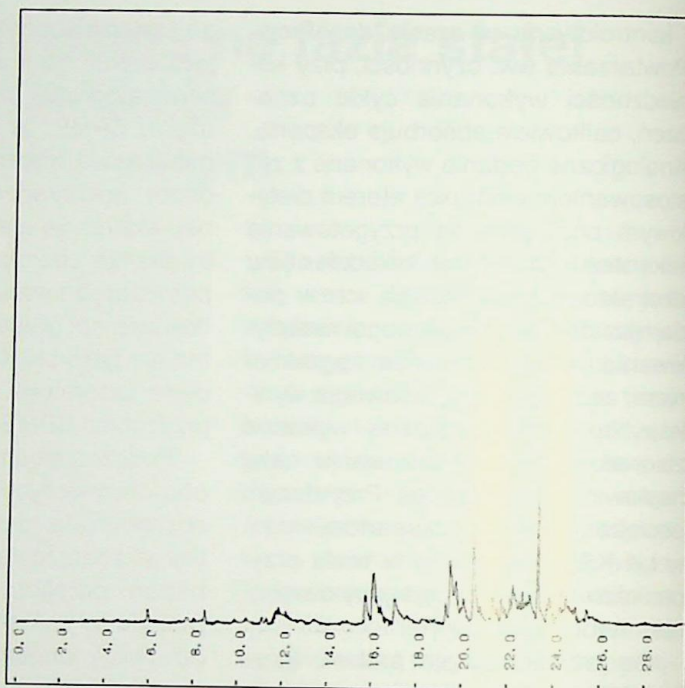
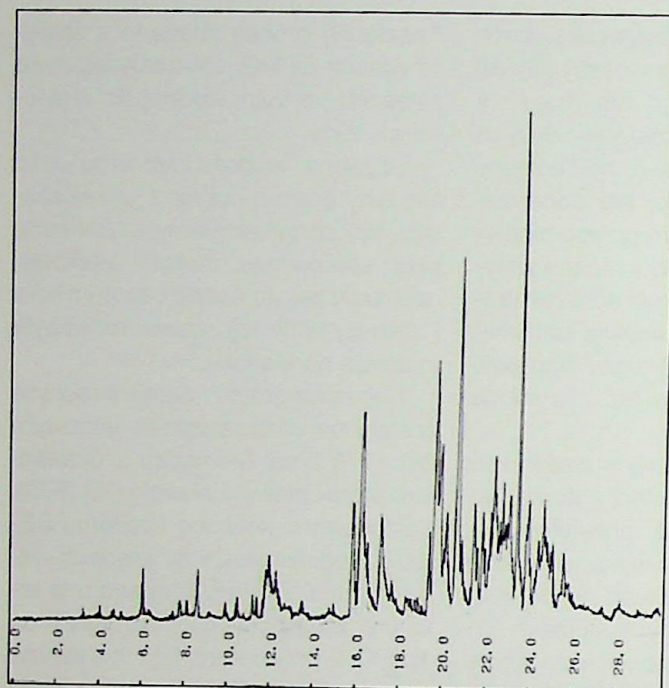
Resztę (8) próbek zbadano z zastosowaniem SPME. Ekstrakty eterowe zatężono na łożni wodnej do objętości ok. 2 ml.

Używana w doświadczeniu ilość benzyny została dobrana w taki sposób, aby chromatogramy uzyskiwane przy stosowaniu metody eterowej nadawały się do oceny bez tłumienia i równocześnie rejestrowane piki były możliwie największe.

Chromatogramy zarejestrowane zostały na chromatografie gazowym GC 17 A firmy Shimadzu z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Zastosowano kolumnę kapilarną SE-30 o długości ok. 25 m i średnicy wewnętrznej 0,22 mm. Temperaturę kolumny programowano od 40°C do 100°C z przyrostem 5°C na minutę i od 100°C do 280°C z przyrostem 10°C na minutę. Temperaturę początkową utrzymywano przez 5 minut. Jako gazu nośnego użyto helu. Temperatura komory nastrzykowej wynosiła 250°C, a detektora – 300°C. Przy analizie ekstraktów etero-



Ryc. 1. Chromatogram uzyskany po zastosowaniu ekstrakcji próbek eterem dietylowym (a) rejestracja bez tłumienia, (b) zastosowane tłumienie 100-krotne
Fig. 1. Chromatogram obtained after extraction of samples with diethyl ether (a) recorded with no suppression (b) 100x suppression



Ryc. 2. Chromatogram uzyskany po zastosowaniu mikroekstrakcji na fazie stałej SPME (a) rejestracja bez tłumienia, (b) zastosowane tłumienie 100-krotne
Fig. 2. Chromatogram obtained after SPME (a) no suppression (b) 100x suppression

rowych split wynosił 1:20, natomiast przy SPME był wyłączony. Wielkość nastrojki ekstraktu wynosiła 8 μ l.

