

ВОЗМОЖНОСТИ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Филатов В.В.¹, Кайргалиев Д.В.¹, Васильев Д.В.¹, Мельников И.Н.², Пичхидзе С.Я.²

¹ Федеральное государственное казенное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградская академия Министерства внутренних дел Российской Федерации», Волгоград, Россия (400089, Волгоград, ул. Историческая, 130), e-mail: volakdm@va-mvd.ru.

² Саратовский государственный технический университет им. Ю. А. Гагарина, Саратов, Россия (410054, Саратов, ул. Политехническая, 77), e-mail: igormelnikov1959@yandex.ru.

В статье рассматриваются вопросы исследования токсичных полициклических ароматических углеводородов, инициирующих, промотирующих и способных приводить к прогрессии опухолевые заболевания человека. Почвы и грунты, содержащие канцерогены, относят к опасным для здоровья человека объектам, они подлежат утилизации. Мониторинг содержания токсикантов проводят согласно методическим указаниям отбора проб из объектов внешней среды и подготовки их для определения. Недостатки имеющихся методик (низкая селективность, несовершенство пробоподготовки, трудности анализа) требуют разработки новой методики определения токсикантов, обеспечивающей полное их извлечение из анализируемых образцов. Цель научного исследования заключается в оптимизации методики определения содержания 3,4-бензо(а)пирена, 7,12-диметилбензантрацена и 20-метилхолантрена в почвах. Авторская методика разделения реализуется за счет различий в межмолекулярных взаимодействиях молекул исследуемых веществ с адсорбентом и неспецифических — с элюентом. Гидрофобность токсикантов обуславливает применение обращено-фазовой жидкостной хроматографии. Полиароматические углеводороды из почв экстрагируют смесью диметилсульфоксид-гептан-метанол при объемном соотношении 5:10:85 в течение 5 мин с применением ультразвука, затем экстракт фильтруют и аликвоту хроматографируют на колонке Zorbax ODS (250 x 4,6 mm) при 25 °С в потоке элюента (смесь диметилсульфоксида, гептана и метанола в соотношении, об. %: 3–8 : 8–12 : метанол остальное). Расход элюента 1 мл/мин. Детектирование компонентов проводят при длине волны 295–298 нм. Время анализа – менее 6 мин, чувствительность определения 1×10^{-4} мг/мл. Использование в качестве детектора флуориметра или масс-спектрометра повышает чувствительность метода в десятки раз.

Ключевые слова: жидкостная хроматография, колонка, элюент, полициклические ароматические углеводороды

CAPABILITIES OF LIQUID CHROMATOGRAPHY IN THE DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

Filatov V.V.¹, Kayrgaliev D.V.¹, Vasilev D.V.¹, Melnikov I.N.², Pichhidze S.Y.²

¹ Federal State Public Educational Establishment of Higher Professional Training “Volgograd Academy of the Ministry of the Interior of the Russian Federation”, Volgograd, Russia (400089, Volgograd, Istoricheskaya street, 130), e-mail: volakdm@va-mvd.ru.

² Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russia (410054, Saratov, Polytechnicheskaya street, 77), e-mail: igormelnikov59@yandex.ru.

The article deals with the study of toxic polyaromatic hydrocarbons, initiating, promoter and can lead to tumor progression of human disease. Soil, containing carcinogens, as dangerous to human health facilities should be recycled. Monitoring of toxicants carried out according to guidelines sampling of objects in the environment and prepare them for identification. Disadvantages of the available methods (low selectivity, inadequate sample preparation, the difficulty of analysis) require the development of a new methodology for determining the toxicants that provides complete retrieval of samples to be analyzed. The purpose of research is to optimize the methodology for determining the content of 3,4-benzo(a)pyrene, 7,12-dimethylbenzanthracene and 20-methylcholanthrene in soils. Author's method of separation is realized due to the differences in the intermolecular interactions of the molecules of the test substances with the adsorbent and nonspecific eluent. Hydrophobicity of toxicants by usage reversed-phase liquid chromatography. Polyaromatic hydrocarbons from soil was extracted with dimethylsulfoxide-heptane-methanol in a volume ratio of 5:10:85 for 5 min with ultrasound and then the extract is filtered and an aliquot was chromatographed on a column Zorbax ODS (250x4,6 mm) at 25°C in a stream of eluent (dimethylsulfoxide, heptane and methanol, vol. %: 3–8 : 8–12 : methanol else). Eluent flow rate 1 ml/min. Detection of the components is carried out at a wavelength of 295–298 nm. Analysis time – less than 6 min, the sensitivity of detection 1×10^{-4} mg/ml. Use as a fluorometer detector or mass spectrometer increases the sensitivity of the method is dozens of times.

