

การเตรียมตัวอย่างโดยใช้แผ่นเยื่อสกัดขนาดเล็กระดับปริญญาของแข็งเพื่อการตรวจวัด
สารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในน้ำ

นางสาวสุชาดา จิมอ่ำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-370-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SAMPLE PREPARATION BY SMALL SOLID-PHASE EXTRACTION
MEMBRANE FOR DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC
HYDROCARBONS IN WATER

Miss Suchada Chimam

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemistry

Department of Chemistry

Graduate School

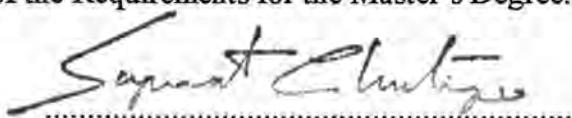
Chulalongkorn University

Academic Year 1997

ISBN 974-638-370-1

Thesis Title Sample Preparation by Small Solid-Phase Extraction Membrane for
Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water
By Miss Suchada Chimam
Department Chemistry
Thesis Advisor Assistant Professor Varaporn Leepipatpiboon, Dr.rer.nat.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.



Dean of Graduate School

(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

THESIS COMMITTEE



Chairman

(Associate Professor Siri Varothai, Ph.D.)




Thesis Advisor

(Assistant Professor Varaporn Leepipatpiboon, Dr.rer.nat.)



Member

(Associate Professor Pipat Karntiang, Ph.D.)



Member

(Ponwason Eamchan, M.Sc.)



Member

(Aroonsiri Shitangkoon, Ph.D.)

สุชาติ ฉิมอำ : การเตรียมตัวอย่างโดยใช้แผ่นเยื่อสกัดขนาดเล็กชนิดวัฏภาคของแข็งเพื่อ
การตรวจวัดสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในน้ำ (SAMPLE
PREPARATION BY SMALL SOLID-PHASE EXTRACTION MEMBRANE FOR
DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN
WATER) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศศ.ดร. วราภรณ์ สิริพัฒน์ไพบูลย์, 125 หน้า.
ISBN 974-638-370-1

การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบแผ่นเมมเบรนขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มม.) พัฒนา
ขึ้นเพื่อการตรวจวัดสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) 16 ชนิด ซึ่งเป็นสารมลพิษในราย
การของสถาบัน BPA จากตัวอย่างน้ำ วิธีการสกัดนี้เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายต่ำ ใช้เวลาน้อย และไม่เป็นพิษ มีการ
ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ส่วนกลับคืนของ PAHs ได้แก่ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว,
ปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสาร, เวลาที่ใช้ในการชะสารและ breakthrough volume พบว่า 0.30
mM Brij-35 เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพิ่มปริมาณ PAHs บนแผ่นเมมเบรนชนิด C₁₈ การชะแผ่นเมมเบรน
ด้วย 0.50 มล. อะซิโตนทริลให้เปอร์เซ็นต์ส่วนกลับคืนสูง และเปอร์เซ็นต์ส่วนกลับคืนนี้ไม่เปลี่ยนแปลง
อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเวลาที่ใช้ในการชะสารเพิ่มมากกว่า 15 นาที ปริมาตรของสารละลายที่เหมาะสมเป็น 100
มล. ขีดจำกัดต่ำสุดของวิธีการพบว่ายู่ในช่วงน้อยกว่า 0.01 ppb ถึง 0.20 ppb เปอร์เซ็นต์ส่วนกลับคืนมีค่าตั้ง
แต่ร้อยละ 72.88 ถึง 117.12 โดยมีร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 1.96 และ 4.82 ยกเว้น
แอนทราซีนที่มีเปอร์เซ็นต์ส่วนกลับคืนเป็น 55.09 ความผิดพลาดของวิธีการอยู่ในช่วงร้อยละ 0.65-9.58 นอก
จากนี้ได้นำวิธีการสกัดนี้มาประยุกต์เพื่อหาปริมาณ PAHs ในตัวอย่างน้ำจากที่ต่างๆ ด้วย

ภาควิชา.....เคมี
สาขาวิชา.....เคมี
ปีการศึกษา..... 2540

ลายมือชื่อนิสิต..... ศศ.ดร. ฉิมอำ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... อ.วราภรณ์ สิริพัฒน์ไพบูลย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

C825280 MAJOR CHEMISTRY

KEY WORD: SOLID-PHASE EXTRACTION MEMBRANE / SAMPLE PREPARATION / PAHs

SUCHADA CHIMAM : SAMPLE PREPARATION BY SMALL SOLID-PHASE
EXTRACTION MEMBRANE FOR DETERMINATION OF POLYCYCLIC
AROMATIC HYDROCARBONS IN WATER.

THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. VARAPORN LEEPIPATPIBOON, Dr.rer.nat.

