



УДК 543.054:543.062:543.544.5.068.7:543.544.32

Хроматографическое изучение компонентного состава нефтепродуктов в донных отложениях

Котова В.Е.^{1,2}, Андреев Ю.А.^{1,2}, Черновьянц М.С.²

¹ ФГБУ «Гидрохимический институт», Ростов-на-Дону

² ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Поступила в редакцию 17.05.2016 г.

Выбраны оптимальные условия регистрации каждого из приоритетных полициклических ароматических углеводородов методом ВЭЖХ со спектрофлуориметрическим детектированием. Предложена и экспериментально подтверждена схема количественного разделения алифатических углеводородов и полициклических ароматических углеводородов методом колоночной хроматографии. Найден оптимальный экстрагент для выделения компонентов из донных отложений, который способен извлекать более эффективно и полициклические ароматические углеводороды, и алифатические углеводороды, а также предотвращать испарение летучих компонентов при концентрировании. Данная схема применена при анализе донных отложений озера Байкал.

Ключевые слова: полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), нефтепродукты, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС), колоночная хроматография, экстракция, донные отложения.

Chromatographic study of oil products component composition in sediments

Kotova V.E.^{1,2}, Andreev Yu.A.^{1,2}, Chernov'yants M.S.²

¹ FSBI «Hydrochemical Institute», Rostov-on-Don

² FSAEI HE «Southern Federal University», Rostov-on-Don

Oil products are extremely complex mixtures of different classes compounds containing mostly hydrocarbons. The main groups of hydrocarbons are aliphatic (as indicative and maximum of oil components content); naphthenic; aromatic, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), known for their harmful and hazard influence. The main aim of the research was the choosing optimal conditions for simultaneous determination of different classes hydrocarbons (aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons). The sediments analysis scheme consists of: organic solvents extraction; elimination of suspended particles; extracts cleaning up by distribution of interfering hydrophilic components by the water; preconcentration; extracts fractionation by column chromatography; final concentration of aliphatic fraction to 1 ml; solvent exchange of PAH hexane-methylene chloride fraction to 1 ml acetonitrile and analysis by gas and high performance liquid chromatography (HPLC). Gas chromatographic with mass-spectrometric detection analysis of n-alkanes was carried out by Agilent Technologies 6850/5975C. Detection was performed as mass range 30-450 a.e.m. scanning. HPLC analysis was carried out by Agilent Technologies 1260 Infinity with fluorescence detector. Optimal conditions for PAH registration by variation of excitation and emission wavelengths to detect maximal analytical signal of each compound of interest were chosen. Elution scheme of extracts fractionation by column chromatography with silica gel Davisil (Grade 635) was proposed and proved experimentally to separate quantitatively aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons fractions. Mixes of organic solvents (acetone-hexane; acetone-hexane-methylene chloride and acetone-hexane-methylene chloride-*i*-octane) were used as extragents. Appropriate solvent for effective extraction of hydrocarbons from sediments to be able prevent semivolatile components evaporation by concentrating was chosen. PAH and aliphatic

hydrocarbons recoveries ranged from 80 % and 70 % and over, respectively. The scheme was applied for oil components determination in sediments from Baikal lake.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum hydrocarbons (PAH), high performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography-mass-spectrometry (GC-MS), column chromatography, extraction, sediments.

Введение

Нефтепродукты представляют собой сложную смесь компонентов различных классов веществ, обладающих разной устойчивостью, токсичностью, физико-химическими свойствами. Основными группами являются углеводороды – алифатические (индикаторные и часто максимальные по содержанию компоненты нефтепродуктов); нафтеновые; ароматические, в том числе и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), влияние которых особенно вредно и опасно. Среди нескольких сотен идентифицированных различных ПАУ выделяют группу из приоритетных 16 соединений, которые включены в перечень особо опасных загрязняющих веществ, что объясняется их мутагенными и канцерогенными свойствами: нафталин (Naph), аценафтилен (Acn), аценафтен (Ace), флуорен (Fl), фенантрен (Phe), антрацен (An), флуорантен (Flu), пирен (Py), бенз[а]антрацен (B[a]A), хризен (Chry), бенз[б]флуорантен (B[b]F), бенз[к]флуорантен (B[k]F), бензо[а]пирен (B[a]P), индено[1,2,3-сd]пирен (In[cd]P), дибенз[а,h]антрацен (DB[a,h]A), бенз[g,h,i]перилен (B[g,h,i]P) [1].