Keywords: liquid chromatography column, eluting with polycyclic aromatic hydrocarbons.

Химические соединения, стимулирующие злокачественные образования и общее отрицательное воздействие химических производств на человека, характеризуются высокой канцерогенной опасностью и заслуживают пристального внимания специалистов и широкой общественности. Указанные вещества внесены в перечень Международного агентства по изучению рака (МАИР), их подразделяют на несколько групп. Первая группа включает в себя канцерогенные вещества (технический углерод); вторую группу составляют потенциально опасные вещества по канцерогенности (например, нефтяные смолы, минеральные масла неочищенные, битумы и др.), третья группа – это токсичные вещества, не обладающие выраженным канцерогенным действием на человека [8, с. 96].

В перечне особое место принадлежит полициклическим ароматическим углеводородам (ПАУ – далее), побочным продуктам производств с технологиями, включающими высокотемпературные процессы, сжигание и переработку органического сырья (нефтепродуктов, угля, древесины, мусора и др.) [7, с. 130]. Молекулы ПАУ содержат от двух и более сопряженных бензольных колец, а также нитро-, amino-, сульфо- и иные группы (спирты, альдегиды, эфиры, кетоны) в кольце или боковой цепи. Антропогенными источниками ПАУ являются промышленные предприятия и предприятия энергетического комплекса (производство кокса, цветных металлов, ТЭЦ, котельные), выбросы автотранспорта, химическая и нефтеперерабатывающая промышленность. Эксперты насчитывают более 200 видов ПАУ, характеризующихся высокой способностью к биоаккумуляции.

Современные методы индикации ПАУ подтверждают широкое их распространение в окружающей среде, в первую очередь в почве. Почва, поверхностный (гумусный) слой – основной хранитель ПАУ, в то же время и источник вторичного загрязнения воздуха и воды. ПАУ могут переходить из почвы в воду, растения, корма для животных; с пищей, водой, а также с вдыхаемым воздухом попадать в организм человека [9, с. 809].

Ужесточение законодательства, ограничивающего распространение ПАУ, материалов и сырья, содержащих канцерогены и мутагены, требует разработки нового методического обеспечения экомониторинга, позволяющего совершенствовать деятельность сети станций по контролю фона окружающей среды, выявлению источников генерации токсикантов, организации мер, направленных на устранение опасных источников (таких как модернизация технологий, очистка зараженных территорий, ограничение продукции, содержащей опасные соединения, и т.п.).

В крупных мегаполисах ПАУ обнаруживаются в виде химического загрязнения почв, наблюдается постоянный рост площади токсичных почв, требующих обязательного проведения мероприятий по ремедиации или рекультивации территорий.

Из полициклических ароматических углеводородов особенно выделяется 3,4-бенз(а)пирен – высокомолекулярное органическое соединение, основным элементом структуры которого является бензольное кольцо. В качестве основных источников эмиссии 3,4-бенз(а)пирен в окружающую среду выделяют промышленность.

В нашей стране оценку загрязнения почв ПАУ производят по количественному содержанию 3,4-бенз(а)пирена, предельно допустимая концентрация (далее – ПДК) которого не должна превышать 0,02 мг/кг [2].