Wszystkie badania zostały przeprowadzone z zastosowaniem tego samego linera. Uzyskano chromatogramy różne dla obu stosowanych metod ekstrakcji, lecz zbieżne w ramach każdej z grup.

Powyżej zamieszczono po jednym z uzyskanych wyników, charakterystycznym dla reprezentowanej grupy (ryc. 1–2).

Dla porównania przedstawiono również chromatogram benzyny silnikowej stosowanej w powyższym doświadczeniu (ryc. 3).

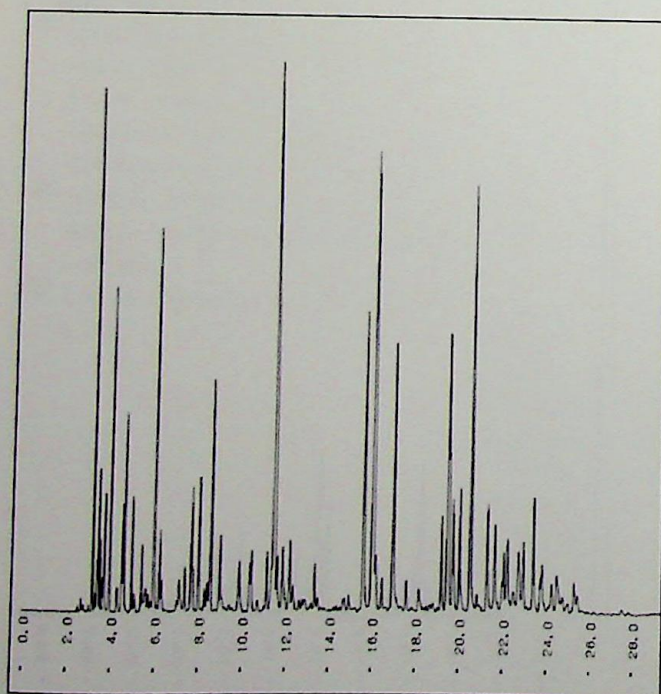
Z zaprezentowanych chromatogramów wynika, że stosując SPME,

uzyskuje się obraz bardziej odparowanej benzyny, natomiast w przypadku ekstrakcji eterem dietylowym chromatogram jest pełniejszy.

Biorąc pod uwagę, że materiałem wyjściowym były tak samo przygotowane próbki, przyczyny obserwowanych różnic należy szukać w stosowanej metodycie badań lub charakterystyce SPME.

Możliwym źródłem błędu wydaje się sposób przeprowadzenia ekspozycji włókna w fazie nadpowierzchniowej wytermostatowanej próbki, gdyż w przedstawionej serii badań włókno było wprowadzane do słoika z analizowanym materiałem przez otwór w zakrętce (zrobiony w chwili bezpośrednio poprzedzającej wprowadzenie włókna) w przybliżeniu dopasowany do średnicy włókna, lecz jednak nieznacznie większy.

W celu wyeliminowania ewentualnej utraty materiału przez nieuszczelnienie powstałą przy wprowadzaniu włókna etap ekstrakcji i termostatowania próbki przeprowadzono w od-



Ryc. 3. Zastosowane tłumienie 2⁴-krotne
Fig. 3. 2⁴x suppression applied

mienny sposób. Na osłonę włókna nałożono uszczelkę (od vialsa). Analizowane próbki przygotowano jak poprzednio (zastosowano inną – nową próbkę benzyny). Włókno również umieszczono w otworze zakrętki słoika, ale w tym przypadku dociskano je przez cały czas doświadczenia, aby założona uszczelka na pewno spełniała swoje zadanie. Ekstrakcję prowadzono bez wcześniejszego termotałowania próbki w cieplarni. Etap ten został zastąpiony nawiewem gorącego powietrza (ręcznej suszarki do włosów) na ścianki słoika w czasie prowadzonej ekspozycji włókna. Badania chromatograficzne wykonano w analogiczny sposób jak w pierwszym przypadku. Tym razem przebadano pięć przygotowanych próbek. Uzyskano chromatogramy

przedstawiony został przykładowy chromatogram (ryc. 4).

