

На правах рукописи



Толмачева Наталия Геннадьевна

**Новый подход к использованию микроэмульсий для извлечения и
концентрирования органических гидрофобных соединений с последующим
хроматографическим определением**

02.00.02. – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва 2017

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» МГУ имени М.В.Ломоносова).

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Пирогов Андрей Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, в.н.с.
Федотов Петр Сергеевич
Институт геохимии и аналитической
химии им. В.И. Вернадского РАН

доктор химических наук, доцент
Яшкин Сергей Николаевич
ФГБОУ ВПО «Самарский
государственный технический
университет»

Ведущая организация:

**ФГБОУ ВПО Национальный
исследовательский Саратовский
государственный университет имени
Н.Г. Чернышевского**

Защита состоится «7» июня 2017 года в 16 ч 30 мин в ауд. 446 на заседании диссертационного совета Д 501.001.88. по химическим наукам при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 3, Химический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Химического факультета МГУ и на сайте химического факультета <http://www.chem.msu.ru>. Текст автореферата размещен на сайте ВАК России <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2017 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 501.001.88,
кандидат химических наук

О.В. Моногорова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Поиск новых способов экстракции и концентрирования целевых компонентов является актуальной задачей. Существующие на сегодняшний день способы экстракции не всегда способны количественно извлекать определяемые соединения из объектов со сложной матрицей, и часто включают в себя несколько долгих стадий пробоподготовки, что приводит к значительному увеличению общего времени анализа и погрешности определения. В последние годы в аналитической химии широко используют организованные среды или микроэмульсии. Такие системы обладают рядом уникальных свойств. Микроэмульсии обладают большой солюбилизующей емкостью и способны одновременно растворять как гидрофильные, так и гидрофобные соединения. Это позволяет применять их для солюбилизации и удаления различных видов загрязнений, в медицине и косметологии, в химическом анализе для извлечения различных по природе соединений из объектов со сложной матрицей. Варьируя состав микроэмульсий можно изменять свойства организованных сред, тем самым влияя на селективность и чувствительность химического анализа. Под действием внешних факторов (температура, добавки ионов металлов, изменения состава) микроэмульсии могут терять термодинамическую стабильность и расслаиваться на две несмешивающиеся фазы: водную и органическую, причем гидрофобные соединения будут переходить в органическую фазу, а гидрофильные – в водную. Микроэмульсии менее токсичные и более дешевые по сравнению с другими растворителями, что является еще одним из преимуществ таких систем. В литературе встречаются работы по использованию МЭ в пробоподготовке при определении металлов, биологически-активных соединений, но их очень мало. В силу этого, представляется актуальным разработать способы извлечения и одновременного концентрирования органических гидрофобных соединений из сложных смесей и объектов со сложной матрицей с последующим хроматографическим анализом. Такой подход позволит значительно упростить процесс пробоподготовки, уменьшив общее время анализа и увеличив его чувствительность. Еще одной актуальной задачей, которая ранее не была представлена в литературе, является использование микроэмульсионной пробоподготовки с последующим газохроматографическим анализом с масс-спектрометрическим детектированием, что может значительно повысить селективность разделения и чувствительность определения целевых компонентов.

Цель работы состояла в разработке подхода к использованию микроэмульсии в качестве экстрагентов для различных соединений из объектов со сложной матрицей с последующим расслоением микроэмульсии и концентрированием гидрофобных соединений в одной из образовавшихся фаз. Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих задач:

- Выявление преимуществ использования микроэмульсий в качестве экстрагентов при извлечении органических гидрофобных соединений из объектов со сложной матрицей;
- Изучение влияния состава микроэмульсии на степень распределения органических гидрофобных соединений между двумя фазами: водной и «маслом», образующимися после разрушения микроэмульсии;
- Применение микроэмульсий для извлечения и одновременного концентрирования различных по природе соединений из почвы на примере полициклических ароматических углеводородов и диалкилфталатов;

- Изучение возможности использования микроэмульсионной пробоподготовки с последующим масс-спектрометрическим детектированием.

Научная новизна. Предложен новый подход к извлечению и одновременному концентрированию гидрофобных органических соединений, состоящий в применении микроэмульсий на основе ДДСН в качестве экстрагентов для извлечения гидрофобных соединений с последующим их расслаиванием с помощью сухих солей кальция и образованием двух несмешивающихся фаз (органической и водной), концентрированием целевых компонентов за счет уменьшения общего объема фазы с последующим хроматографическим определением целевых компонентов.

На примере полициклических ароматических углеводородов показано, что в этом случае достигается высокая степень извлечения, увеличение чувствительности метода, упрощение пробоподготовки и сокращение общего времени анализа.

Установлено, что после разрушения микроэмульсий на основе додецилсульфата натрия с помощью солей кальция остаточная концентрация поверхностно-активного вещества в органической фазе остается ниже 0,025 мг/л. Это позволяет комбинировать микроэмульсионную пробоподготовку с дальнейшим анализом органической фазы методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, что показано на примере определения диалкилфталатов в почве.

Изучены закономерности извлечения и концентрирования гидрофобных органических соединений с использованием микроэмульсий, а также условия осаждения ДДСН из микроэмульсий с помощью сухого хлорида кальция.

На примере определения диалкилфталатов в воде показана возможность применения микроэмульсий для извлечения и одновременного концентрирования соединений из водных объектов.

Практическая значимость. Продемонстрировано значительное упрощение процедуры извлечения и концентрирования целевых компонентов из объектов со сложной матрицей. Время подготовки сокращается в 4,5 раза (с 90 до 20 минут) при количественном извлечении веществ.

Разработан высокочувствительный и селективный метод определения десяти полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в различных типах почв с использованием микроэмульсии в качестве экстрагентов с последующим расслоением микроэмульсии и концентрирование ПАУ масляной фазе с последующим ВЭЖХ анализом и флуориметрическим детектированием. Степень извлечения выше 90% для всех исследуемых соединений, а полученные пределы обнаружения в 5 – 20 раз ниже пределов обнаружения аттестованных методик.

Продемонстрирована возможность использования микроэмульсий в пробоподготовке для извлечения диалкилфталатов (ДАФ) из почвы и их концентрирования в масляной фазе с последующим высокочувствительным газохроматографическим анализом с масс-спектрометрическим детектированием.

Разработан высокочувствительный метод определения ДАФ в воде с использованием микроэмульсии в качестве экстрагентов с последующим расслоением микроэмульсии и концентрирование ДАФ в масляной фазе с последующим ВЭЖХ анализом и спектрофотометрическим детектированием.

На защиту выносятся следующие положения:

- Влияние состава микроэмульсии и условий проведения эксперимента (температура, время) на коэффициент концентрирования соединений в масляной фазе после расслаивания МЭ.

- Условия полного осаждения ДДСН при расслаивании микроэмульсии на основе ДДСН с помощью солей кальция.
- Влияние природы вещества (гидрофобность) на степень его распределения между двумя фазами.
- Условия извлечения и концентрирования бенз(а)пирена из почвы с последующим ВЭЖХ анализом.
- Условия высокочувствительного, экспрессного и селективного определения 10 ПАУ в почве с использованием микроэмульсий в качестве экстрагентов.
- Определение диалкилфталатов в почве методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим методом анализа с использованием микроэмульсий в пробоподготовке.
- Условия извлечения и концентрирования ДАФ из воды с последующим ВЭЖХ анализом.

Апробация работы. Основное содержание работы изложено в 8 публикациях. Результаты исследования докладывались на Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2013), "Теория и практика хроматографии" (Самара, 2015), 30th International symposium on chromatography "Communicating separation science for the future" (Зальцбург, Австрия, 2014), «Роль separation science в развитии прорывных направлений современной науки (нано- и биохимия)» (Адлер, 2016).

Публикации. Основное содержание работы изложено в 7 работах: 3 статьи и 4 тезиса докладов.

Личный вклад автора. Личный вклад автора заключается в постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов непосредственно автором, обработке, анализе и обобщении полученных результатов, написании статей, подготовке докладов и выступлениях на конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 3 глав обсуждения результатов, общих выводов и списка цитируемой литературы. Материал изложен на 113 страницах машинописного текста, содержит 28 рисунков, 32 таблиц, в списке цитируемой литературы 158 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель исследования и поставленные задачи, показана научная новизна работы и ее практическая значимость.

Обзор литературы

В первой главе систематизированы сведения о строении и свойствах микроэмульсий и мицеллярных растворов. Рассмотрено их применение в пробоподготовке для извлечения биологически-активных и других органических соединений и металлов из различных объектов.

В разделе «Полициклические ароматические углеводороды и их хроматографическое определение» рассмотрены примеры определения ПАУ с

помощью различных методов анализа, а также применение мицеллярных растворов и микроэмульсий для их солубилизации и извлечения из объектов окружающей среды.

В разделе «Диалкилфталаты: свойства и способы хроматографического определения» представлены наиболее распространенные методы определения ДАФ в объектах окружающей среды и рассмотрены примеры использования мицеллярных растворов и МЭ для их определения. Сделанные на основании обзора литературы выводы подтверждают актуальность выбранной темы исследования.

