

Optimization of the stage of polycyclic aromatic hydrocarbons extraction from biota

Kyrylo Tsymbaliuk¹, Yuriy Denga¹,
Valeriy Antonovich²

¹ Organization of Monitoring and Analytical Research
Department, Ukrainian Scientific Centre of Ecology of the Sea,
89 Frantsuzkiy Blvd., Odesa, UKRAINE,
E-mail: kiorgg@yahoo.com

² Analytical Chemistry Department, A. V. Bogatsky
Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine, 86
Lustdorfska Road Str., Odesa, UKRAINE,
E-mail: antonovichvp@ukr.net

Human production activities have resulted in pollution of the environment with toxic substances, of which polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are ones of the most hazardous.

This class of toxicants is especially dangerous due to the fact that all PAH are extremely stable in the environment, exert carcinogenic, mutagenic and hepatotoxic effects; they can accumulate in lipid tissues of living organisms and cause a variety of serious diseases.

The global trend of increasing requirements to the control of PAH level in objects of the environment makes it necessary to develop new high-sensitive methods of super-toxicants determination. Solution of such tasks requires combination of preliminary extraction, concentration of PAH micro-quantities and their final determination applying modern chromatographic and chromatographic-mass-spectrometric equipment. PAH are commonly extracted from biota using Soxhlet, ultrasonic and liquid-liquid extraction [1]. However, Soxhlet extraction is time-consuming (16-24 hrs.) and entails using big volumes of expensive solvents. This research attempts to make the Soxhlet extraction of polyarenes from biota (mussel muscle tissue) faster and less expensive. PAH were extracted with various solvents (hexane, cyclohexane, toluene, dichlormethane, methanol, and acetone) and their mixtures in different ratios in a Soxhlet apparatus.

It was found that the best extracting agents are the mixtures cyclohexane-acetone (1:3) and dichlormethane-methanol (1:3), for which the extraction degrees for 8 hours (Fig. 1) fall into the range 77-95%. Due to using gas chromatograph-mass spectrometer Agilent 7890/5975C with PTV injector in the selective ion monitoring mode, biota sample weight was reduced from 10 g to 1-2 g, extracting agent volume from 250 cm³ to 80 cm³ and extraction time to 8 hrs, respectively.

Оптимізація стадії екстракційного вилучення поліциклічних ароматичних вуглеводнів з біоти

Кирило Цимбалюк¹, Юрій Деньга¹,
Валерій Антонович²

¹ Відділ організації моніторингу та аналітичних досліджень Українського наукового центру екології моря, УКРАЇНА, м. Одеса, Французький бульвар, 89,
E-mail: kiorgg@yahoo.com

² Відділ аналітичної хімії Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, УКРАЇНА, м. Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86,
E-mail: antonovichvp@ukr.net

В роботі наведено результати досліджень щодо поліпшення експресності та економічності Сокслет-екстракції поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ, поліаренів) з біоти. Для екстракції ПАВ з м'язової тканини мідій були випробовані різноманітні розчинники (гексан, циклогексан, толуол, дихлорметан, метанол, ацетон) та їх суміші в різних співвідношеннях. Встановлено, що найкращим екстрагентом є суміш дихлорметан-метанол (1:3), при використанні якої ступені вилучення поліаренів за 8 годин екстракції становлять від 75 до 97%.

Ключові слова – Сокслет-екстракція, ступінь вилучення, хромато-мас-спектрометрія, біота, поліциклічні ароматичні вуглеводні.

I. Вступ

Виробнича діяльність людини призвела до забруднення навколишнього середовища токсичними речовинами, одними з найбільш небезпечних для людини є поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ, поліарени).

ПАВ – обмежено летючі стійкі органічні забруднювачі, що складаються з двох або більше конденсованих ароматичних кілець. Ці повсемірно поширені токсиканти головним чином є побічними продуктами, що утворюються при спалюванні викопних палив, виробництвах хімічної, металургійної, целюлозно-паперової промисловості.

Особливу небезпеку цей клас забруднювачів представляє тому, що всі ПАВ вкрай стійкі в навколишньому середовищі, мають канцерогенну, мутагенну, тератогенну, гепатотоксичну дію, здатні акумулюватися в ліпідних тканинах живих організмів і викликати різні важкі захворювання.