Почвы и грунты, концентрация токсиканта в которых в 5 раз выше предельно допустимой концентрации, относят к опасным объектам, подлежащим утилизации и вывозу на специализированные полигоны. Действующую норму ПДК 3,4-бенз(а)пирена в почве разработали в 1981 г. Количественное содержание экотоксиканта в почве проводили согласно требованиям методических указаний отбора проб из объектов внешней среды и подготовки их для определения канцерогенных ПАУ. К недостаткам отмеченных методических указаний можно отнести низкую селективность, несовершенство пробоподготовки, трудности химического анализа высококонцентрированных полициклических ароматических углеводородов.

В странах Европейского союза на ПАУ работают более высокие ПДК, но связано это в первую очередь с огромными финансовыми затратами и масштабностью технических мероприятий, которые активно проводятся по восстановлению исходных свойств почв, снижению общей доли токсикантов в ней, полному исключению негативного воздействия на организм человека.

Канцерогенные ПАУ в объеме прирастают в результате и абиогенных процессов, протекающих в природе.

Ежегодные поступления в биосферу тысяч тонн 3,4-бензо(а)пирена являются результатом их выделения из гуминовых компонентов почвы. Максимум же ПАУ в окружающей среде накапливается за счет антропогенного воздействия на нее человека и его деятельности (замечено, что чем ниже температура техногенных процессов, тем больше количество образования ПАУ [10]).

К наиболее токсичным ПАУ относятся 7,12-диметилбензантрацен (ДМБА) и 20-метилхолантрен (МХА).

ДМБА – полициклический ароматический углеводород, является производным бензантрацена, образующегося при неполном сгорании нефтепродуктов, входит в состав

отработанных газов автотранспорта, смога и дыма сигарет. Иницирует и промотирует процессы пролиферации инициированных клеток, способен приводить к прогрессии опухолевые заболевания человека.

ДМБА индуцирует злокачественные опухоли в месте аппликации, инъецированный подкожно вызывает саркому, при введении в органы – местный рак.

20-метилхолантрен также отнесен к самым распространенным этиологическим факторам онкологических заболеваний человека.

Целью научного исследования является оптимизация высокочувствительной методики экспрессного определения 3,4-бензо(а)пирена (БП), 7,12-диметилбензантрацена (ДМБА) и 20-метилхолантрена (МХА).

Наиболее часто для определения ПАУ используют метод жидкостной хроматографии (ЖХ) [4]. Для их определения пригодны два метода жидкостной хроматографии: обращено-фазовый и нормально-фазовый варианты.

В обращено-фазовой жидкостной хроматографии используют колонки с неполярным носителем и полярный элюент. В нормально-фазовом варианте, как правило, применяются полярный адсорбент и неполярный элюент. Разделение веществ происходит за счет различий в специфических межмолекулярных взаимодействиях молекул исследуемых веществ с адсорбентом и неспецифических — с элюентом.

Следует отметить, что ПАУ обладают высокой гидрофобностью, что обуславливает возможность предпочтительного использования обращено-фазовой жидкостной хроматографии для их эффективного обнаружения.

Определяемые полиароматические углеводороды из анализируемого объекта экстрагируют смесью диметилсульфоксид-гептан-метанол при объемном соотношении компонентов (мл), равном 5:10:85.

Экстракцию проводят 5 мин с применением ультразвука.

Экстракт отфильтровывают, и аликвотную часть хроматографируют на колонке Zorbax ODS (250x4,6 mm) при 25⁰C в потоке элюента, представляющего собой смесь диметилсульфоксида, гептана и метанола при следующем соотношении ингредиентов, об. %: 3–8 : 8–12 : метанол остальное.

Расход элюента 1 мл/мин.

Детектирование разделяемых компонентов проводят при длине волны 295–298 нм. Время анализа составляет не более 6 мин, чувствительность определения 1x10⁻⁴ мг/мл. При использовании в качестве детектора флуориметра или масс-спектрометра чувствительность метода повышается в несколько десятков раз [5–6].

В таблице 1 представлены результаты экстракции ПАУ.