Аппаратура, материалы и техника эксперимента

Эксперименты проводили на хроматографических системах Agilent 1200, снабженных бинарным градиентным насосом, онлайн дегазатором подвижной фазы, автоматическим устройством ввода пробы, термостатом колонок, диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, США). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения Chemstation (Agilent Technologies, США); Agilent 1100, оснащенного бинарным градиентным насосом, он-лайн дегазатором подвижной фазы, термостатом колонок, диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, США). Для сбора и обработки данных использовали программно-аппаратный комплекс «Chemstation» версии A.10.02.; газовый хроматограф Agilent 7890В, снабженный автоматическим устройством ввода пробы Agilent Autosampler 7693, масс-спектрометром Agilent 5977А MSD (Agilent Technologies, США). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения MassHunter (Agilent Technologies, США), спектрофотометре UVmini-1240 (Shimadzu, Япония). Для регистрации спектров поглощения исследуемых соединений использовали спектрофотометр УФ–видимого диапазона Cary 60 (Agilent Technologies, США). В работе использовали следующие хроматографические колонки: Synergi 4u Hydro-RP 80А (250 × 4,6 мм, размер частиц – 4 мкм) (Phenomenex, США), Eclipse XDB-C18 (150 × 4,6 мм, размер частиц - 5 мкм) (Agilent Technologies, США), Luna C18 (2) (150 × 4,6 мм, размер частиц – 5 мкм) (Phenomenex, США), а также универсальную предколонку для ВЭЖХ Security Guard C18 (Phenomenex, США), HP-5MS (30м × 250 мкм × 0,25 мкм) (Agilent Technologies, США).

Общий подход к использованию микроэмульсий для концентрирования гидрофобных соединений (на примере Судана III)

МЭ обладают повышенной солубилизирующей емкостью и способны одновременно растворять разные по природе соединения (гидрофильные и гидрофобные). Причем, если использовать МЭ типа «масло – в – воде», то гидрофобные соединения перейдут в масляную каплю, а гидрофильные – в водную фазу (рис. 1 А). Если каким-либо образом разрушить МЭ, то образуются две несмешивающиеся фазы, причем соединения, находившиеся в них будут сконцентрированы за счет уменьшения объема каждой из фаз (рис. 1 Б).

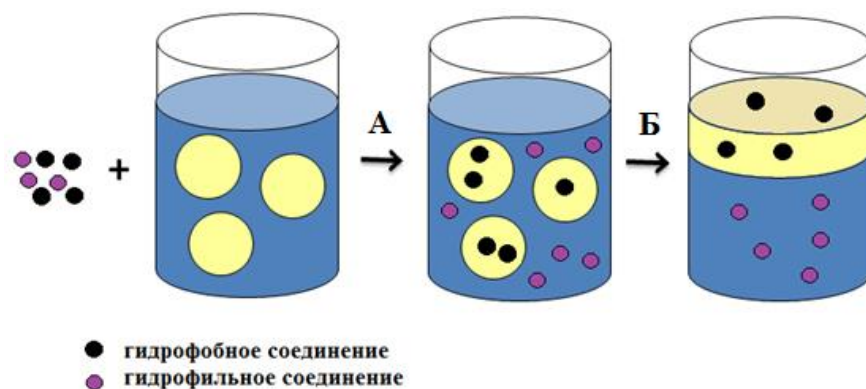
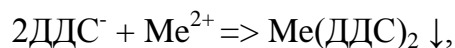


Рис. 1. Иллюстрация применения МЭ для извлечения и последующего концентрирования целевых веществ. А – солюбилизация гидрофобных соединений в микроэмульсионной капле, а гидрофильных в водной фазе. Б – образование двух несмешивающихся фаз после разрушения МЭ и концентрирование целевых компонентов за счет уменьшения объема каждой из фаз.

При добавлении солей двухвалентных металлов (кальция, магния, стронция, бария) к МЭ на основе ДДСН наблюдается расслоение системы с образованием двух несмешивающихся фаз. В основу этого процесса положено стехиометрическое уравнение:



где Me – ион двухвалентного металла

При использовании солей бария и магния образуется рыхлый белый творожистый осадок, который плохо отделяется центрифугированием и затрудняет отбор органической фазы. Поэтому для этой цели был выбран хлорид кальция. При этом образующийся на границе раздела двух фаз осадок додецилсульфата кальция ($\text{Ca}(\text{ДДС})_2$) не мешает отбору органической фазы и дальнейшему хроматографическому анализу.

Было определено количество ионов кальция, необходимое для расслаивания микроэмульсии и максимального осаждения ДДСН. Для этого к растворам МЭ составов ДДСН / *n*-гексан / *n*-бутанол / вода (3, 0,8, 8, 88,2 % по мас.) и ДДСН / *n*-гексан / *изо*-пентанол / вода (3, 0,8, 6, 90,2 % по мас.) добавляли различное количество твердого хлорида кальция так, чтобы конечные концентрации ионов кальция в микроэмульсии были 0,05 мМ, 0,07 мМ, 0,14 мМ, 0,35 мМ и 0,7 мМ (рис. 2).

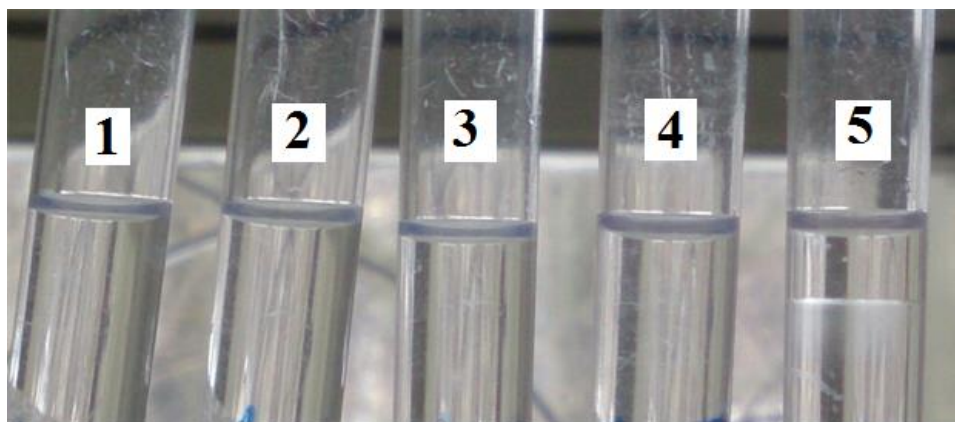


Рис. 2. Микроэмульсия состава ДДСН / *n*-гексан / *изо*-пентанол / вода (3, 0,8, 6, 90,2 % по мас.) после добавления различной концентрации хлорида кальция: 1 - 0,05 мМ, 2 – 0,07 мМ, 3 – 0,14 мМ, 4 – 0,35 мМ, 5 – 0,7 мМ.

Найдено, что только при концентрации хлорида кальция 0,7 мМ в микроэмульсии (десятикратный избыток по отношению к присутствующему в системе ДДСН) начинается ее расслаивание и образование двух несмешивающихся фаз. По литературным данным, присутствие полярных органических соединений (в данном случае - алифатические спирты *n*-бутанол и *изо*-пентанол), солюбилизированных в мицелле ДДСН, обеспечивает сильную защиту от осаждения ДДСН в присутствии хлорида кальция.

Расслаивание проводили путем добавления избытка сухого хлорида кальция, потому что при добавлении избытка водного раствора этой же соли осаждения солей ДДСН и расслаивания микроэмульсии на две несмешивающиеся фазы не происходило. Возможно, это можно объяснить образованием участков пересыщения, которые выступают в роли зародышей на которых происходит дальнейший рост осадка $\text{Ca}(\text{ДДС})_2$.

Для проверки применимости предложенного подхода использовали краситель красный Судан III, как пример сильно гидрофобного соединения ($\log P$ 7,5). Из рис. 3 видно, что при приготовлении раствора Судана III в МЭ, он равномерно распределяется по всей системе, а после расслоения МЭ в силу своей гидрофобности полностью переходит в органическую фазу.

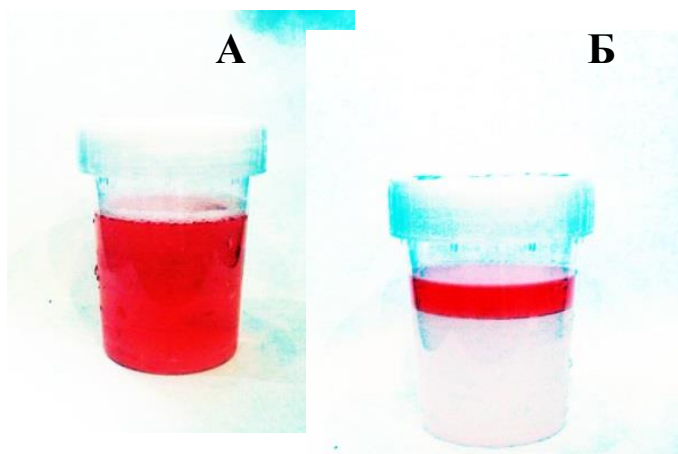


Рис. 3. Микроэмульсия с Суданом III до расслоения (А) и после расслоения (Б).

В работе было изучено влияние различных факторов (концентрация хлорида кальция, концентрация соПАВ, ионная сила, рН) на коэффициент концентрирования Судана III в органической фазе после расслаивания МЭ. Контроль за содержанием красителя в органической

фазе осуществляли спектрофотометрическим методом (максимум поглощения для Судана III регистрировали при длине волны $\lambda=580$ нм). Калибровочная зависимость для определения Судана III носила линейный характер ($R=0,9999$) в диапазоне концентраций 0,5 – 50 мкг/мл.

Для проверки применимости предложенного подхода использовали МЭ состава ДДСН / *n*-гептан (3 / 0,8 % по мас.) и различного количества *n*-бутанола, используемого в качестве соПАВ. Расслаивали такие МЭ путем добавления различного количества хлорида кальция.

