

Stanovenie polycyklických aromatických uhľovodíkov v kyseline octovej

PETER ŠIMKO—LADISLAV NOVOTNÝ—MILAN DRDÁK—JOLANA KAROVIČOVÁ

Súhrn: Vzorka surovej kyseliny octovej, ktorá vzniká ako vedľajší produkt pri suchej destilácii dreva, bola analyzovaná z hľadiska obsahu polycyklických aromatických uhľovodíkov. Po extrakcii a prečistení PAU frakcie sa jednotlivé zlúčeniny stanovili metódou HPLC s využitím selektívnej fluorimetrickej detekcie. Na základe metódy štandardného prídavku sa identifikovalo 10 chromatografických pík (fenantrén, antracén, fluorantén, pyrén, benzo[*a*]antracén + chryzén, dibenzo[*a, c*]antracén, benzo[*e*]pyrén, benzo[*a*]pyrén, dibenzo[*a, c*]fluorantén a koronén), zodpovedajúcich celkovému množstvu 28,65 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU) patria k najrozšírenejším kontaminantom životného prostredia. Ich nepriaznivý vplyv na živý organizmus spôsobil, že PAU patria k sledovanej skupine polutantov životného prostredia, pričom sú do jednotlivých oblastí kontroly kvality životného prostredia postupne zapracúvané maximálne prípustné limity typických zlúčenín tejto skupiny látok. PAU na rozdiel od iných kontaminantov (napr. polychlórované bifenyly, ktorých koncentrácia bude postupne klesať) predstavujú pre ľudskú populáciu trvalé nebezpečenstvo vzhľadom na ich nepretržitú generáciu v procesoch termickej deštrukcie organickej hmoty (drevo, fosílna palivá, plasty a pod.). Osobitným prípadom je prienik ropných látok do potravinového reťazca v dôsledku ekologických havárií.

Z analytického hľadiska predstavujú PAU relatívne obťažnú skupinu látok, a to tak vzhľadom na ich reálnu koncentráciu v ekosystéme (spravidla $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), ako aj na náročnosť ich separácie a identifikácie. Stanovením PAU pomocou plynovej chromatografie s použitím plameňovoionizačného detekto-

Ing. Peter Šimko, CSc., doc. Ing. Milan Drdák, DrSc., Ing. Jolana Karovičová, CSc., Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Pharm. dr. Ladislav Novotný, CSc., Ústav experimentálnej onkológie SAV, Špitálska 21, 812 32 Bratislava.

ra, resp. hmotnostného detektora, sa zaoberajú viaceré práce [1—4]. HPLC metóda s využitím detekcie v UV oblasti, resp. fluorimetrickej detekcie sa v mnohých prípadoch použila na stanovenie PAU v rôznych druhoch vzoriek [4—8]. Ako sa zistilo paralelným testovaním separačnej účinnosti GC kapilárnej kolóny a HPLC kolóny, kapilárna kolóna má vo všeobecnosti vyššiu účinnosť, čo sa s výhodou využíva pri separácii zložitejších zmesí. HPLC kolóna sa naproti tomu vyznačuje vyššou selektivitou, čo možno zasa využiť na separáciu stereoizomérov [9].

Cieľom tejto práce bolo stanoviť PAU v surovej kyseline octovej, pretože sa s ňou uvažuje ako s perspektívnym substrátom vhodným na produkciu biomas, ktorá by sa mohla použiť na kŕmenie hospodárskych zvierat.

Materiál a metódy

Vzorka surovej kyseliny octovej, vznikajúcej ako vedľajší produkt pri suchej destilácii dreva, bola podrobená analýze na prítomnosť PAU.

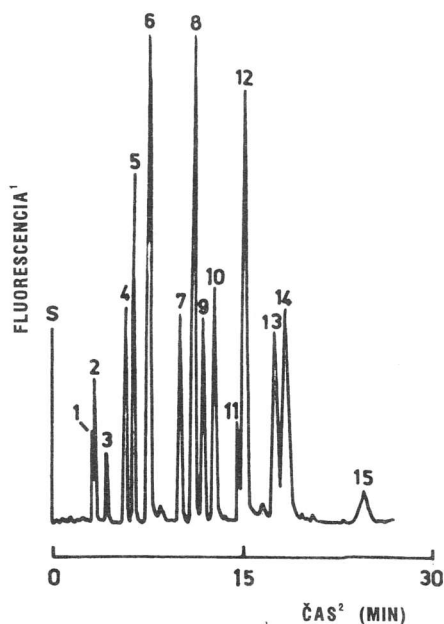
Postup. Surová kyselina octová bola pre HPLC analýzu preparovaná takto: 100 ml vzorky sa postupne extrahovalo 3×50 ml hexánu a spojený hexánový extrakt sa po vysušení prepustením cez vrstvu bezvodého Na_2SO_4 skoncentroval na rotačnej vákovej odparke na objem približne 1 ml. Zahustený extrakt sa prečistil na Florisilovej kolónke, ktorá pozostávala z 2,5 g Florisilu, deaktivovaného 5% H_2O . Frakcia PAU sa eluovala 150 ml hexánu a odparok sa rozpustil v metanole a doplnil na objem 1,5 ml. Takto upravená vzorka sa potom injektovala do kvapalinového chromatografu.