Источники поступления ПАУ в окружающую среду достаточно многочисленны и имеют как биогенное, так и антропогенное происхождение. К природным источникам относят природные пожары, извержения вулканов, биохимические и термические геологические процессы. Источники антропогенного загрязнения – все виды водного и автотранспорта, металлургические производства, сжигание мусора, табачный дым, отопление жилых помещений с использованием дров, угля и нефтепродуктов [2]. Поступление ПАУ в водные объекты обусловлено, в первую очередь, нефтяным загрязнением, которые иногда выделяют отдельно в виде «петрогенного» происхождения.

Содержание ПАУ в различных объектах подлежит контролю. Нормативы содержания этих веществ в виде предельно допустимых концентраций (ПДК) для различных типов воды составляют 4-10 мкг/дм³ для нафталина и 5-10 нг/дм³ для бензо[а]пирена. Загрязняющие вещества, содержащиеся в донных отложениях, российскими нормативными документами не регламентируются, однако существуют зарубежные нормы («берлинские», «бранденбургские» и «голландские листы» [3]. Сравнение зарубежных и российских нормативов качества для почв и донных отложений приведено в таблице 1.

Таблица 1. Нормативы содержания бензо[а]пирена, нефтепродуктов и ПАУ в почве и донных отложениях, нг/г

Вещество	Германия	США	Финляндия	Голландия	Россия
	Почва				
Бензо[а]пирен	2-12	0.7-100	2-15		0.02
Нефтепродукты	-	200-10000	-		180-1000
	Донные отложения				
ПАУ _{сум}	10-100	-	-	1-40	-

Определение компонентов нефтепродуктов (алифатических углеводородов и ПАУ) в донных отложениях представляет собой сложную аналитическую задачу,

что обусловлено низкими значениями ПДК для ПАУ, необходимостью выделять интересные группы веществ, требует проведения длительной подготовки образцов и применения высокочувствительных методов определения этих соединений на столь низком уровне. Цель данной работы – изучение условий экстракционного извлечения, хроматографического разделения фракций ПАУ и алифатических углеводородов для их одновременного определения в донных отложениях и возможности идентификации источника загрязнения.

Эксперимент

В работе применяли образцы веществ индивидуальных ПАУ производства фирмы Supelco с содержанием основного вещества не менее 98 % и набор алифатических углеводородов C₁₀-C₃₀. Использовали растворители (гексан, ацетон, метиленхлорид) квалификации не ниже «химически чистый» отечественного производства после очистки двукратной перегонкой. Ацетонитрил «Криохром» и Lab-Scan (для ВЭЖХ) применяли без дополнительной очистки.

Хромато-масс-спектрометрическое определение алифатических углеводородов выполняли на газовом хроматографе с масс-селективным детектором Agilent Technologies 6850/5975C с кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS (Agilent Technologies, США) с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксаном длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки фазы 0.25 мкм. Масс-спектрометрическое детектирование выполняли в режиме сканирования (SCAN) диапазона масс 30-450 а.е.м. Для расшифровки и идентификации масс-спектров использовалась библиотека NIST 2011. ВЭЖХ определение ПАУ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity со спектрофлуориметрическим детектором с аналитической колонкой ZORBAX Eclipse PAH с неподвижной фазой октадецилсиланом, химически связанным с пористым силикагелем. Внутренний диаметр колонки – 3.0 мм, длина – 250 мм, размер зерна фазы – 5 мкм.