Для определения необходимого количества ионов кальция, достаточного для расслаивания микроэмульсии и максимального концентрирования Судана III в органической фазе, к раствору Судана III концентрацией 10 мкг/мл в МЭ состава 3% ДДСН, 0,8% *n*-гептана, 6% *n*-бутанола добавляли различное содержание сухого хлорида кальция так, чтобы конечные концентрации ионов кальция в МЭ составили: 0,07 мМ, 0,14 мМ, 0,35 мМ, 0,7 мМ и 1,4 мМ.

В первых трех растворах с наименьшей концентрацией ионов кальция расслаивание микроэмульсии не наблюдали, и система оставалась стабильной. В других растворах с большей концентрацией ионов кальция наблюдали расслаивание МЭ на две фазы. В этих случаях отбирали масляную фазу и определяли в ней

концентрацию Судана III спектрофотометрическим методом. В табл. 1 представлена зависимость коэффициента концентрирования Судана III в масляной фазе от концентрации ионов кальция.

Таблица 1. Зависимость коэффициента концентрирования Судана III в масляной фазе от концентрации ионов кальция ($n=3$, $P=0,95$).

Соотношение количества ДДСН к добавленным ионам кальция	Концентрация ионов кальция в растворе, мМ	Коэффициент концентрирования
1:1	0,07	Расслоение не наблюдали
1:2	0,14	Расслоение не наблюдали
1:5	0,35	Расслоение не наблюдали
1:10	0,7	$9,8 \pm 0,5$
1:20	1,4	$7,8 \pm 0,2$

Наибольшее концентрирование достигается при концентрации ионов кальция 0,7 мМ в МЭ (при соотношении 1:10). При дальнейшем увеличении концентрации ионов кальция коэффициент концентрирования Судана III в органической фазе уменьшается. Возможно это связано с высаливающим эффектом ионов кальция или увеличенной растворимостью додецилсульфата кальция, который при большой концентрации выступал в роли мицеллообразующего ПАВ. Поэтому в дальнейшем МЭ расслаивали путем добавления десятикратного избытка хлорида кальция по отношению к присутствующему в системе ДДСН.

Коэффициент концентрирования Судана III рассчитывали как отношение концентрации красителя, полученного в органическом слое после расслаивания МЭ, к концентрации Судана III в МЭ без расслаивания.

Для определения концентрации *n*-бутанола, используемого в качестве соПАВ, при которой коэффициент концентрирования Судана III максимальна, готовили МЭ, содержащие 3% ДДСН, 0,8% *n*-гептана, с различной концентрацией *n*-бутанола: 4%, 5%, 6%, 7%, 8% и 10%. В табл. 2 приведена зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от концентрации *n*-бутанола в МЭ.

Таблица 2. Зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от концентрации *n*-бутанола в МЭ ($n=3$, $P=0,95$).

Содержание <i>n</i> -бутанола, % по мас.	Коэффициент концентрирования
4	$1,7 \pm 0,1$
5	$4,1 \pm 0,2$
6	$11,4 \pm 0,6$
7	$7,4 \pm 0,4$
8	$2,5 \pm 0,1$
10	$2,2 \pm 0,1$

Наибольший коэффициент концентрирования наблюдали при содержании *n*-бутанола 6% по мас. При других концентрациях соПАВ коэффициент концентрирования намного ниже, возможно это связано с тем, что концентрация соПАВ влияет на осаждение ДДСН ионами кальция и *n*-бутанол вступает в конкурирующую реакцию образования ассоциатов *n*-бутанол – ДДСН с образованием

осадка додецилсульфата кальция. К тому же, увеличение концентрации соПАВ приводит к повышению его содержания в водной фазе, что влияет на коэффициент концентрирования целевых компонентов в органической фазе.

Для определения зависимости коэффициента концентрирования Судана III от ионной силы, готовили растворы Судана III концентрацией 10 мкг/мл в МЭ состава 3% ДДСН, 0,8% *n*-гептана и 6% *n*-бутанола и добавляли различное количество хлорида натрия, так, чтобы ионная сила растворов составила соответственно $3,5 \cdot 10^{-2}$, $17,5 \cdot 10^{-2}$, $35 \cdot 10^{-2}$, $175 \cdot 10^{-2}$ М. В табл. 3 приведена зависимость коэффициента концентрирования Судана III от ионной силы.

Таблица 3. Зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от ионной силы ($n=3$, $P=0,95$).

Ионная сила, $10^{-2} \cdot \text{М}$	Коэффициент концентрирования
3,5	$3,0 \pm 0,2$
17,5	$3,0 \pm 0,2$
35	$3,4 \pm 0,2$
175	$4,5 \pm 0,2$

Коэффициент концентрирования Судана III в масляной фазе линейно увеличивается при увеличении ионной силы, однако ее влияние относительно невелико.

Для выявления коэффициента концентрирования Судана III от pH готовили МЭ состава 3% ДДСН, 0,8% *n*-гептана и 6% *n*-бутанола с различным значением pH: 9,5; 6,63; 5,56; 3,63; 3,10 (различные значения pH получали добавлением к МЭ *o*-фосфорной кислоты). На рис. 4 представлена зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от значения pH микроэмульсии.

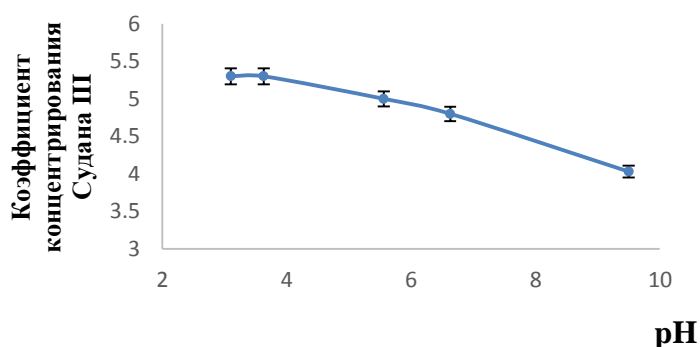


Рис. 4. Зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от pH микроэмульсии ($n=3$, $P=0,95$).

Коэффициент концентрирования красителя красного Судана III в масляной фазе линейно уменьшается при увеличении pH, однако незначительные изменения pH оказывают небольшое влияние на коэффициент концентрирования Судана III.

Судана III.

Показано, что на коэффициент концентрирования гидрофобных соединений в органической фазе влияет ряд факторов: концентрация хлорида кальция, необходимого для расслоения МЭ, состав МЭ (содержание соПАВ, ионная сила, pH).

Таким образом, выбраны условия, при которых наблюдается максимальная коэффициент концентрирования красителя красного Судана III в органической фазе: содержание *n*-бутанола 6% по мас., добавление десятикратного избытка ионов кальция по отношению к присутствующему в системе ДДСН для осаждения ПАВ, pH и ионная сила влияют незначительно.

Микроэмульсионное извлечение и концентрирование полициклических ароматических углеводородов из почвы с последующим ВЭЖХ анализом

Определение ПАУ, в частности бенз(*a*)пирена, в объектах окружающей среды является актуальной задачей на сегодняшний день. При низком содержании ПАУ в экологических объектах для их полного извлечения и одновременного определения необходимо подобрать подходящий растворитель и способ концентрирования, так как прямой ввод образца в колонку хроматографа возможен в редких случаях. Поскольку извлечение органическими растворителями - процесс длительный и не всегда протекает количественно, было предложено использовать МЭ для извлечения и одновременного концентрирования ПАУ из почвы.

Все ПАУ благодаря наличию нескольких сопряженных углеводородных колец обладают высоким коэффициентом распределения октанол/вода ($\log P \geq 3,4$). Предполагается, что из-за высокой гидрофобности после расслаивания МЭ они все перейдут в органическую фазу и будут концентрироваться в ней.

Определение бенз(*a*)пирена в почве

На примере определения бенз(*a*)пирена в почве, как одного из наиболее распространенных и канцерогенных ПАВ, был подобран состав МЭ, при котором наблюдался максимальный коэффициент концентрирования. Для определения малых количеств бенз(*a*)пирена был выбран метод ОФ-ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Калибровочная зависимость для определения бенз(*a*)пирена носила линейный характер ($R=1$) в диапазоне концентраций 0,001 – 0,5 мкг/мл.

Для выбора условий максимального концентрирования бенз(*a*)пирена в органической фазе варьировали состав МЭ (тип масла, тип соПАВ и его концентрацию) и условия расслаивания МЭ.

Был проведен сравнительный анализ *n*-пропанола, *n*-бутанола, *n*-пентанола, *изо*-пентанола, *n*-гексанола, *n*-октанола в качестве соПАВ. Готовили модельные растворы БаП с концентрацией 0,05 мкг/мл в шести МЭ следующего состава: 3% ДДСН, 0,8% *n*-гексана и 8% соПАВ (перечислены выше). После чего добавляли десятикратный избыток сухого хлорида кальция для осаждения ДДСН и расслоения МЭ и выдерживали полученную смесь в ультразвуковой ванне в течение 10 мин, затем отбирали органическую фазу и определяли БаП методом ОФ-ВЭЖХ-ФЛД. Для каждой МЭ было проведено по три параллельных опыта. На рис. 5 А представлено сравнение коэффициента концентрирования БаП в органической фазе после расслаивания МЭ с различными соПАВ с раствором БаП в МЭ ($c = 0,05$ мкг/мл) без расслоения.

