

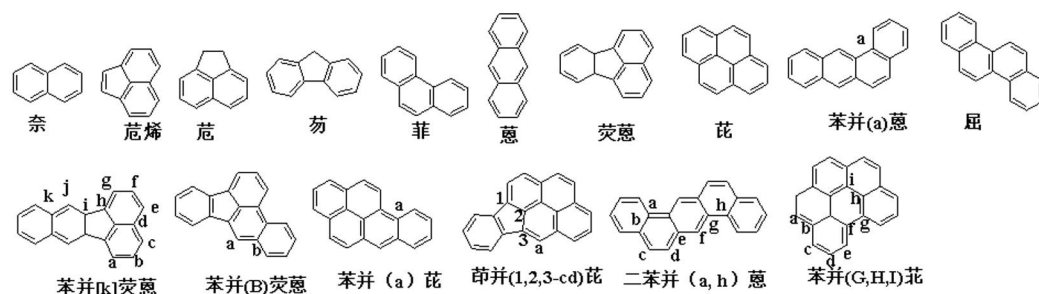
Определение 16 полициклических ароматических углеводородов в воде методом ВЭЖХ

Ключевые слова:

Автоматизированная система твердофазной экстракции; ВЭЖХ; ПАУ; Fotector; Auto EVA

Введение:

Полдиароматические углеводороды (ПАУ) - органические соединения, для которых характерно наличие в химической структуре двух и более конденсированных бензольных колец. В природе ПАУ образуются в процессе пиролиза целлюлозы и встречаются в пластах каменного, бурого угля и антрацита, а также как продукт неполного сгорания при лесных пожарах. Основными источниками эмиссии техногенных ПАУ в окружающую среду являются предприятия энергетического комплекса, автомобильный транспорт, химическая и нефтеперерабатывающая промышленность. В основе практически всех техногенных источников ПАУ лежат термические процессы, связанные с сжиганием и переработкой органического сырья: нефтепродуктов, угля, древесины, мусора, пищи, табака и др. Тип воздействия ПАУ на живые организмы ключевым образом зависит от структуры самого углеводорода и может изменяться в очень широких пределах. Многие полициклические ароматические углеводороды являются сильными химическими канцерогенами. Такие соединения, как бенз[а]антрацен, бензпирен и овален, обладают ярко выраженными канцерогенными, мутагенными и тератогенными свойствами.



В данной методике описано определение содержания 16 ПАУ в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором с предварительной подготовкой проб с помощью автоматизированных систем твердофазной экстракции серии Fotector и упаривания в токе азота серии Auto EVA от RayKol.

1. Оборудование и расходные материалы

Оборудование

Fotector Plus — высокопроизводительная автоматизированная система для твердофазной экстракции;

Автоматизированная система упаривания в токе азота EVA 80;

Автоматическая рабочая станция для работы с жидкостями Auto Prep 200;

ВЭЖХ с УФ-детектором;

Картридж для твердофазной экстракции C18 (RayCure, 500 мг/6 мл, арт.: RC-204-16004);

Колонка для жидкостной хроматографии: Agilent EC-C18 (2,7 мкм×3,0×50 мм).

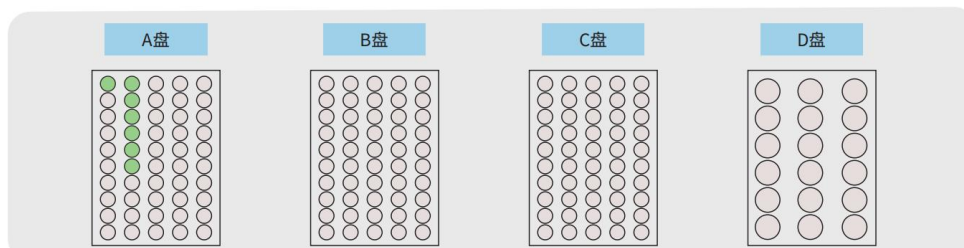
Реактивы

Метанол (ВЭЖХ), дихлорметан (ВЭЖХ), ацетон (ВЭЖХ), ацетонитрил (ВЭЖХ), сверхчистая вода

2. Подготовка проб

Построение графика

Для автоматизированной подготовки стандартных растворов используйте автоматическую рабочую станцию для обработки жидкостей Auto Prep 200 от RayKol. Из приобретенного смешанного стандартного раствора (100 мг/л) можно приготовить рабочий промежуточный раствор с концентрацией 1 мг/л в режиме разведения. Установите программу, наберите рабочий раствор и постройте стандартную рабочую кривую с концентрациями 1,0 мкг/л, 5,0 мкг/л, 10,0 мкг/л, 50 мкг/л и 100 мкг/л.