Podmienky HPLC:

- kolóna 30 cm dlhá s vnútorným priemerom 3 mm, plnená stacionárnou fázou Separon SGX C 18 so zrnitosťou $5\ \mu\text{m}$,
- mobilná fáza — zmes acetonitrilu a vody v pomere 3 : 1,
- prietok $1,15\ \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
- nástrek $15\ \mu\text{l}$,
- vysokotlakové čerpadlo HPP 4001 (Laboratorní přístroje, Praha),
- slučkový dávkovač PK-1 (Vývojové dílny ČSAV),
- fluorescenčný detektor Perkin-Elmer (typ LS-2B),
- excitačná vlnová dĺžka 310 nm,
- emisná vlnová dĺžka 410 nm.

Výsledky a diskusia

Chromatografický záznam 16 štandardov PAU sa nachádza na obr. 1. Stanovenie každej zlúčeniny sa uskutočnilo paralelne, pričom hodnota relatívnej smerodajnej odchýlky nepresiahla hodnotu 3,1 %. Za daných chromatografických podmienok nebolo možné separovať benzo[*a*]antracén od chryzénu, čo je však vzhľadom na ich relatívne nízku karcinogénnu aktivitu [10] nepodstatné. Naproti tomu bola frakcia zlúčenín s piatimi aromatickými jadrami v molekule (dibenzo[*a,c*]antracén, benzo[*e*]pyrén, benzo[*a*]pyrén, dibenzo[*a,h*]antracén a indeno[1,2,3-*c,d*]pyrén) separovaná veľmi dobre (obr. 1), pričom práve benzo[*a*]pyrén a dibenzo[*a,h*]antracén sa vyznačujú mimoriadne silnou karcinogénnou aktivitou.



Obr. 1. Chromatografický záznam štandardov PAU. S — štart, 1 — fluoren, 2 — fenantrén, 3 — antracén, 4 — fluorantén, 5 — pyrén, 6 — benzo[*a*]antracén + chryzén, 7 — dibenzo[*a,c*]antracén, 8 — benzo[*e*]pyrén, 9 — benzo[*a*]pyrén, 10 — dibenzo[*a,h*]antracén, 11 — indeno[1,2,3-*c,d*]pyrén, 12 — 20-metylcholantrén, 13 — antantrén, 14 — dibenzo[*a,e*]florantén, 15 — koronén. Fig. 1. Chromatogram of PAH standards. S — start, 1 — fluorene, 2 — phenanthrene, 3 — anthracene, 4 — fluoranthene, 5 — pyrene, 6 — benzo[*a*]anthracene + chrysene, 7 — dibenzo[*a,c*]anthracene, 8 — benzo[*e*]pyrene, 9 — benzo[*a*]pyrene, 10 — dibenzo[*a,h*]anthracene, 11 — indeno[1,2,3-*c,d*]pyrene, 12 — 20-methylcholanthrene, 13 — anthanthrene, 14 — dibenzo[*a,e*]fluoranthene, 15 — coronene. ¹Fluorescence, ²Time.

Jednotlivé zlúčeniny PAU v surovej kyseline octovej boli identifikované metódou štandardného prídavku zmesného štandardu. Stanovené PAU spolu s medzou ich detekcie za podmienok metódy sa nachádzajú v tab. 1.

Tabuľka 1. PAU stanovené v surovej kyseline octovej
Table 1. PAH determined in raw acetic acid

Zlúčenina ¹	Medza detekcie ² [$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]	Obsah na vzorke ³ [$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]
Fenantrén ⁴	0,09	0,10
Antracén ⁵	0,08	0,10
Fluorantén ⁶	1,10	2,19
Pyrén ⁷	0,04	0,87
Benzo[a]antracén + chryzén ⁸	0,06	0,21
Dibenzo[a,c]antracén ⁹	0,04	3,14
Benzo[e]pyrén ¹⁰	0,01	0,20
Benzo[a]pyrén ¹¹	0,03	0,77
Dibenzo[a,e]fluorantén ¹²	3,42	5,01
Koronén ¹³	4,25	16,06
Celková suma PAU ¹⁴		28,65

Medza detekcie sa stanovila ako trojnásobok šumu signálu detektora pri danej citlivosti.

Detection limit was evaluated as triplication of noise of detector signal at given sensitivity.