Микроэмульсии, в которых использовали *n*-пропанол, *n*-гексанол и *n*-октанол в качестве соПАВ, оказались неустойчивыми, поэтому в дальнейшей работе их не применяли. Наибольшее концентрирование наблюдали при использовании *изо*-пентанола. Коэффициент концентрирования при этом составил 7,2 по сравнению с раствором БаП в МЭ без осаждения. При использовании *n*-бутанола и *n*-пентанола коэффициент концентрирования меньше и составил 4,5 и 4,1 соответственно. Возможно это связано с тем, что за счет неразветвленного углеводородного радикала *n*-бутанол и *n*-пентанол в большей степени образуют ассоциаты спирт – ДДСН, тем самым препятствуя его полному осаждению, расслаиванию фаз и лучшему концентрированию.

Исследована зависимость коэффициента концентрирования БаП от концентрации соПАВ в МЭ. Готовили стандартные растворы БаП концентрацией 0,05

мкг/мл в МЭ состава, ДДСН / *n*-гексан / (3; 0,8 % по масс) с варьируемыми массовыми долями *изо*-пентанола (2, 4, 6, 8 % по масс.). На рис. 5 Б представлена зависимость коэффициента концентрирования БаП в органическом слое после расслоения МЭ от концентрации соПАВ. При концентрации *изо*-пентанола 6% коэффициент концентрирования БаП в органической фазе максимален. Это хорошо коррелирует с результатами, полученными в главе 3 при определении зависимости коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от состава МЭ.

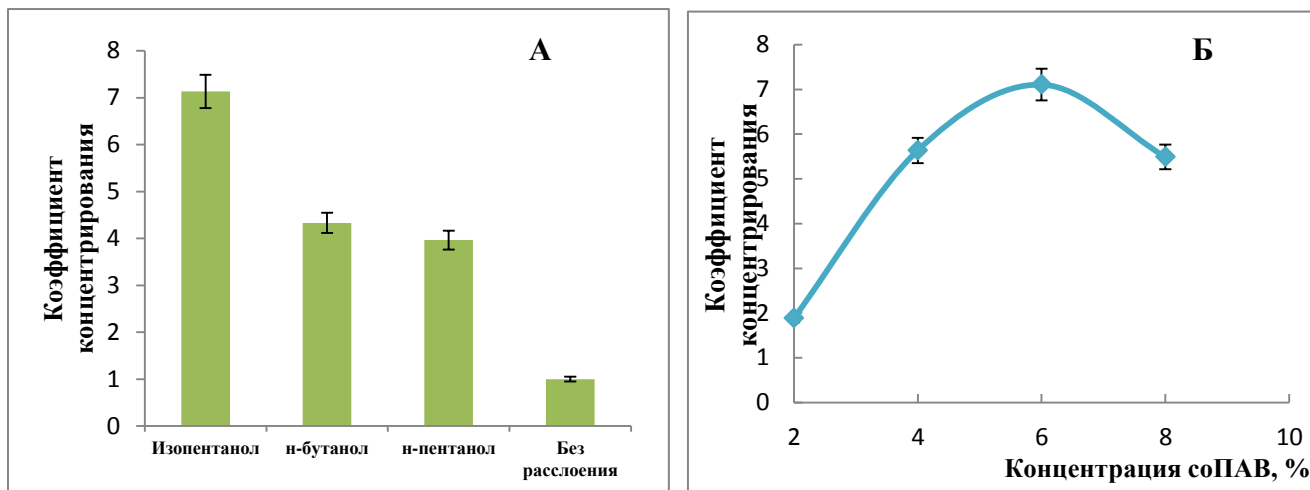


Рис. 5. Зависимость коэффициента концентрирования БаП от: А – природы соПАВ, Б – от концентрации соПАВ (*изо*-пентанола) ($n=3$, $P=0,95$).

Проведено сравнение коэффициента концентрирования БаП в органической фазе после расслаивания МЭ при использовании различных типов масел: *n*-гексана, *n*-гептана, бензола, толуола, дихлорэтана и циклогексана. Готовили модельные растворы БаП концентрацией 0,05 мкг/мл в пяти МЭ состава: ДДСН / масла (перечислены выше) / *изо*-пентанол (3, 0,8, 6 % по мас.). На рис. 6. представлены диаграммы распределения аналитов для различных типов масла.

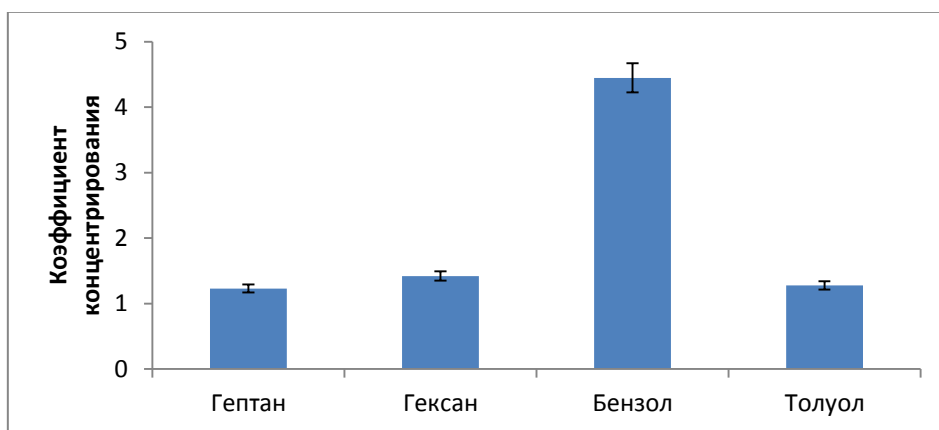


Рис. 6. Диаграммы распределения БаП для различных типов «масла» ($n=3$, $P=0,95$).

Из результатов видно, что при использовании бензола в качестве масла коэффициент концентрирования БаП в органической фазе максимален и достигает 4,4. При использовании *n*-гептана, *n*-гексана и толуола в качестве масел коэффициент концентрирования гораздо меньше и достигает всего 1,2 – 1,4. Как видно из рис. 6 коэффициент концентрирования при использовании бензола в 3,1 – 3,7 раз больше, возможно это связано с тем, что между молекулами ПАУ и бензола образуются π - π

связи, за счет которых увеличивается переход ПАУ в микроэмульсионную каплю. При использовании толуола концентрирование в 4 раз меньше по сравнению с бензолом, это можно объяснить примерно четырехкратной разницей в растворимости этих «масел» в воде. При использовании циклогексана и дихлорметана в качестве масла – БаП совсем не концентрировался в органической фазе. Поэтому в дальнейшей работе в качестве органической фазы использовали бензол.

Построена зависимость коэффициента концентрирования от времени перемешивания МЭ на ультразвуковой бане. Приготовили стандартные растворы БаП концентрацией 0,05 мкг/мл в пяти МЭ состава: ДДСН / бензол / *изо*-пентанол (3; 0,8; 6 % по мас.). Добавляли избыток хлорида кальция для осаждения ДДСН и расслоения МЭ и выдерживали полученные смеси на ультразвуковой бане в течение разных промежутков времени от 0 до 30 минуты с шагом в 5 минут. Зависимости коэффициента концентрирования от времени расслаивания приведены ниже на рис. 7 А.

Наибольший коэффициент концентрирования наблюдали при расслаивании МЭ в течение 10 минут, дальнейшее перемешивание в ультразвуковой ванне приводит к снижению коэффициента концентрирования. Возможно, это связано с тем, что БаП начинает мигрировать из объема органической фазы к границе раздела двух фаз и/или сорбироваться на образовавшемся осадке додецилсульфата кальция.

Для проверки зависимости коэффициента концентрирования БаП от температуры была приготовлена серия модельных растворов БаП с концентрацией 0,05 мкг/мл в МЭ состава: ДДСН / бензол / *изо*-пентанол (3; 0,8; 6 % по мас.). Пробирки на 2 мл с МЭ помещали в термостат на 15 минут и выдерживали при разных температурах: 30, 40, 50 и 60 °С. На рис. 7 Б представлена зависимость коэффициента концентрирования БаП в органической фазе от температуры.

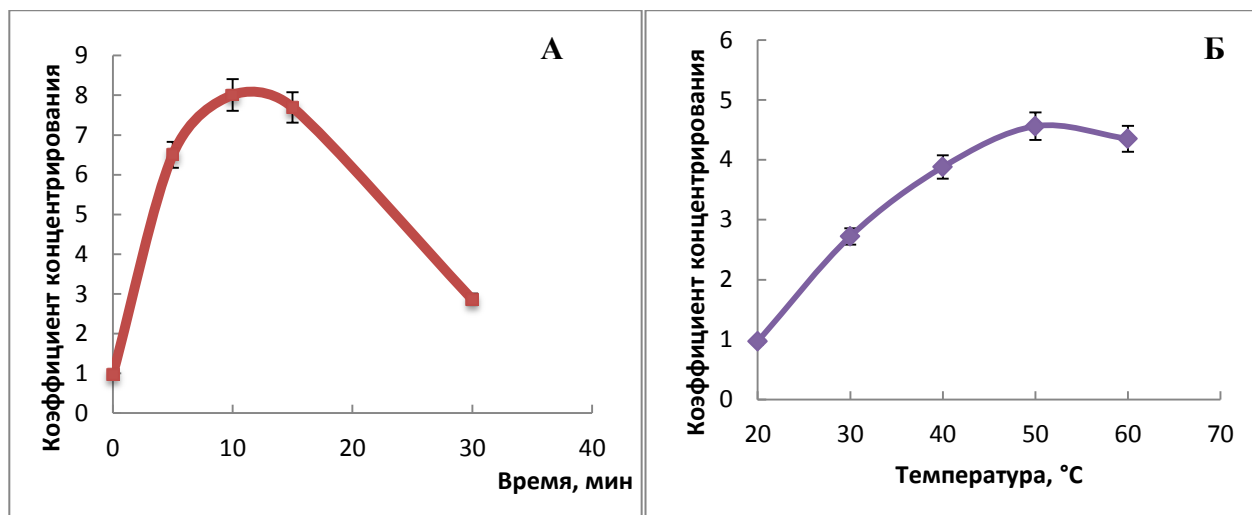


Рис. 7. Зависимость коэффициента концентрирования БаП в органической фазе от: А - времени расслаивания МЭ, Б - от температуры ($n=3$, $P=0,95$).