Навески реактивов и донных отложений отбирали с помощью весов специального (MB 210-A), высокого (Sartorius B 210S) и среднего (Sartorius ВЛТ-150-П) классов точности с дискретностью отсчета 0.00001, 0.0001 и 0.001 г соответственно. Градуировочные растворы ПАУ и алифатических углеводородов готовили объемно-весовым методом, а пробы с добавками – объемным методом, относительные погрешности приготовления не превышали 5 %. Пробы донных отложений массой около 2 г экстрагировали три раза смесями органических растворителей по 10 см³, профильтрованные экстракты очищали перераспределением через воду с соотношением фаз 3:10, предварительно сконцентрированные экстракты делили на фракции алифатических углеводородов и ПАУ при помощи колоночной хроматографии на силикагеле Davisil (размер пор 60 Å, 60-100 меш (Grade 635) объемом 1.5 см³ в колонке). Далее фракцию 1, содержащую алифатические углеводороды, объемом 3.5 см³ и фракцию 2, содержащую ПАУ, объемом 3 см³ концентрировали до 1 см³ в градуированных виалах с V-образным дном и анализировали методами газовой и жидкостной хроматографии. Обработку хроматограмм выполняли при помощи программного обеспечения Chemstation, количественные расчеты по хроматограммам проводили методом внешнего стандарта.

Обсуждение результатов

Выбор условий регистрации ПАУ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофлуориметрическим детектором. Применение метода ВЭЖХ со спектрофлуориметрическим детектором для определения следовых количеств ПАУ в образцах окружающей среды объясняется его высокой селективностью и чувствительностью к данной группе веществ. Результаты проведенного анализа литературных данных по оптимальному варианту условий работы детектора представлены в таблице 2.

Таблица 2. Условия детектирования ПАУ [4-10]

Вещество	Условия детектирования из различных источников (E _x /E _m , нм)									
	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	Выбраны		
Naph	224/330	220/330	280/330	220/330	270/323	280/355	280/350	270/340		
Ace	210/314	210/330		275/330			280/325	280/365	280/325	280/330
Fl				270/310						
Phe	250/368	250/363	246/370	250/365	252/370	250/420	280/365	250/363		
An		250/405	250/406	250/400	252/402		260/420	250/405		
Flu	252/402	250/460	280/450	365/462	280/460	270/390	260/420	250/460		
Py	237/440	270/400	270/390	270/390	290/410			290/410	265/380	265/380
B[a]A			285/390	270/400						
Chry			270/380	270/400						
B[b]F	255/420	270/415	290/430	300/450	290/410	290/410	290/420	290/420		
B[k]F				270/410				270/415		
B[a]P	234/453	250/490	300/500	290/420	290/500	300/465	-	290/400		
DB[a,h]A								290/420		
B[g,h,i]P								290/420		
In[cd]P				290/500				250/495		

Посредством варьирования длин волн возбуждения (E_x) и испускания (E_m), зависящих от природы определяемого соединения, подобраны условия измерения максимального аналитического сигнала для каждой зоны элюирования отдельного вещества во время детектирования [11]. Выбранные условия детектирования приведены в таблице 3.

Таблица 3. Условия детектирования (E_x/E_m, нм) ПАУ

Время, мин	E _x , нм	E _m , нм	Регистрируемое соединение
0	270	340	Naph
9	280	330	Ace, Fl
10.5	250	363	Phe
11.8	250	405	An
12.7	250	460	Flu
13.6	265	380	Py
16.0	270	400	B[a]A, Chry
18.5	290	420	B[b]F, B[k]F
20.65	270	415	B[a]P
21.8	290	400	DB[a,h]A
23.65	290	420	B[g,h,i]P
24.9	250	495	In[cd]P

Приемлемый способ разделения группы ПАУ достигнут при градиентном элюировании по следующей программе: увеличение доли ацетонитрила в подвижной фазе ацетонитрил-вода от 45 до 100 % с 0 до 17.5 мин и уменьшение доли ацетонитрила от 100 до 40 % с 26 до 28 мин при скорости потока от 0.1 до 0.85 см³/мин. При этом разрешение пиков (R_s) наиболее плохо разделяющихся веществ на хроматограмме, соответствующих аценафтену и флуорену, составило 1.0.