¹Compound; ²Detection limit; ³Content in sample; ⁴Phenanthrene; ⁵Anthracene; ⁶Fluoranthene; ⁷Pyrene; ⁸Benzo[a]anthracene + chrysene; ⁹Dibenzo[a,c]anthracene; ¹⁰Benzo[e]pyrene; ¹¹Benzo[a]pyrene; ¹²Dibenzo[a,e]fluoranthene; ¹³Coronene; ¹⁴PAH concentration in total.

Ako vyplýva z tab. 1, celková suma PAU stanovená v surovej kyseline octovej je $28,65 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Nakoľko v odbornej literatúre je totálna absencia údajov týkajúcich sa obdobných vzoriek, je možné posúdiť namerané údaje len s určitými druhmi potravín, ktoré boli na prítomnosť PAU analyzované. Tu však opäť vystupuje do popredia otázka správneho porovnania vzhľadom na to, že rôzni autori sledovali rôzne zlúčeniny PAU, takže prípadné porovnanie je prakticky neuskutočniteľné. Problém možno opäť zjednodušiť a sprehľadniť porovnaním koncentrácií najviac sledovanej zlúčeniny — benzo[a]pyrénu, ktorý sa vo všeobecnosti považuje za indikátor závažnosti výskytu PAU v potravinách, resp. potravinárskych surovinách, či krmovinách.

Keďže benzo[a]pyrén je v niektorých, tepelne opracovaných (najmä grilovaných a údených) potravinách pravidelne stanovovaný v koncentráciách $0,1$ — $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ [11, 12], ale aj iných potravinárskych aditívach v rozmedzí $0,1$ — $220 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ [7, 13], zdá sa byť koncentrácia benzo[a]pyrénu, a teda aj PAU v surovej kyseline octovej z hygienicko-toxikologického hľadiska vcelku prijateľná a surovina by mohla byť použitá na produkciu biomasy určenej na výživu

hospodárskych zvierat už aj vzhľadom na to, že samotné mikroorganizmy môžu PAU odbúravať, resp. ich zneškodňovať väzbou na svoj vlastný genetický materiál.

Literatúra

1. GRIMER, G.—BOHMKE, H., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 58, 1976, s. 725.
2. TUOMINEN, J.—WICKSTROM, K.—PYYSALO, H., J. High Chromatogr. Commun., 9, 1986, s. 469.
3. VASSILAROS, D. L.—STOKER, P. V., Anal. Chem., 54, 1982, s. 103.
4. LAWRENCE, J. F.—WEBER, D. F., J. Agric. Food Chem., 32, 1984, s. 789.
5. GERTZ, CH., Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 173, 1981, s. 208.
6. SILVESTER, D. S., J. Food. Technol., 15, 1980, s. 413.
7. STIJVE, T.—HISCHENHUBER, C., Dtsch. Lebensm.-Rundsch., 83, 1987, s. 276.
8. ZOCCOLLILLO, L.—LIBERTI, A.—COCCIOLI, F.—RONCHETTI, I., J. Chromatogr., 288, 1984, s. 347.
9. SIM, P. G.—BOYD, R. K.—GERSHEY, R. M.—GUEVREMONT, R.—JAMIESON, W. D., Biom. Environ. Mass Spectrometry, 14, 1987, s. 375.
10. TÓTH, L., Chemie der Räucherung. Weinheim, Verlag Chemie 1983, 331 s.
11. FRETHEIM, K., Food Chem., 10, 1983, s. 129.
12. MACRAE, E., HPLC in Food Analysis. London, Academic Press 1988, 502 s.
13. HOWARD, J. W.—FAZIO, T., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63, 1980, s. 1077.

Do redakcie došlo: 2. 4. 1992

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in acetic acid

Summary

Raw sample of acetic acid, which is formed in the process of wood distillation as by-product, was analysed on the content of PAH. After extraction and purification procedures of PAH fraction, individual compounds were determined by HPLC technique using selective fluorimetric detection. By help of standard addition method, 10 chromatographic peaks (phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo[a]anthracene + chrysene, dibenzo[a,c]anthracene, benzo[e]pyrene, benzo[a]pyrene, dibenzo[a,c]fluoranthene and coronene) corresponding to total amount of $28.65 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, were identified.

Определение полициклических ароматических углеводородов в уксусной кислоте

Резюме

Проба сырой уксусной кислоты, которая возникает как побочный продукт при сухом дестилровании дерева, была анализирована с точки зрения доли полициклических ароматических углеводородов. После экстракции и очистки РАУ фракции были отдельные соединения определены методом HPLC с использованием селективного флуорометрического проявления. На основе метода стандартной добавки было идентифицировано 10 хроматографических пиков (фенантрен, антрацен, флуорантен, пирен, бензо[*a*]антрацен + хризен, дибензо[*a,i*]антрацен, бензо[*e*]пирен, бензо[*a*]пирен, дибензо[*a,i*]флуорантен и коронен), отвечающих их общему количеству $28,65 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$.