Видно, что при повышении температуры коэффициент концентрирования растет и достигает максимума при температурах около 50 °С. При дальнейшем увеличении температуры до 60 °С она меняется не значимо.

Таким образом, на основании полученных зависимостей выбраны следующие условия при которых достигается максимальный коэффициент концентрирования БаП в органической фазе при расщеплении МЭ путем добавления к ней ионов кальция:

- соПАВ - *изо*-пентанол
- «масла» - бензол.
- Концентрация соПАВ – 6%.
- Время расщепления МЭ 10 минут.
- Температура 50°C.

В качестве примера анализа реального объекта выбран образец почвы, отобранный вблизи газового месторождения «Каменномысское-море», расположенного в акватории Обской губы между мысами Каменный и Парусный. На рис. 8 представлена хроматограмма, полученная при извлечении БаП с помощью МЭ состава: ДДСН / бензол / *изо*-пентанол (3; 0,8; 6 % по мас).

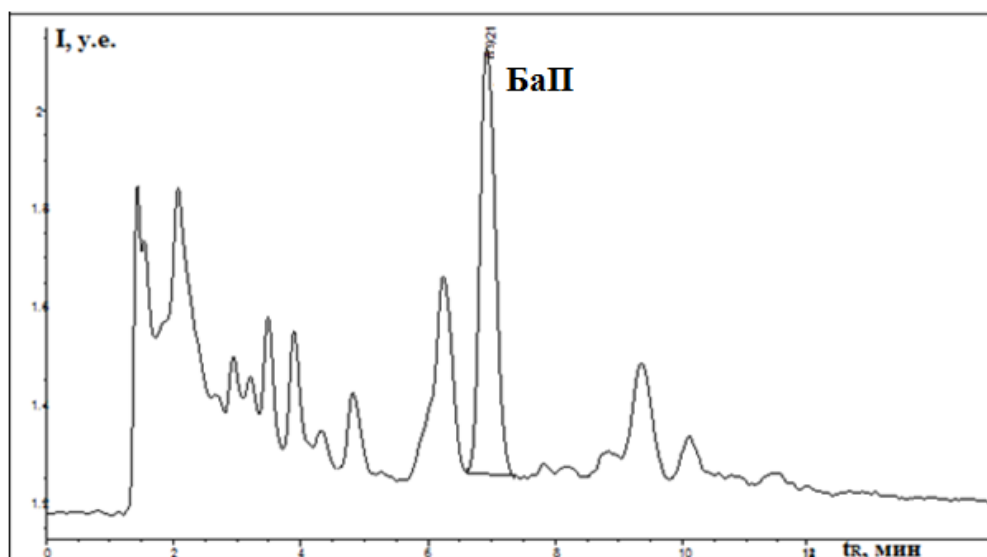


Рис. 8. Хроматограмма образца почвы. Условия хроматографического анализа представлены в табл.15. Извлечение проводили с помощью МЭ состава ДДСН / бензол / *изо*-пентанол (3; 0,8; 6 % по мас). Найденная концентрация БаП в объекте $1,4 \pm 0,1$ мкг/кг.

Характеристики хроматографического определения бенз(*a*)пирена приведены в табл. 4.

Таблица 4. Характеристики хроматографического разделения бенз(*a*)пирена.

Тип масла	Найдено БаП мкг / кг	R_s с ближайшим пиком	N , ТТ/м	α
Бензол	1,4	2,4	13100	1,1

Определение 10 приоритетных ПАУ в почве

Определение десяти приоритетных ПАУ (нафталин, аценафтилен, флуорен, флуорантен, пирен, бензантрацен, хризен, бенз(*b*)флуорантен, бенз(*k*)флуорантен, бенз(*a*)пирен) проводили методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием.

Параметры флуориметрического градиентного детектирования представлены в табл. 5. Калибровочные зависимости для всех ПАУ носили линейный характер в диапазоне концентраций 0,001 – 0,5 мкг/мл.

Таблица 5. Параметры флуориметрического детектирования ПАУ.

ПАУ	Время удерживания, мин	Время переключения, мин	$\lambda_{\text{возбуждения, НМ}}$	$\lambda_{\text{испускания, НМ}}$
Нафталин	15,6	0 – 17,5	280	355
Аценафтилен	16,8		280	355
Флуорен	17,0		280	355
Флуорантен	18,1	17,5 – 19,4	250	420
Пирен	18,4		250	420
Бензантрацен	18,9		250	420
Хризен	19,8	19,4 – 20,0	270	390
Бенз(<i>b</i>)флуорантен	20,2	20,0 – 21,0	290	410
Бенз(<i>k</i>)флуорантен	20,3		290	410
Бенз(<i>a</i>)пирен	21,4	21,0 – 25,0	365	412

После микроэмульсионной экстракции и расслоения МЭ полученные пределы обнаружения (0,1 – 0,7 мкг/кг) существенно ниже пределов допустимых концентраций (ПДК), установленных Агентствами по охране окружающей среды Канады и Голландии и для некоторых ПАУ и ниже ПДК, установленного для бенз(*a*)пирена в почве в России.

Определены степени извлечения десяти приоритетных ПАУ с использованием МЭ состава ДДСН / бензол / *изо*-пентанол / вода (3; 0,8; 6; 90,2 % по мас.) в качестве экстрагента из разных типов почв.

Было выбрано три типа почв: песок, глина и верховой торф. Методом “введено-найденно” определили степень извлечения 10 ПАУ из этих почв с добавками 100 мкг/кг и 20 мкг/кг каждого ПАУ с использованием МЭ в качестве экстрагента. К точной навеске почвы (2 г) добавляли 30 мл МЭ и перемешивали на ультразвуковой ванне в течение 30 мин. Результаты представлены в табл. 6. При получении результатов было учтено содержание ПАУ в “холостой” пробе.

Таблица 6. Степень извлечения 10 ПАУ из различных типов почв: песка, глины и верхового торфа, с использованием МЭ ($n=3$, $P=0,95$).

Соединение	Введено (добавка), мкг/кг	Степень извлечения, %		
		Песок	Глина	Верховой торф
Нафталин	100	100 ± 5	106 ± 5	110 ± 7
	20	105 ± 5	98 ± 5	92 ± 6
Аценафтилен	100	102 ± 5	92 ± 6	103 ± 5
	20	107 ± 6	102 ± 5	98 ± 4
Флуорен	100	103 ± 5	92 ± 4	92 ± 5
	20	108 ± 5	97 ± 4	91 ± 5
Флуорантен	100	105 ± 6	92 ± 6	95 ± 5
	20	103 ± 5	99 ± 5	99 ± 4

Соединение	Введено (добавка), мкг/кг	Степень извлечения, %		
		Песок	Глина	Верховой торф
Пирен	100	105 ± 5	100 ± 5	92 ± 5
	20	102 ± 5	102 ± 5	93 ± 4
Бензантрацен	100	95 ± 4	91 ± 5	92 ± 5
	20	103 ± 5	93 ± 6	96 ± 5
Хризен	100	99 ± 4	103 ± 5	97 ± 5
	20	104 ± 5	100 ± 5	92 ± 6
Бенз(<i>b</i>)флуорантен	100	96 ± 5	100 ± 5	96 ± 5
	20	96 ± 5	95 ± 4	97 ± 5
Бенз(<i>k</i>)флуорантен	100	95 ± 5	96 ± 5	101 ± 5
	20	94 ± 4	94 ± 5	91 ± 5
Бенз(<i>a</i>)пирен	100	102 ± 5	93 ± 5	94 ± 5
	20	92 ± 5	99 ± 6	92 ± 5

Показано, что микроэмульсия такого состава является хорошим экстрагентом при извлечении 10 рассматриваемых ПАУ из различных типов почв. Степень извлечения всех ПАУ находится в диапазоне 90 – 105 % и слабо зависит от типа почв.

На рис. 9 представлены хроматограммы модельных смесей десяти ПАУ в МЭ без расслаивания и в органическом слое, образовавшемся после расслаивания.