125 pp. ISBN 974-638-370-1

A small disk extraction method (I.D. 13 mm) was developed for determination of 16 PAHs, EPA priority pollutants, from water samples. It was cost-effective, time-saving, and non-toxic method. Factors affecting the recoveries of PAHs such as solubilizer concentration, volume of eluting solvent, elution time, and breakthrough volume were studied. The presence of 0.30 mM Brij-35 was most appropriate for the enrichment of PAHs on C₁₈ disk. Elution with 0.50 mL acetonitrile gave the high recoveries and the recoveries did not change significantly after 15 min of elution. Optimum solution volume was 100 mL. The method detection limit was found to range from less than 0.01 ppb to 0.20 ppb. The recoveries varied from 72.88 to 117.12% with percent relative standard deviation (% R.S.D.) between 1.96 and 4.82% except Anthracene was 55.09% recovery. Percent error of this method were in the range of 0.65-9.58%. Moreover, this extraction method was applied to determine PAHs in real water samples.

ภาควิชา.....๒๓๓.....

สาขาวิชา.....๒๓๓.....

ปีการศึกษา.....2540.....

ลายมือชื่อผู้เขียน.....สุชดา ชิมาม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....วารุณี ลิ้มทองกุล.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her deepest gratitude to her advisor, Assistant Professor Varaporn Leepipatpiboon, Ph.D., for her kindness, guidance and assistance. In addition, she wishes to thank the thesis committee for their comments.

She is also deeply grateful to Mr. Prayoon Pongpittayakorn for invaluable assistance in the cut of disk for this work.

She would like to thank the United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) for supporting the references.

She is gratefully acknowledged the National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Rhone Poulenc-Professor Lehn Scholarship, and Chulalongkorn University for the financial support.

Finally, she wishes to record her greatest indebtedness to her parents and the family members for their encouragement and understanding throughout the entire course of study.

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (IN THAI)	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH)	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
CHAPTER I : INTRODUCTION	1
1. Problem Definition	1
1.1 Sample Preparation Problem in General	1
1.2 Significance of PAHs' Problem	2
1.3 PAHs' Analysis Problem	2
2. Literature Review	4
3. Hypothesis	11
4. The Propose of The Study	11
CHAPTER II : THEORY	13
SOLID-PHASE EXTRACTION FOR SAMPLE PREPARATION ...	13
Types of SPE Disks	14
Synthesis of Bonded Sorbents	16
Selection of The Appropriate LC Column for PAHs Analysis	18
General Properties of Bonded Silicas	21
The Mechanics of Sorbent Extraction	22
Sorbent / Isolate Interactions	23
Solid-Phase Extraction Steps	24
POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS	25
Chemical Structure	26
Physical Properties	27

Sources of PAHs	27
Occurrence of PAHs	27
Toxicity	29
Mechanism of Metabolic Activation of PAHs	30
CHAPTER III : EXPERIMENTAL	34
1. Apparatus	34
2. Chemicals	35
2.1 The Standard of PAHs	35
2.2 Organic Solvents	36
2.3 Reagents	36
3. Preparation of The Standard Solutions	36
3.1 The Stock Standard Solution of PAHs Mixture in Acetonitrile	36
3.2 The Solution of Brij-35 in Water	37
4. The Study of High Performance Liquid Chromatographic Conditions	37
5. The Creation of Spectral Library	37
6. The Study of Linearity of Standard PAHs	37
7. The Study of Calibration Curve of Standard PAHs	38
8. The Study of Detection Limit	38
9. The Procedure for Extraction of Spiked Standard Solution	38
10. The Study of Various Effects on the Percent Recovery of Small Disk Extraction Method	39
10.1 The Effect of The Concentration of 2-Propanol	39
10.2 The Effect of The Concentration of Brij-35	40
10.3 The Effect of The Volume of Eluting Solvent	40
10.4 The Effect of The Elution Time	41
10.5 The Effect of The Breakthrough Volume	41
11. The Study of The Method Detection Limit	42
12. The Study of Precision of Small Disk Extraction Method and Recoveries of Each PAHs	42
13. The Study of Accuracy of Small Disk Extraction Method	43
14. The Determination of PAHs in Real Water Samples	43

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION	46
1. The Study of High Performance Liquid Chromatographic Conditions	46
2. The Creation of Spectral Library	50
3. The Study of Linearity of Standard PAHs	52
4. The Study of Calibration Curve of Standard PAHs	54
5. The Study of Detection Limit	56
6. The Study of Various Effects on the Percent Recovery of Small Disk Extraction Method	58
6.1 The Effect of The Concentration of 2 Probes	58
6.2 The Effect of The Concentration of B[a]a-35	61
6.3 The Effect of The Volume of Eluting Solvent	61
6.4 The Effect of The Elution Time	61
6.5 The Effect of The Breakthrough Volume	70
7. The Study of The Method Detection Limit	73
8. The Study of Precision of Small Disk Extraction Method and Recoveries of Each PAHs	75
9. The Study of Accuracy of Small Disk Extraction Method	77
10. The Determination of PAHs in Real Water Samples	78
CHAPTER V : CONCLUSION	94
RECOMMENDATION	96
REFERENCES	97
APPENDIX	106
VITA	125