Изучение условий разделения фракций полициклических ароматических углеводородов и алифатических углеводородов методом колоночной хроматографии. Поскольку нефтепродукты представляют собой сложную смесь органических соединений различных классов, способных перекрывать хроматографические пики, для их идентификации и анализа необходимо предварительное разделение, для чего нами применен метод колоночной хроматографии на силикагеле [12].

По методике разделения [13] предложено элюировать фракцию алифатических углеводородов гексаном (ГК), а фракцию ПАУ – смесью гексан-метилхлорид (1:1 по объему) (ГК-МХ). Нами исследовано поведение смеси этих групп веществ при их разделении на силикагеле, по результатам которого построены кривые элюирования для определения объемов элюентов, необходимых для полного разделения групп исследуемых веществ. Для этого модельные растворы алифатических углеводородов, ПАУ и их смесь помещали в колонку с силикагелем и элюировали ГК и смесью ГК-МХ (1:1 по объему), отбирая фракции по 0.5 см³, затем анализировали соответствующим группам веществ методом. Установлено, что группа алифатических углеводородов количественно элюируется первыми 3.5 см³ ГК (фракция 1), а ПАУ последующими 3.5 см³ смеси ГК-МХ (фракция 2). В выбранных условиях группа ПАУ не элюируется н-гексаном с силикагеля (до 5 см³). На рисунке 1 представлены кривые элюирования алифатических углеводородов и ПАУ.

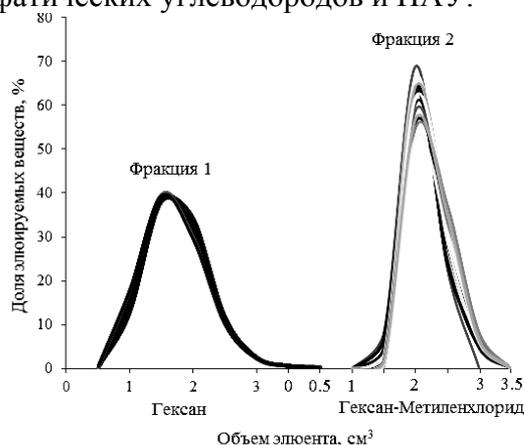


Рис. 1. Кривые элюирования алифатических углеводородов (фракция 1) и ПАУ (фракция 2)

Для уменьшения расхода растворителей и с целью сокращения объемов элюатов (которые далее концентрируются до 1 см³), изучена возможность присоединения 0.5 см³ смеси ГК-МХ к первой фракции и доказано отсутствие «перекрестного» загрязнения получаемых фракций. Таким образом, конечная схема процедуры разделения алифатических углеводородов и ПАУ выглядит следующим образом (табл. 4).

Таблица 4. Схема элюирования для колоночной хроматографии

Экстракт	Элюируемые вещества	Схема элюирования
Фракция 1	Алифатические углеводороды	3 см ³ ГК + 0.5 см ³ ГК-МХ
Фракция 2	Ароматические углеводороды	3 см ³ ГК-МХ