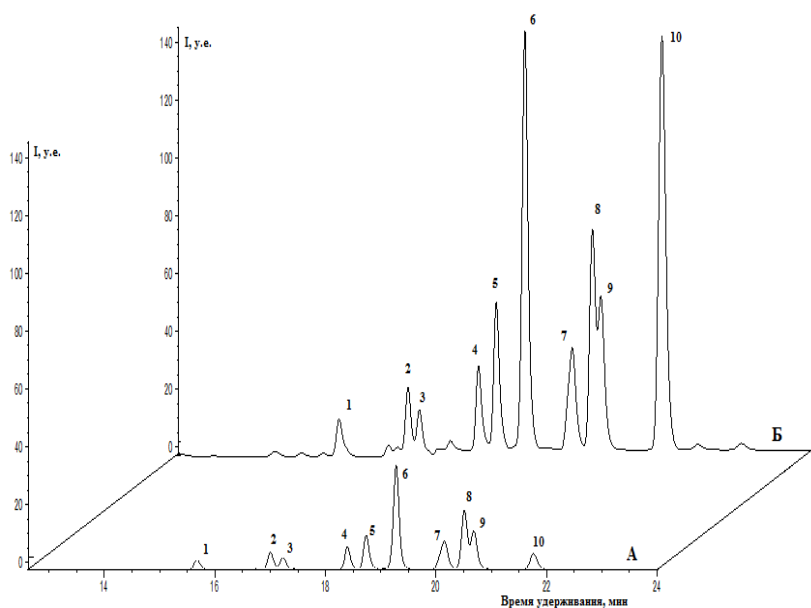


Рис. 9. Хроматограммы модельных смесей 10 ПАУ в МЭ без расслаивания (А) и в органическом слое, образовавшемся после расслаивания МЭ (Б), полученные методом ОФ – ВЭЖХ - ФЛД. Колонка *Luna* C18 (2) (250 мм × 4.6 мкм, 5 мкм), Элюент: А – ацетонитрил, В – вода. Градиентный режим: 0 мин – 40% А, 0 – 5 мин – 40% А, 5 – 15 мин 100% А, 15 – 20 мин – 100% А, 20 – 25 мин – 40% А, скорость потока элюента 1

мл/мин. Программируемое градиентное флуориметрическое детектирование. Объем вводимой пробы - 20 мкл. Температура колонки 30 °С. Пики: 1 – нафталин, 2 – аценафтилен 3 – флуорен, 4 – флуорантен, 5 – пирен, 6 – бензантрацен, 7 – хризен, 8 – бенз(*b*)флуорантен, 9 – бенз(*k*)флуорантен, 10 – бенз(*a*)пирен.

Коэффициент концентрирования рассчитывали как отношение площади пика, полученного при анализе органической фазы, образовавшейся после расслаивания МЭ, к площади пика, полученного без расслаивания МЭ. Видно, что коэффициенты концентрирования лежат в диапазоне 5,2 (для флуорена) – 6,5 (для нафталина) и практически не зависят от $\log P$ (в диапазонах $\log P$ 3,4 – 6,6). Полученные результаты хорошо согласуются с теоретическими данными, рассчитанными как отношение

объема МЭ до расслаивания к объему органического слоя, образовавшегося после расслаивания этой МЭ.

Для оценки правильности предложенного подхода полученные результаты сравнили с результатами двух аттестованных методик ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09 и ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.39-2003 (МУК 4.1.1274-03). В первой методике аналиты экстрагировали диэтиловым эфиром на УЗ-ванне, затем концентрировали с помощью упаривания на песчаной бане до следовых количеств растворителя и перерастворяли в ацетонитриле. Во второй методике в качестве экстрагента использовали хлористый метилен, аналиты экстрагировали на УЗ-ванне, полученный экстракт декантировали через бумажный фильтр, концентрировали с помощью упаривания и перерастворяли в ацетонитриле. Пределы обнаружения для аттестованных методик и предложенного подхода представлены в табл. 7. Результаты показали, что предложенный подход обладает в несколько раз большей чувствительностью по сравнению с рассматриваемыми аттестованными методиками для всех 10 ПАУ.

Таблица 7. Сравнения пределов обнаружения предложенного подхода с аттестованными методиками.

Соединение	$C_{\text{мин}}$, мкг/кг	$C_{\text{мин}}$, мкг/кг (ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09)	$C_{\text{мин}}$, мкг/кг (МУК 4.1.1274-03)
Нафталин	0,7	20	-
Аценафтилен	0,4	-	-
Флуорен	0,7	6	-
Флуорантен	0,4	20	-
Пирен	0,2	20	-
Бензантрацен	0,1	6	-
Хризен	0,3	3	-
Бенз(<i>b</i>)флуорантен	0,2	6	-
Бенз(<i>k</i>)флуорантен	0,2	1	-
Бенз(<i>a</i>)пирен	0,1	1	5

Для сравнения полноты извлечения ПАУ из почвы с использованием предложенного подхода и аттестованных методик использовали Государственный стандартный образец (ГСО) почвы с аттестованным значением для некоторых ПАУ (табл. 8).

Таблица 8. Сравнение полноты извлечения с использованием предложенного подхода и аттестованных методик ($n=3$, $P=0,95$).

Соединение	Концентрация ПАУ в ГСО, мг/кг	Степень извлечения с использованием предложенного подхода, %	Степень извлечения, %	
			(ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62- 09)	(МУК 4.1.1274-03)
Пирен	173 ± 11	91 ± 5	93 ± 5	60 ± 5
Бензантрацен	22 ± 2	91 ± 5	98 ± 6	89 ± 4
Бенз(<i>b</i>)флуорантен	13 ± 1	103 ± 4	103 ± 4	93 ± 5
Бенз(<i>k</i>)флуорантен	6,2 ± 0,7	101 ± 5	97 ± 4	104 ± 4
Бенз(<i>a</i>)пирен	8,6 ± 0,5	95 ± 5	101 ± 5	99 ± 5

Результаты показали, что при использовании предложенного подхода и методики ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09 достигается высокая степень извлечения для всех исследуемых ПАУ, которая находится в диапазоне 91 – 103 %. В методике МУК 4.1.1274-03 степень извлечения пирена и бензантрацена ниже.

Пробоподготовка с использованием МЭ включает несколько простых шагов: приготовление МЭ, экстракция аналитов, расслаивание микроэмульсии, отбор органической фазы и центрифугирование. Весь процесс пробоподготовки занимает 20 минут, в то время как для ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-0 пробоподготовка занимает 60 минут, а для МУК 4.1.1274-03 – 90 минут. Предложенный подход существенно сокращает время проведения анализа по сравнению с аттестованными методиками.

На примере определения БаП в почве с использованием МЭ состава ДДСН / бензол / изо-пентанол / вода (3; 0,8; 6; 90,2 % по мас.) в качестве экстрагентов с последующим анализом ОФ - ВЭЖХ - ФЛД были определены метрологические характеристики предложенного подхода.

Прецизионность предложенного подхода оценивали путем определения сходимости результатов повторением анализа на 6 пробах одним химиком в один день на одном оборудовании и определения внутрилабораторной прецизионности при анализе в одной лаборатории одной и той же пробы с полным повторением процедуры приготовления пробы и выполнения измерений другим химиком.

Сходимость оценивали путем расчета относительного стандартного отклонения (*RSD*), полученного по последовательным определениям, выполненным одним химиком в один день. Оценку внутрилабораторной прецизионности при установленном доверительном интервале определяли по *F*-критерию Фишера и *t*-критерию Стьюдента. Результаты представлены в табл. 9. Показано, что методика обладает хорошей сходимостью (*RSD* менее 5%) и внутрилабораторной прецизионностью, ввиду выполнения всех критериев приемлемости.

Таблица 9. Внутрилабораторная прецизионность определения бенз(а)пирена

№ опыта, показатель	Найдено БаП в почве, мкг/г (введено 200 мкг/г)	
	Химик 1	Химик 2
Среднее	189,3	198,5
<i>SD</i>	9,7	14,9
<i>RSD</i> , %	2,3	3,3
Расчетный критерий Фишера $F_{расч.}$	2,37	
Табличный критерий Фишера $F_{табл.}(0,95, 5, 5)$	5,05	
Расчетный критерий Стьюдента $t_{расч.}$	1,21	
Табличный критерий Стьюдента $t_{табл.}(0,95, 10)$	2,23	

Стабильность анализируемых растворов при комнатной температуре изучали при 25 °С. Анализ пробы проводили сразу после приготовления, через 30 минут, через 60 минут и далее до тех пор, пока разница с первоначальным измерением составила более 5,0%. Установлено, что раствор является стабильным в течение 48 часов.

В ходе исследования робастности методики установлено, что варьирование параметров хроматографирования: состав подвижной фазы (ацетонитрила ±5%), температура колонки (±10°С), скорость подвижной фазы (±0,2 мл/мин) не оказывает значимого влияния на количество найденного бенз(а)пирена в почве. Относительное

отклонение не превышает 10,0%. Уменьшение времени экстракции на 5 мин приводит к недостоверным результатам.

Из результатов видно, что предложенный подход определения БаП и других ПАУ в почве с использованием микроэмульсионного извлечения с последующим анализом ВЭЖХ - ФЛД характеризуется приемлемой правильностью и воспроизводимостью.

Таким образом, МЭ могут быть использованы в качестве экстрагентов 10 ПАУ из различных типов почв с последующим расслоением МЭ и концентрированием определяемых компонентов в органической фазе с последующим ВЭЖХ анализом. Предложенный подход характеризуется низкими пределами обнаружения, значительно упрощает процесс пробоподготовки, уменьшая общее время анализа, и уменьшает общее число стадий, что снижает погрешность определения.

Микроэмульсионное извлечение и концентрирование диалкилфталатов из почвы с последующим ГХ-МС анализом

Определение диалкилфталатов в почве

Для комбинирования микроэмульсионной пробоподготовки и газохроматографического метода анализа с масс-спектрометрическим детектированием необходимо убедиться в том, что в органической фазе, в которую переходят целевые гидрофобные соединения, отсутствуют соли ДДСН, которые нежелательны для анализа методом ГХ-МС, так как являются нелетучими и могут оседать на составных частях системы (инжекторе, колонке, источнике ионизации и др.).