Таблица 1

Результаты экстракции ПАУ из почвы

Соединение	Содержание вещества в пробах, мг					
	внесено	найдено	внесено	найдено	внесено	найдено
БП	1,0	0,90	0,1	0,093	0,05	0,047
ДМБА	1,0	0,95	0,1	0,095	0,05	0,049
МХА	1,0	0,93	0,1	0,091	0,05	0,045

Результаты, представленные в таблице 1, свидетельствуют о высокой эффективности экстрагента. Полнота извлечения ПАУ из образцов почвы составляет около 90 %.

В таблице 2 представлены результаты жидкостно-хроматографического определения ПАУ (БП–1, ДМБА–2, МХА–3).

Таблица 2

Хроматографические параметры элюэтов

Состав	Соотношение ингредиентов, об. %	Время удерживания, мин			Коэффициент емкости			Селективность разделения		Чувствительность, мг/мл
		t _{R1}	t _{R2}	t _{R3}	K ₁	K ₂	K ₃	Q ₁₋₂	Q ₂₋₃	
1	ДМСО – 3 Гептан – 8 Метанол – остальное	4,2	4,6	5,2	0,75	0,92	1,38	1,23	1,41	1 x 10 ⁻⁴
2	ДМСО – 8 Гептан – 12 Метанол – остальное	3,9	4,2	4,9	0,63	0,75	1,04	1,19	1,39	1 x 10 ⁻⁴
3	метанол	10,0	10,0	15,6	3,17	3,17	5,5	1,0	1,74	3 x 10 ⁻⁴

Результаты, представленные в таблице 2, свидетельствуют, что использование многокомпонентного элюента существенно сокращает время анализа и приводит к повышению точности и чувствительности определения ПАУ.

Список литературы

1. БСТ-МВИ-03-03. Методика выполнения измерений массовой доли бенз(а)пирена в продовольственном сырье, пищевых продуктах и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
2. ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.
3. Естественно-научные основы экспертных исследований: учеб. пособие / И. Н. Мельников [и др.]. Саратов: СЮИ МВД России, 2004. – 184 с.

4. Котельникова И.М., Сергеева А.Г. Оценка загрязнения почв г. Благовещенска полициклическими ароматическими углеводородами // Проблемы экологии Верхнего Приамурья. 2013. Т. 13. – С. 8–17.
5. МУК 4.1.1274-03. Измерение массовой доли бенз(а)пирена в пробах почв, грунтов, донных отложений и твердых отходов методом ВЭЖХ с использованием флуориметрического детектора.
6. ПНД Ф 16.1:2:2.2.39-03. Методика выполнения измерений массовой доли бенз(а)пирена в пробах почв, грунтов, твердых отходов и донных отложений методом ВЭЖХ с использованием анализатора жидкости ФЛЮОРАТ-02» в качестве флуориметрического детектора.
7. Проблемы загрязнения продукции резиновой промышленности полициклическими ароматическими углеводородами. Ч. 1. / Н. А. Охотина [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. 2013. Т. 16. № 3. – С. 129–131.
8. Терешкина Е.В., Муравьев Е.И. Органические суперэкоксиканты как факторы антропогенного воздействия на биосферу // Экологический вестник Северного Кавказа. 2007. Т. 3. № 2. – С. 94–103.
9. Формы и факторы накопления полициклических ароматических углеводородов в почвах при техногенном загрязнении (Московская область) / А. Н. Геннадиев [и др.] // Почвоведение. 2004. № 7. – С. 804–818.
10. United States Environmental Protection Agency, Office of Environmental Information, Emergency Planning and Community Right-to-Know Act – Section 313: Guidance for Reporting Toxic Chemicals: Polycyclic Aromatic Compounds Category, EPA 260-B-01-03, Washington, DC, August 2001.

Рецензенты:

Лобачева Г.К., д.х.н., профессор, Президент Волгоградского отделения Международной академии авторов научных открытий и изобретений, г. Волгоград;

Аширбекова М.Т., д.ю.н., доцент, профессор кафедры уголовно-правовых дисциплин Волгоградского филиала РАНХ и ГС при Президенте РФ, г. Волгоград.