Wyniki otrzymane w opisanych badaniach są zgodne ze znaną z literatury charakterystyką SPME. Biorąc pod uwagę, że badania identyfikacyjne płynów łatwo zapalnych (w tym wypadku benzyny silnikowej) wykonywane są metodą porównawczą w stosunku do substancji odniesienia, trzeba pamiętać o obserwowanym efekcie uzyskiwanym przy obu stosowanych metodach.

Stosując metodę SPME, otrzymuje się chromatogramy, które nie pozwalają na ocenę stopnia odparowania benzyny. Niezależnie od zaawansowania jej odparowania chromatogramy zawsze odpowiadają benzynie częściowo odparowanej. Należy zatem uwzględniać ten fakt przy inter-

pretacji uzyskiwanych wyników.

Podsumowując wyniki opisanych doświadczeń, należy stwierdzić, że mimo zalet używania SPME do identyfikacji śladowych ilości benzyny świeżej lub nieznacznie odparowanej, zawartej w próbkach, w codziennej pracy laboratoryjnej lepsza wydaje się metoda ekstrakcji próbek eterem dietylowym. Przy jej

zastosowaniu

wość pewniejszej i bardziej jednoznacznej identyfikacji poszukiwanej substancji.

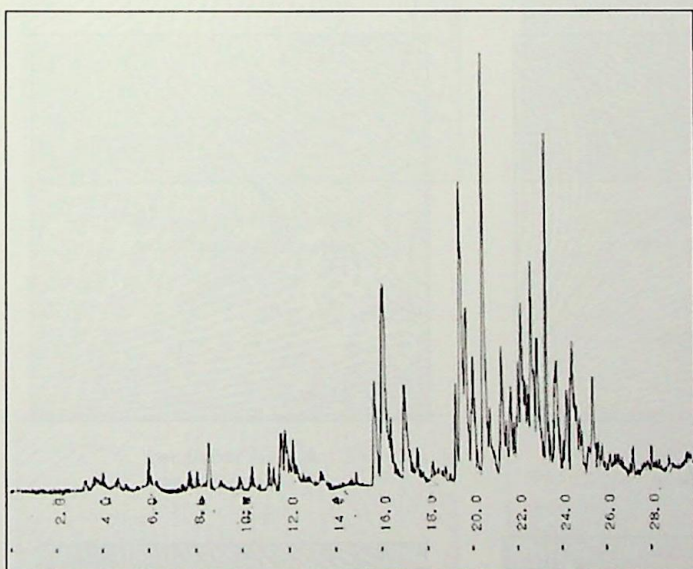
W opisanych badaniach metoda SPME okazała się znacznie bardziej czasochłonna, mniej czuła dla lekkich frakcji benzyny, ale bardziej czuła dla frakcji cięższych. Oznacza to, że w przypadku poszukiwania znikomych śladów znacznie odparowanej benzyny wskazane wydaje się stosowanie SPME, gdyż uzyskuje się wówczas większą wykrywalność. Należy jednak pamiętać, że wiąże się to z wydłużeniem czasu analizy, co w konsekwencji prowadzi do wydania mniejszej liczby opinii, a metoda ta nie nadaje się do oceny stopnia odparowania badanej próbki np. benzyny. Równocześnie biorąc pod uwagę przepisy BHP związane z pracą z eterem etylowym, trzeba zauważyć, że wykonywanie badań z zastosowaniem mikroekstrakcji SPME mimo swej czasochłonności i innych ww. cech może stać się koniecznością w laboratoriach policyjnych.

Przedstawiając powyższy punkt widzenia, autorka czeka na odzew koleżanek i kolegów ekspertów stosujących SPME, na ich spostrzeżenia i doświadczenia w wykorzystywaniu przytoczonych w niniejszym artykule metod badania próbek popożarowych.

Joanna Piotrowska-Osek
zdz.: autorka

PRZYPISY

- ¹ **Waldemar Krawczyk:** Chromatografia gazowa w kryminalistyce, Wydawnictwo Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP, Warszawa 1999.



Ryc. 4. Chromatogram uzyskany po zastosowaniu mikroekstrakcji na fazie stałej SPME z założoną uszczelką (rejestracja bez tłumienia)
Fig. 4. Chromatogram obtained after SPME with gasket (no suppression)

podobne do wcześniej uzyskanych przy stosowaniu SPME. Poniżej

uzyskano pełniejsze i z większymi pikami chromatogramy, co daje możli-

e-mail: clkpk@policja.gov.pl