序号	命令	源液位	源液浓度	源液体积(mL)	目标位	目标浓度	目标体积(mL)	溶剂	洗针溶剂
1	直接稀释	A1	100000.00	1.00	A11	1000.00	1.00	乙腈	乙腈
2	直接稀释	A11	1000.00	1.00	A12	10.00	1.00	乙腈	乙腈
3	直接稀释	A12	10.00	1.00	A13	1.00	1.00	乙腈	乙腈
4	直接稀释	A12	10.00	1.00	A14	2.00	1.00	乙腈	乙腈
5	直接稀释	A11	1000.00	1.00	A15	50.00	1.00	乙腈	乙腈
6	直接稀释	A11	1000.00	1.00	A16	100.00	1.00	乙腈	乙腈
7	方法结束								

100000.00 1.00 1000.00 1.00 10.00 1.00 1.00 1.00 1000.00 1.00 1000.00 1.00

Условия твердофазной экстракции

оборудование	Автоматизированная система ТФЭ Fotector Plus
картридж ТФЭ	Картридж ТФЭ C18 (RayCure, 500 мг/6 мл)
активация	дихлорметан, метанол, вода
промывка	вода
элюирование	дихлорметан



Автоматизированная система ТФЭ Fotector Plus

Подготовка проб

Возьмите 1000 мл чистой воды, добавьте 30 мл ацетона для растворения и подвергните воздействию ультразвуковых колебаний на 20 минут (для образцов с избыточной концентрацией >50 нг/л степень извлечения можно увеличить, промыв бутылку). Активация: Картридж твердофазной экстракции активировали по 10 мл дихлорметана, метанола и сверхчистой воды со скоростью 5 мл/мин. Загрузка: Загрузите 500 мл образца со скоростью 5 мл/мин. Элюирование: Элюируйте картридж 10 мл воды со скоростью 10 мл/мин. Сушка: отрегулируйте давление азота до 25 psi и время до 30 минут (может быть увеличено или уменьшено в зависимости от модели) и высушите остаточную влагу в картридже. Элюирование: Элюируйте 10 мл дихлорметана со скоростью 1 мл/мин и соберите элюент. Схема метода показана на рисунке 3.

стадия	растворитель	слив	скорость потока (мл/мин)	объем (мл)	время (мин)
кондиционирование	дихлорметан	слив органич.	5	10	3.3
кондиционирование	метанол	слив органич.	5	10	2.6
кондиционирование	вода	слив водный	5	10	2.6
загрузка образцов большого объема		слив водный	5	530	132.8
промывка	вода	слив водный	5	10	2.6
продувка		слив водный	80	20	1.6
сушка					30
очистка шприца	метанол		40	3	0.5
очистка шприца	дихлорметан		40	5	0.9
элюирование	дихлорметан	сбор	1	5	5.8
пауза					5
элюирование	дихлорметан	сбор	1	5	5.8
продувка		сбор	1	3	3.5
продувка		сбор	60	10	1
конец программы					

Рисунок-3 Метод твердофазной экстракции полициклических ароматических углеводородов Fotector Plus в воде

Концентрирование

Сконцентрируйте элюат примерно до 1 мл, используя высокопроизводительную автоматизированную систему упаривания в токе азота EVA 80 при 40°C, затем добавьте 3 мл ацетонитрила, продолжайте концентрировать примерно до 1 мл, добавьте внутренний стандарт и доведите объем до 1 мл. Отфильтруйте с помощью мембранного фильтра и перенесите в виалу для дальнейшего анализа.

3. Условия анализа

Условия жидкостной хроматографии

Объем инъекции	10.0µL
Температура колонки	35°C
скорость потока	1.2 mL/min
Длина волны УФ-детектора	254 нм, 220 нм и 295 нм
градиент элюирования	65% ацетонитрила + 35% воды в течение 25 минут; увеличивайте расход ацетонитрила до 100% с шагом 2,5% ацетонитрила/мин и поддерживайте до достижения пика элюирования.