Полноту осаждения ПАВ после расслоения микроэмульсий при добавлении избытка соли кальция определяли спектрофотометрически. Метод основан на образовании в щелочной среде ионных пар ДДСН с метиленовым синим, экстракции этих ионных пар хлороформом с последующей обработкой полученного экстракта кислотой для устранения мешающих факторов и измерения оптической плотности полученного экстракта при длине волны 650 нм (ГОСТ 31857-2012). Полученные результаты показали, что при добавлении десятикратного избытка сухого хлорида кальция по отношению к количеству присутствовавшего ДДСН в системе, концентрация ПАВ оказалась меньше предела обнаружения (0,025 мкг/л), установленного используемой методикой, что позволяет предполагать отсутствие нелетучих ПАВ в системе после разрушения МЭ. Это позволяет определять целевые компоненты в органическом слое с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

В качестве объекта исследования были выбраны ДАФ. Этот класс соединений широко применяется в качестве пластификаторов при изготовлении бытовой химической продукции, строительных материалов, одежды, пищевых упаковочных материалов и медицинской продукции. Их определение в объектах окружающей среды является важной аналитической задачей на сегодняшний день. Калибровочные зависимости для всех ДАФ носили линейный характер в диапазоне концентраций 0,005 – 5 мкг/мл.

Был проведен сравнительный анализ экстрагирующей способности ацетонитрила, МЭ1 состава ДДСН / *n*-гексан / *n*-бутанол / вода (3; 0,8; 8; 88,2 % по мас.) и МЭ2 состава ДДСН / *n*-гексан / *изо*-пентанол / вода (3; 0,8; 6; 90,2 % по мас.) по отношению к ДАФ из почв. Для этого отбирали воздушно-сухую навеску почвы и

добавляли точно известное количество ДАФ. После чего добавляли экстрагент и помещали смесь в ультразвуковую баню. Для каждого экстрагента было проведено по три параллельных опыта. Результаты представлены в табл. 10.

Таблица 10. Степень извлечения эфиров *o*-фталевой кислоты (в %) из почвы с помощью ацетонитрила и микроэмульсий ($n = 3, P = 0,95$).

Соединение	Степень извлечения, %		
	Ацетонитрил	МЭ1	МЭ2
ДМФ	101 ± 5	92 ± 5	77 ± 3
ДЭФ	97 ± 5	99 ± 5	83 ± 4
ДБФ	101 ± 5	97 ± 4	81 ± 4
ББФ	101 ± 5	100 ± 5	92 ± 5
ДЭГФ	102 ± 5	95 ± 4	95 ± 5

Из полученных результатов следует, что МЭ1 так же, как и ацетонитрил хорошо экстрагирует все рассмотренные ДАФ, в то время как МЭ2 хуже экстрагирует ДАФ из почвы, поэтому в дальнейшем она не использовалась.

Было изучено распределение ДАФ между водной и органической фазами, образующимися после расслоения МЭ1, в зависимости от их коэффициента распределения октанол/вода. Для этого готовили растворы этих ДАФ в микроэмульсии и расслаивали их с помощью осаждения ДДСН десятикратным избытком хлорида кальция. Методом ВЭЖХ определяли концентрацию ДАФ в водной и органической фазах после расслаивания. Зависимость распределения эфиров *o*-фталевой кислоты от их $\log P$ представлена на рис. 10. Более гидрофобные ДБФ, ББФ и ДЭГФ полностью переходят в органическую фазу при расслоении микроэмульсии.

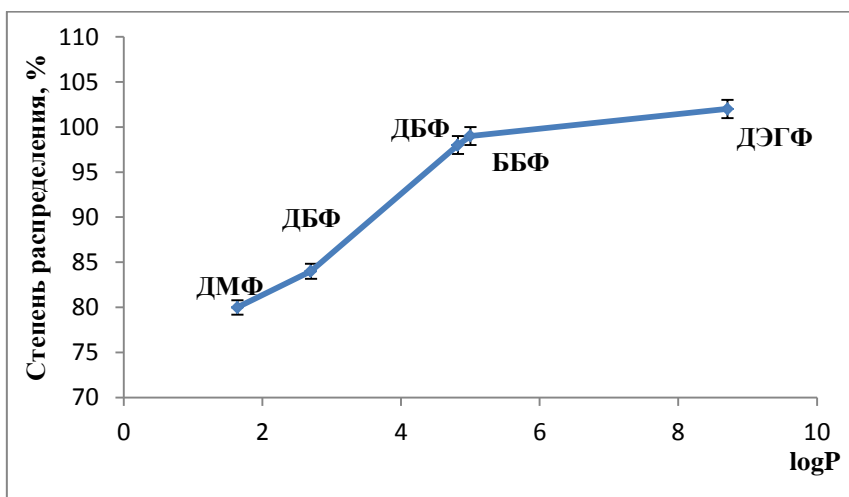


Рис. 10. Зависимость распределения ДМФ, ДБФ, ДБФ, ББФ и ДЭГФ между органической и водной фазами после расслоения МЭ1 от их коэффициента распределения октанол/вода ($n = 3, P = 0,95$).

Для определения правильности предложенного подхода готовили навески почв с точно известной концентрацией ББФ, ДБФ и ДЭГФ, извлекали их с помощью ацетонитрила и МЭ1 и определяли методом ГХ-МС, который обладает рядом преимуществ по сравнению с другими методами, главным образом – возможность

надежно идентифицировать соединения по масс-спектру. На рис. 11 представлены хроматограммы экстрактов почв.

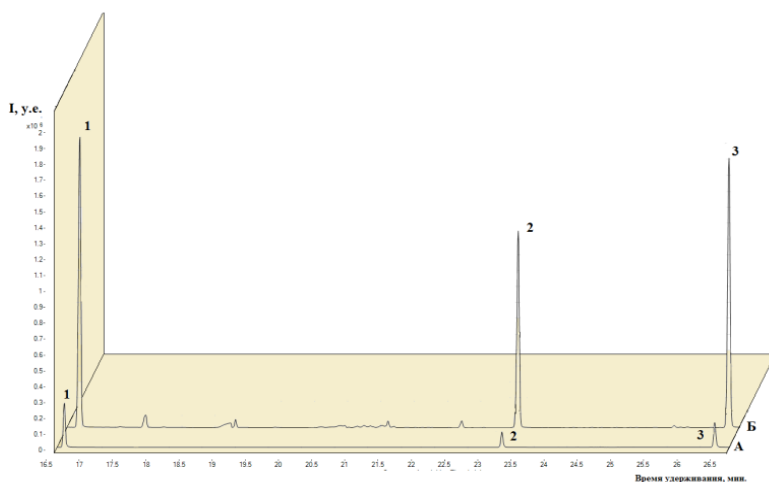


Рис. 11. Хроматограммы экстрактов из почв, полученные методом ГХ-МС с использованием ацетонитрила (А) и МЭ1 (Б) в качестве экстрагентов. Колонка HP-5MS (30м × 250 мкм × 0,25 мкм), подвижная фаза - гелий, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы - 1 мкл. Температурный градиент: с 40 °С до 130 °С со скоростью 50 °С /мин, с 130 °С до 250 °С со скоростью 5

°С/мин, с 250 °С до 300 °С со скоростью 10 °С/мин. Температура источника 230 °С. Масс-спектрометрическое детектирование проводили по следующим ионам: m/z 77, 91, 149, 150, 163, 167, 177. Пики: 1 – ДБФ, 2 – ББФ, 3 – ДЭГФ.

Коэффициент концентрирования рассчитывали как отношение площади пика при экстракции диалкилфталатов микроэмульсией с последующим ее расслоением и анализом масляной фазы к площади пика полученного при экстракции ацетонитрилом. Коэффициент концентрирования диалкилфталатов достигает примерно 18, что хорошо согласуется с теоретически максимально возможной. Также можно отметить, что при концентрировании с помощью МЭ на хроматограмме можно регистрировать пики других (примесных) компонентов, которые присутствуют в объектах в следовых количествах и без концентрирования их определение невозможно.

Предложенный подход был использован для определения ДБФ, ББФ и ДЭГФ в двух образцах почв. Для сравнения в качестве экстрагентов использовали ацетонитрил и МЭ1 (с последующим ее расслоением). Полученные данные представлены в табл. 11.

Таблица 11. Извлечение ДАФ из двух почв с использованием ацетонитрила и МЭ1 в качестве экстрагентов ($n = 3, P = 0,95$).

Определяемый компонент	Найденная концентрация ДАФ, мкг/г			
	Почва 1		Почва 2	
	экстрагент – МЭ1	экстрагент – ацетонитрил	экстрагент – МЭ1	экстрагент – ацетонитрил
ДБФ	0,080 ± 0,004	0,083 ± 0,004	0,073 ± 0,004	0,070 ± 0,004
ББФ	0,029 ± 0,002	0,021 ± 0,002	0,0085 ± 0,0005	Ниже предела обнаружения
ДЭГФ	0,100 ± 0,006	0,096 ± 0,005	0,078 ± 0,004	0,080 ± 0,005

На примере определения ДАФ в почве с использованием МЭ состава ДДСН / *n*-гексан / *n*-бутанол / вода (3; 0,8; 8; 88,2 % по мас.) в качестве экстрагента с

последующим анализом ГХ-МС были определены метрологические характеристики предложенного подхода.

Прецизионность предложенного подхода оценивали путем определения сходимости результатов повторением анализа на 6-ти пробах одним химиком в один день на одном оборудовании и определения внутрилабораторной прецизионности при анализе в одной лаборатории одной и той же пробы с полным повторением процедуры приготовления пробы и выполнения измерений другим химиком.