Загальносвітова тенденція посилення вимог до вмісту поліциклічних ароматичних вуглеводнів в об'єктах навколишнього середовища (воді, донних відкладеннях, біоті) викликає необхідність розробки нових високочутливих методів визначення супертоксикантів. Для вирішення таких завдань необхідно поєднання попереднього виділення і концентрування мікрокількостей ПАВ та їх кінцевого визначення з використанням сучасних хроматографічних і хромато-мас-спектрометричних приладів. Для вилучення

ПАВ з біоти зазвичай використовують Сокслет, ультразвукову та прискорену рідинну екстракцію [1]. Однак Сокслет-екстракція тривала (16-24 год) і вимагає значних витрат коштовних розчинників. Для ультразвукової екстракції характерні низькі ступеня вилучення і деструкція аналітів, особливо високомолекулярних ПАВ. Прискорена рідинна екстракція дозволяє досягти високих ступенів вилучення при невеликій витраті розчинників і за нетривалий час, але для неї необхідно коштовне обладнання. В даній роботі зроблена спроба поліпшити експресність та економічність Сокслет-екстракції поліаренів з біоти (м'язова тканина мідій).

II. Експериментальна частина

У роботі використовували наступні реагенти, прилади і допоміжне обладнання: хромато-мас-спектрометр Agilent 7890A/5975C, термостат на шість місць Electromantle ME, а також – гексан, циклогексан, дихлорметан, метанол, – фірми Sigma-Aldrich, кваліфікації Pesticide Residue Analysis, оксид алюмінію і силікагель для колоночної хроматографії виробництва фірми Merck. Для градування хроматографії виробництва фірми Merck. Для градування хромато-мас-спектрометра використовували стандартну суміш, що містить 16 ПАВ, виробництва фірми Supelco (кат. № 4-9156). Як внутрішній стандарт використовували дейтерований пірен (pyrene-d10) виробництва Cambridge Isotope Laboratories (USA). Проби мідій висушували до повітряно-сухого стану за допомогою ліофільної сушки в апараті CHRIST ALPHA 1-4. Екстракцію ПАВ з висушеної проби м'язової тканини мідій проводили різними розчинниками (гексан, циклогексан, толуол, дихлорметан, метанол, ацетон) та їх сумішами в різних співвідношеннях в апараті Сокслета. Отриманий екстракт випаровували на роторному випарнику до 5 см³, потім до 1 см³ під струмом азоту. Екстракт піддавали фракціонуванню на колонці, послідовно заповненій силікагелем, оксидом алюмінію і сульфатом натрію. Фракцію з ПАВ випаровували під слабким струмом азоту до 1 см³ і піддавали якісному та кількісному аналізу на хромато-мас-спектрометрі.

Висновок

Встановлено, що найкращим екстрагентами є суміші циклогексан-ацетон (1:3) та дихлорметан:метанол (1:3), при використанні яких ступені вилучення поліаренів за 8 годин (рис.1) екстракції становлять від

77 до 95%. Слід відзначити, що при використанні суміші циклогексан-ацетон (1:3) отримано порівняно низькі ступені вилучення для високомолекулярних бензо(а)пірену та бензо(г,х,і)перілену (від 77 та 82%), тоді як для низькомолекулярних ПАВ ступені вилучення коливались від 89-92 %. При використанні для екстракції суміші дихлорметан:метанол (1:3) ступені вилучення для високомолекулярних ПАВ становили від 90 до 93%, та були вищі, ніж для низькомолекулярних ПАВ (від 79-87%),

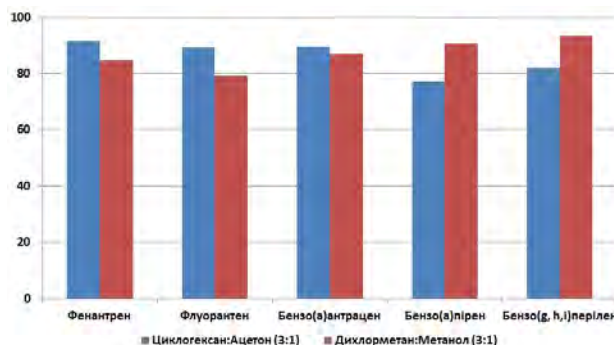


Рис. 1. Ступені вилучення ПАВ з біоти за 8 годин сумішами циклогексан-ацетон (1:3) та дихлорметан:метанол (1:3)

Використання на кінцевій стадії аналізу хромато-мас-спектрометра Agilent 7890/5975C з РТВ введенням (режим з відгонкою розчинника), що працює в режимі селективного моніторингу іонів (SIM) дозволило при Сокслет-екстракції скоротити наважку аналізованих зразків біоти з 10 г до 1-2 г, обсяг екстрагента з 250 см³ до 80 см³ і час екстракції до 8 годин. Для контролю правильності одержуваних результатів аналізували міжнародний стандартний зразок складу гомогенату мідій SRM ІАЕА – 408 з атестованим вмістом ПАВ. Всі отримані дані не виходили за межі відповідних довірчих інтервалів, що служить підтвердженням достовірності результатів, отриманих за запропонованою в цій роботі методикою аналізу.

Література

- [1] Poster D., Schantz M., Sander L., Wise S. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods // Anal. Bioanal. Chem., 2006. – № 386. – Р. 859-881.