Выбор экстрагента для извлечения ПАУ из донных отложений. Одной из задач данного исследования является выбор оптимальных и экономичных условий для экстракционного извлечения ПАУ из донных отложений. На основе литературных данных в качестве экстрагентов изучены смеси ацетон-гексан (1:1 по объему), ацетон-гексан-метиленхлорид (2:1:1 по объему) и ацетон-гексан-метиленхлорид-изооктан (5:2:2:1 по объему). Определение степеней извлечения ПАУ в донных отложениях проводили методом «введено-найдено» по схеме, описанной в разделе «Эксперимент». При экстракции смесью ацетон-гексан степени извлечения составляют 40-70 %. При добавлении к экстракционной смеси метиленхлорида извлечение увеличивается до 50-80 %, что свидетельствует, вероятно, о его лучшей способности извлекать ПАУ из липидных компонентов донных отложений. Введение высококипящего экстрагента изооктана в систему позволяет предотвратить потерю ПАУ при концентрировании и повысить степень извлечения до 80 % и более. Степени извлечения алифатических углеводородов оценивали в условиях, оптимальных для экстракции ПАУ, полнота извлечения составила 70 % и более.

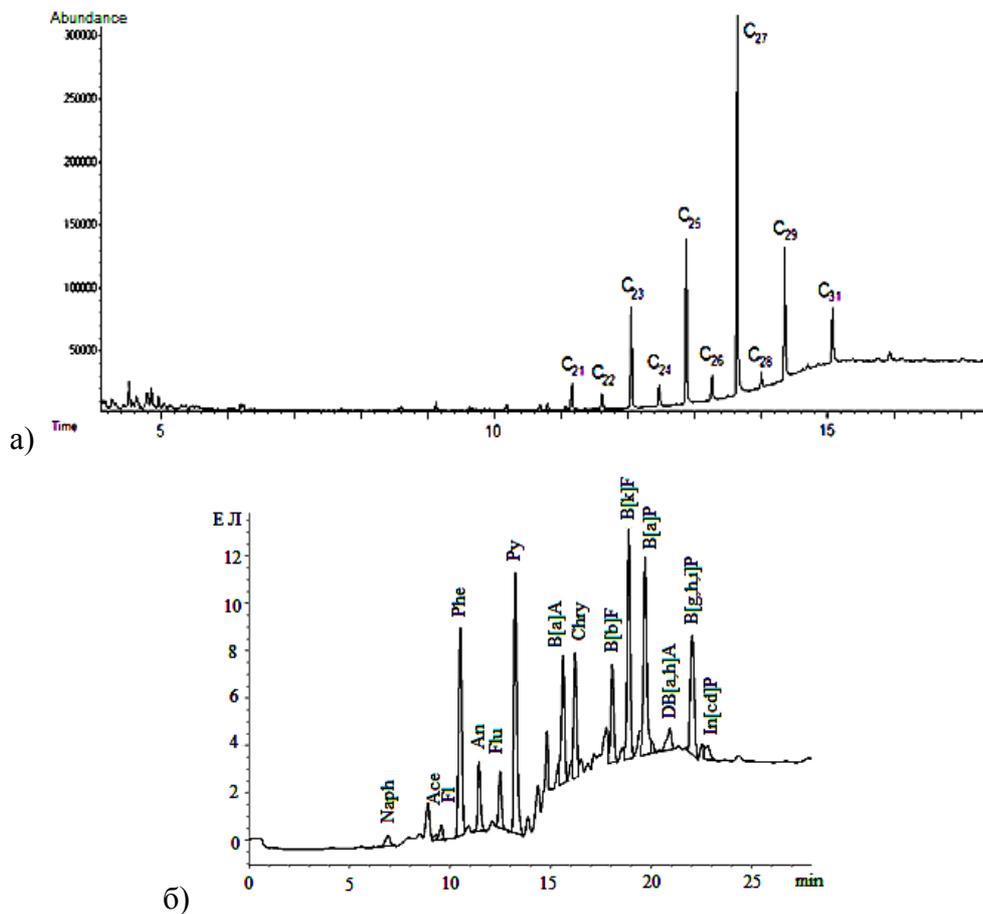


Рис. 2. Хроматограммы фракций, содержащих алифатические углеводороды (ГХ-МС) а) и ПАУ (ВЭЖХ) б), экстракта донных отложений озера Байкал

Апробация изучаемого способа анализа на реальных объектах. Предложенная схема анализа применена для определения ПАУ и алифатических углеводородов в донных отложениях, отобранных из озера Байкал в 2013-2015 гг. На рисунке 2 представлены хроматограммы фракций, содержащих алифатические углеводороды (рис. 2,а) и ПАУ (рис. 2,б), экстракта проб.