хроматограмма

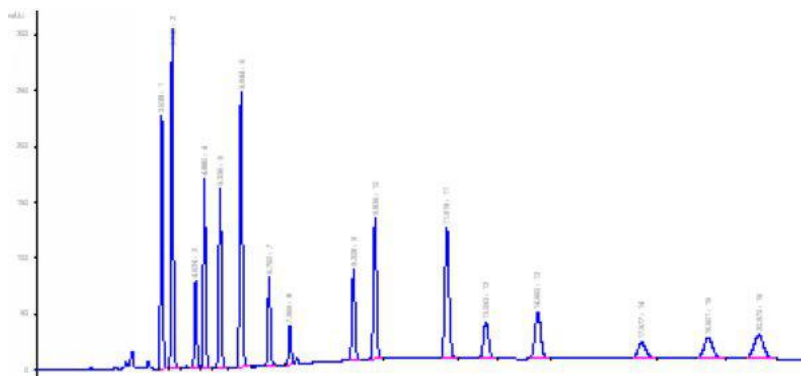


Рисунок-4. Хроматограмма 16 полициклических ароматических углеводородов (100 мкг/л).

4. Проверка осуществимости метода

Чтобы проверить степень извлечения этого метода, указанные выше 16 стандартов ПАУ (20 мкг, 0,1 мг/л) были добавлены в чистую воду (1000 мл) для проверки извлечения методом стандартных добавок ($n = 3$). Результаты показаны в таблице. Стандартная степень извлечения 16 полициклических ароматических углеводородов составляет 68,2–97,0%, а относительное стандартное отклонение ($n = 3$) составляет менее 10%, что соответствует экспериментальным требованиям.

Таблица-1. Степень извлечения и значения RSD 16 ПАУ (2,0 мкг/л)

номер	Название	Ст. извлечения(%)				RSD (%)
		R ₁	R ₂	R ₃	Avg.	
1	Нафталин	74.3	68.2	70.3	70.9	4.4
2	Аценафтилен	73.1	71.4	74.6	73.0	2.2
3	аценафтен	68.3	71.7	76.5	72.2	5.7
4	флуорен	80.6	81.3	77.0	79.6	2.9
5	фенантрен	83.8	79.4	83.0	82.1	2.9
6	антрацен	75.6	77.9	81.4	78.3	3.7
7	флуорантрен	85.4	97.0	84.6	89.0	7.8
8	Пирен	87.4	91.8	88.9	89.4	2.5
9	дронабиол	86.4	80.7	78.0	81.7	5.2
10	Бензо(а)антрацен	94.2	85.3	88.5	89.3	5.0
11	Бензо(б)флуорантен	93.4	83.8	85.1	87.4	6.0
12	Бензо(к)флуорантен	95.4	83.9	92.6	90.6	6.6
13	Бензо(а)пирен	91.0	87.8	85.1	88.0	3.4
14	Индено(1,2,3-сd)пирен	92.3	83.9	80.7	85.6	7.0
15	Дибензо(а,h)антрацен	78.0	86.2	78.6	80.9	5.6
16	Бензо(g,h,i)перилен	81.7	82.0	75.4	79.7	4.7

5. Результаты и обсуждение

Соединения ПАУ с небольшим количеством циклов с большей вероятностью улетучиваются, поэтому поток азота следует контролировать во время упаривания, чтобы уменьшить потери в процессе концентрирования.

ПАУ с большим количеством колец из-за их очень плохой растворимости в воде легко адсорбируются на стенках бутылок с образцами во время экспериментов по добавлению высоких концентраций ($c > 50$ мкг/л). Поэтому для растворения во время анализа проб и экспериментов по извлечению необходимо добавлять метанол или ацетон, а после загрузки пробы бутылку для пробы следует очищать метиленхлоридом. При проведении жидкофазного тестирования обратите внимание, что раствор постоянного объема необходимо преобразовать в ацетонитрил. Если обнаруживается, что пик образца отсутствует или время удерживания увеличено, проблема, вероятно, заключается в том, что метиленхлорид в растворе объема образца не полностью заменён. В таком случае процесс необходимо повторить.

6. Итоги

Стандартная кривая готовится с использованием автоматической рабочей станции для обработки жидких проб AP 200 от RayKol. На протяжении всего процесса персонал не требуется. Запрограммированная работа прибора позволяет эффективно избежать человеческих ошибок и обеспечить точность и аккуратность кривой.

Отличные показатели извлечения и результаты RSD были достигнуты с помощью автоматизированной системы ТФЭ Fotector Plus. В данной системе используется прецизионный шприцевой насос для контроля объема растворителя для активации и элюирования, а также используется положительное давление. Скорость потока активации, элюирования и загрузки стабильна и контролируема. Концентрирование образцов производилось с помощью автоматизированной системы упаривания в токе азота Auto EVA 80. Штативы для образцов обеих систем совместимы, а работа является последовательной и простой.



**Автоматическая
рабочая станция для
обработки жидких проб**



**Автоматизированная система ТФЭ
серии Fotector**



**Автоматизированная система
упаривания в
токе азота серии
Auto EVA**



**Ведущий поставщик автоматизированных систем
пробоподготовки**