LIST OF TABLES

TABLES	PAGE
2.1 Comparison of a Typical Cartridge and a Typical Disk	14
4.1 The optimum HPLC conditions	47
4.2 Abbreviation, maximum wavelength (λ_{max}), optimum wavelength used for measuring the absorbance (λ_{op}), and retention (t_R) of each PAHs	49
4.3 Linear regression data for linearity of 16 PAHs	53
4.4 Linear regression data for calibration curve of 16 PAHs	55
4.5 The detection limits of 16 PAHs	57
4.6 The results of the effect of the concentration of 2-propanol on the percent recovery of 16 PAHs in 2.00 ppb spiked standard solutions	59
4.7 The results of the effect of the concentration of Brij-35 on the percent recovery of 16 PAHs in 2.00 ppb spiked standard solutions	62
4.8 The results of the effect of the volume of eluting solvent on the percent recovery of 16 PAHs in 2.00 ppb spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35	65
4.9 The results of the effect of the elution time on the percent recovery of 16 PAHs in 2.00 ppb spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35	68
4.10 The results of the effect of the breakthrough volume on the percent recovery of 16 PAHs in spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35	71
4.11 The optimum conditions of small disk extraction method for determination of 16 PAHs in aqueous solution	73
4.12 The method detection limits of each PAHs in aqueous solutions	74
4.13 The recovery and precision data of each PAHs from aqueous solutions	76
4.14 The results of the accuracy study of each PAHs from aqueous solutions ..	77

LIST OF FIGURES

FIGURES	PAGE
1.1 Structure of the 16 PAHs including in the EPA	3
2.1 Micrograph of an Empore extraction disk	15
2.2 Schematic of an Acti-Disk microporous PVC-silica disk	16
2.3 Separation of BaP, TBN, and PhPh on a polymeric and a monomeric C ₁₈ stationary phases	19
2.4 Separation of 16 PAHs on three different C ₁₈ columns with different $\alpha_{\text{TBN/BaP}}$ values	20
2.5 Accepted Nomenclature for Benzo[a]pyrene	26
2.6 Structure of 7-methylbenzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene showing the bay regions by thick lines, and corresponding bay region dihydrodiol epoxides .	31
2.7 Metabolic activation of ubiquitous environmental pollutant and known carcinogenic BaP leading to the formation of proximate and ultimate carcinogenic metabolites and their binding to DNA, which initiates the process of carcinogenesis	32
4.1 The chromatogram of 10 ng standard mixture of 16 PAHs by HPLC conditions in Table 4.1	48
4.2 The spectrum and chromatogram of 16 PAHs in the spectral library by HPLC conditions in Table 4.1	51
4.3 The PAHs recoveries at different 2-propanol concentrations in 2.00 ppb spiked standard solutions	60
4.4 The PAHs recoveries at different Brij-35 concentrations in 2.00 ppb spiked standard solutions	63
4.5 The PAHs recoveries of 2.00 ppb spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35 at different volumes of eluting solvent (acetonitrile)	66
4.6 The PAHs recoveries of 2.00 ppb spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35 at different eluting times	69

4.7 The PAHs recoveries of spiked standard solutions containing 0.30 mM Brij-35 at different solution volumes	72
4.8 The chromatogram of SPM drinking water [Polypropylene bottle] (sample 1) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	79
4.9 The chromatogram of fresh drinking water [Polypropylene bottle] (sample 2) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	80
4.10 The chromatogram of puntip drinking water [Polypropylene bottle] (sample 3) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	81
4.11 The chromatogram of crystal drinking water [Polypropylene bottle] (sample 4) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	82
4.12 The chromatogram of sprinkle drinking water [Polypropylene bottle] (sample 5) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	83
4.13 The chromatogram of idea drinking water [Polypropylene bottle] (sample 6) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	84
4.14 The chromatogram of crystal drinking water [Poly(ethylene terephthalate) bottle] (sample 7) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	85
4.15 The chromatogram of sprinkle drinking water [Poly(ethylene terephthalate) bottle] (sample 8) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	86
4.16 The chromatogram of singha drinking water [Poly(ethylene terephthalate) bottle] (sample 9) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	87
4.17 The chromatogram of volvic natural mineral water (sample 10)	

concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	88
4.18 The chromatogram of vittell natural mineral water (sample 11) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	89
4.19 The chromatogram of aura natural mineral water (sample 12) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	90
4.20 The chromatogram of ice (sample 13) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	91
4.21 The chromatogram of tap water (sample 14) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	92
4.22 The chromatogram of pool water (sample 15) concentrated 200-fold on a small C ₁₈ disk by the HPLC conditions in Table 4.1	93