Массовые доли составили 22 нг/г для В[а]Р и 57-883 нг/г для суммы ПАУ, алифатических углеводородов – 0.1-14 мкг/г для C₂₇ и 1-32 мкг/г для суммы УВ (C₂₁-

C₃₁). Информация о распределении маркерных углеводов внутри исследуемых классов соединений, полученная при анализе одной пробы донных отложений, может быть использована для идентификации источников загрязнения [13].

Заключение

Данная работа демонстрирует, как путем использования комплекса экстракционных процедур в сочетании с хроматографическими методами анализа возможно проводить одновременную идентификацию источника нефтяного загрязнения и измерять содержание компонентов нефтепродуктов (алифатические углеводороды и ПАУ) на микрограммовом и нанограммовом уровнях соответственно из одной пробы донных отложений.

Список литературы

1. Ноллет Л.М.Л. Анализ воды. Справочник: пер. с англ. 2-го изд.; под ред. Васильевой И.А., Пролетарской Е.Л. С-Петербург, ЦОП «Профессия». 2012. 920 с.
2. Майстренко В.Н., Ключев Н.А. Экологоаналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. Москва, БИНОМ. Лаборатория знаний. 2009. 323 с.
3. Neue Niederlandische Liste. Altlasten Spektrum 3/95. Законодательная база Российской Федерации. Режим доступа: <http://zakonbase.ru/content/part/440713> (дата обращения: 18.03.2016)
4. Henderson J.W.Jr., Biazzo W., Long W. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) separation using ZORBAX Eclipse PAH columns – analysis from six to 24 PAHs. Режим доступа: <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-7968EN.pdf> (дата обращения: 18.03.2016)
5. Fu R., Zou Yu. Analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in water with ZORBAX Eclipse PAH column. Режим доступа: <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-7953EN.pdf> (дата обращения: 18.03.2016)
6. Santos J.L., Aparicio I., Alonso E. // *Anal. Chim. Acta*. 2007. Vol. 605. pp. 102-109.
7. Deschamps M.B., Daudin J.-J., Barriuso E. // *J. Chromatogr. A*. 2007. Vol. 1167. pp. 143-153.
8. Huang Yu., Wei J., Song J., Chen M., Luo Y. // *Chemosphere*. 2013. Vol. 92. pp. 1010-1016.
9. Williamson K.S., Petty J.D., Huckins J.N., Lebo J.A. et al. // *Chemosphere*. 2002. pp. 703-715.
10. ПНД Ф 14. 1:2:4.70-96. Методика выполнения измерений массовой концентрации полициклических ароматических углеводородов в пробах питьевых, природных и сточных вод хроматографическим методом ВЭЖХ. Москва, 1996. 29 с.
11. Котова В.Е., Андреев Ю.А. // «Современные проблемы гидрохимии и мониторинга качества поверхностных вод», материалы научной конференции (с международным участием). Часть 2., 8-10 сентября 2015 г. Ростов-на-Дону. С. 33-37.
12. Котова В.Е., Андреев Ю.А., Черновьянц М.С. // «Теория и практика хроматографии», тезисы докладов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной памяти проф. М.С. Вигдергауза. 24-30 мая 2015 г. Самара. С. 52.
13. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 20, UNEP 1992.

References

1. Nollet L.M.L. Handbook of water analysis. Second edition: per. s angl. 2-go izd.; pod red. Vasil'evoi I.A., Proletarskoi E.L. Sankt-Peterburg, TsOP «Professiya», 2012, 920 p.
2. Maistrenko V.N., Klyuev N.A. Ekologoanaliticheskii monitoring stoikikh organicheskikh zagryaznitelei. Moskva, BINOM. Laboratoriya znanii, 2009, 323 p.

3. Neue Niederlandische Liste. Altlasten Spektrum 3/95. Zakonodatel'naya baza Rossiiskoi Federatsii. Available at: <http://zakonbase.ru/content/part/440713> (accessed 18 March 2016)
4. Henderson J.W.Jr., Biazzo W., Long W. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) separation using ZORBAX Eclipse PAH columns – analysis from six to 24 PAHs. Available at: <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-7968EN.pdf> (accessed 18 March 2016)
5. Fu R., Zou Yu. Analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in water with ZORBAX Eclipse PAH column. Available at: <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-7953EN.pdf> (accessed 18 March 2016)
6. Santos J.L., Aparicio I., Alonso E., *Anal. Chim. Acta*, 2007, Vol. 605, pp. 102-109. DOI: 10.1039/C4AY01723D. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267007017588> (accessed 18 March 2016)
7. Deschamps M.B., Daudin J.-J., Barriuso E., *J. Chromatogr. A*, 2007, Vol. 1167, pp. 143-153. DOI: 10.1002/jssc.201200854. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967307013866> (accessed 18 March 2016)
8. Huang Yu., Wei J., Song J., Chen M., Luo Y., *Chemosphere*, 2013, Vol 92, pp. 1010-1016. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.03.035. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653513004657> (accessed 18 March 2016)
9. Williamson K.S., Petty J.D., Huckins J.N., Lebo J.A., Kaiser E.M., *Chemosphere*, 2002, Vol 49, pp. 703-715. doi:10.1016/S0045-6535(02)00394-6. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653502003946> (accessed 18 March 2016)
10. PND F 14. 1:2:4.70-96. Metodika vypolneniya izmerenii massovoi kontsentratsii polisiklicheskikh aromatcheskikh uglevodorodov v probakh pit'evykh, prirodnykh i stochnykh vod khromatograficheskim metodom VEZhKh. Moskva, 1996. 29 p.
11. Kotova V.E., Andreev Yu.A. «Modern problems of hydrochemistry and quality monitoring of surface water», Proceedings of the Scientific Conference (with the international participation). Part 2., September 8-10, 2015., Rostov-on-Don. pp. 33-37.
12. Kotova V.E., Andreev Yu.A., Chernov'yants M.S., «Theory and practice of chromatography», Proceedings of the All-Russian Conference with the international participation, devoted to memory of prof. M.S. Vigdergauz. May 24-30, 2015, Samara. pp. 52.
13. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 20, UNEP 1992.

Котова Валентина Евгеньевна – аспирант, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону; младший научный сотрудник, ФГБУ «Гидрохимический институт», Ростов-на-Дону

Андреев Юрий Александрович – заведующий лабораторией методов и технических средств анализа вод, ФГБУ «Гидрохимический институт», Ростов-на-Дону; старший преподаватель, к.х.н., Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Черновьянц Маргарита Сергеевна – профессор, заведующая кафедрой аналитической химии, д.х.н., Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Kotova Valentina E. – Ph. D. student, Southern Federal University, Rostov-on-Don; researcher, FSBI «Hydrochemical Institute», Rostov-on-Don, e-mail: Valentina.E.Kotova@gmail.com

Andreev Yury A. – head of laboratory of methods and technical facilities of water analysis, FSBI «Hydrochemical Institute», Rostov-on-Don; senior lecturer, Ph. D., Southern Federal University, Rostov-on-Don, e-mail: y.a.andreev@gmail.com

Chernov'yants Margarita S. – professor, head of analytical chemistry department, doctor of chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don, e-mail: chernov@sfedu.ru