Сходимость оценивали путем расчета относительного стандартного отклонения (*RSD*), полученного по последовательным определениям, выполненным одним химиком в один день. Оценку внутрилабораторной прецизионности при установленном доверительном интервале определяли по *F*-критерию Фишера и *t*-критерию Стьюдента. Результаты представлены в табл. 12. Показано, что методика обладает хорошей сходимостью (*RSD* менее 5%) и внутрилабораторной прецизионностью, ввиду выполнения всех критериев приемлемости.

Таблица 12. Внутрилабораторная прецизионность определения ДАФ.

№ опыта, показатель	Найдено в почве, мкг/г (введено 0,5 мкг/г)					
	ДБФ		ББФ		ДЭГФ	
	Химик1	Химик2	Химик1	Химик2	Химик1	Химик2
Среднее	0,366	0,33	0,394	0,416	0,446	0,518
<i>SD</i>	0,036	0,031	0,030	0,015	0,022	0,030
<i>RSD</i> , %	0,010	0,093	0,075	0,036	0,049	0,059
Расчетный критерий Фишера $F_{расч.}$	1,40		0,26		1,92	
Табличный критерий Фишера $F_{табл.}(0,95, 4, 4)$	6,39		6,39		6,39	
Расчетный критерий Стьюдента $t_{расч.}$	1,69		1,48		4,30	
Табличный критерий Стьюдента $t_{табл.}(0,95, 8)$	2,31		2,31		2,31	

В ходе исследования робастности методики установлено, что варьирование параметров хроматографирования не оказывает значимого влияния на количество найденных ДАФ в почве. Относительное отклонение не превышает 10,0%. Уменьшение времени экстракции на 5 минут приводит к недостоверным результатам.

Из результатов видно, что предложенный подход определения ДАФ в почве с использованием микроэмульсионного извлечения с последующим анализом ГХ-МС характеризуется приемлемой правильностью и воспроизводимостью.

Таким образом показано, что микроэмульсии прямого типа могут быть использованы в качестве экстрагентов гидрофобных ДАФ с их концентрированием в «масляной» фазе, образующейся после расслоения микроэмульсий, и последующим газохроматографическим анализом с масс-спектрометрическим детектированием. На примере определения ББФ в почве 2 показано, что пределы обнаружения ДАФ в почве при использовании МЭ ниже, чем при использовании ацетонитрила в качестве экстрагента. Такой подход упрощает процесс пробоподготовки, уменьшая общее время анализа, и существенно снижает пределы обнаружения.

Определение диалкилфталатов в воде

Предложенный подход был использован для определения ДАФ в воде. Для этого был выбран метод ОФ-ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием.

Основные параметры градуировочной зависимости и характеристики хроматографического определения ДАФ представлены в табл. 13. Градуировочная зависимость линейна во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Таблица 13. Параметры градуировочной зависимости для модельного раствора ДАФ.

Соединение	Градуировочная кривая	R^2	Предел обнаружения, мкг/мл	s_r^* , %
ДМФ	$y = 47,089x - 1,9589$	0,9999	0,3	9
ДЭФ	$y = 41,654x - 1,1004$	1	0,4	9
ДБФ	$y = 35,946x - 1,4017$	1	0,5	11
ББФ	$y = 25,954x + 0,1262$	0,9986	0,9	13
ДЭГФ	$y = 20,528x + 1,6211$	0,9985	1,0	15

Для определения ДАФ в воде использовали МЭ состава ДДСН / *n*-гексан / *n*-бутанол / вода (3; 0,8; 8; 88,2 % по мас.).

Для определения коэффициента концентрирования готовили серию модельных растворов ДАФ в воде с различным уровнем концентрацией ДБФ (0,53 – 5,3 мкг/мл), ББФ (0,55 – 5,5 мкг/мл) и ДЭГФ (0,5 – 5,0 мкг/мл). К этим растворам объемом 1 мл добавляли 4 мл МЭ, перемешивали в ультразвуковой ванне в течение 20 мин, после чего добавляли десятикратный избыток сухого хлорида кальция по отношению к присутствующему в системе ДДСН и определяли ДАФ в образовавшейся органической фазе. Коэффициент концентрирования рассчитывали как отношение концентрации ДАФ, полученной в органической фазе к концентрации ДАФ в модельном растворе, который использовали в эксперименте. Полученные коэффициенты концентрирования представлены в табл. 14.

Таблица 14. Коэффициенты концентрирования ДАФ в органической фазе после расслаивания МЭ ($n=3$, $P=0,95$).

Соединение	Введено (добавка), мкг/мл	Коэффициент концентрирования
ДБФ	0,53	8,2
	1,1	8,1
	5,3	8,1
ББФ	0,53	9,6
	1,1	9,5
	5,3	9,7
ДЭГФ	0,53	9,8
	1,1	10,1
	5,3	9,8

Из полученных результатов видно, что коэффициенты концентрирования для ДБФ, ББФ и ДЭГФ лежат в интервале от 8,1 до 10,1 и не зависят от уровней добавок в модельных растворах.

Таким образом показано, что МЭ можно использовать и для извлечения ДАФ из воды, что значительно увеличивает чувствительность их определения.

Выводы

1. На примере распределения красителя красного Судана III предложен подход к извлечению и концентрированию гидрофобных соединений в органической фазе, образующейся после расслаивания МЭ. Получены зависимости коэффициента концентрирования Судана III от состава МЭ и условий расслоения МЭ.

2. Показана возможность расслоения МЭ на основе ДДСН путем добавления избытка ионов кальция. При десятикратном избытке ионов кальция по отношению к присутствующему в системе ДДСН МЭ расслаивается на две фазы, причем происходит полное осаждение ДДСН, что позволяет определять целевые гидрофобные ($\log P \geq 3,4$) компоненты в органической фазе.

3. На примере определения бенз(а)пирена показана возможность применения МЭ для извлечения БаП и его последующего концентрирования после расслоения МЭ в органической фазе. Подобран состав МЭ: ДДСН / бензол / изо-пентанол / вода (3; 0,8; 6; 90,2 % по мас.), при котором коэффициент концентрирования БаП наибольшая и достигает 5,8.

4. Разработан способ для одновременного определения десяти ПАУ в почве с использованием МЭ в качестве экстрагентов с дальнейшим анализом ПАУ методом ВЭЖХ - ФЛД. При использовании МЭ состава ДДСН / бензол / изо-пентанол / вода (3; 0,8; 6; 90,2 % по мас.) коэффициенты концентрирования ПАУ лежат в интервале 5,7 – 6,5 и слабо зависят от коэффициента распределения октанол/вода ($\log P$ 3,4 – 6,6). Достигнута высокая степень извлечения для всех исследуемых ПАУ (в диапазоне 91 – 105 %). Определение ПАУ предложенным способом обеспечивает в 5 – 20 раз более высокую чувствительность, чем по двум аттестованным методикам определения ПАУ в почве, к тому же время проведения анализа сокращается в 3 – 4,5 раза по сравнению с аттестованными методиками.

5. На примере определения диалкилфталатов в почве показана возможность комбинирования микроэмульсионной пробоподготовки с последующим анализом методом ГХ-МС. Подобран состав МЭ: ДДСН / н-гексан / н-бутанол / вода (3; 0,8; 8; 88,2 % по мас.), при котором достигается высокая степень извлечения для всех рассматриваемых ДАФ в диапазоне 92 – 100 %. Определена зависимость распределения ДАФ между водной и органической фазой от коэффициента распределения октанол/вода. Показано, что наиболее гидрофобные ДАФ ($\log P \geq 4.8$) полностью переходят в органическую фазу после расслаивания, коэффициенты концентрирования для них составляют 18.

6. Предложенный подход применен для определения ДБФ, ББФ и ДЭГФ в воде с последующим анализом методом ОФ-ВЭЖХ-УФ. Коэффициенты концентрирования лежат в диапазоне 8 – 10. Такой подход упрощает процесс пробоподготовки, уменьшая общее время анализа, и существенно снижает пределы обнаружения.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. Толмачева Н.Г., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Экстракция и последующее определение диалкилфталатов в почве методом газовой хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2014. Т. 55. № 4. С. 207-213.

2. Толмачева Н.Г., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Использование микроэмульсий для извлечения эфиров о-фталевой кислоты из почвы с последующим разложением микроэмульсий, одновременным концентрированием и

газохроматографическим определением целевых компонентов. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2017. Т. 58. № 2. С. 83-88.

3. Применение микроэмульсий для извлечения, концентрирования и определения 10 ПАУ из различных типов почв. Толмачева Н.Г., Чжан М., Пирогов А.В., Попик М.В., Шпигун О.А. // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 6. С. 1-6.

4. Толмачева Н.Г., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Извлечение и последующее хроматографическое определение диалкилфталатов в почве. // Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» - Краснодар. 2013. С.97.

5. Толмачева Н.Г., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Использование микроэмульсий в пробоподготовке. // Всероссийская конференция "Теория и практика хроматографии"- Самара. 2015. С. 5.

6. Tolmacheva N.G., Pirogov A.V., Shpigun O.A. Nanoemulsions in the sample preparation with subsequent gas chromatography analysis. // 30th International symposium on chromatography "Communicating separation science for the future"- Зальцбург. Австрия. 2014. P. 221.

7. Толмачева Н.Г., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Использование микроэмульсий для извлечения и одновременного концентрирования бен(а)пирена с последующим хроматографическим определением. // . Пятый Всероссийский симпозиум с международным участием «Кинетика и динамика обменных процессов» РОЛЬ SEPARATION SCIENCE В РАЗВИТИИ ПРОРЫВНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ СОВРЕМЕННОЙ НАУКИ (НАНОХИМИЯ И БИМЕДИЦИНА) – Адлер. 2016. Устный доклад

Авто выражает искреннюю признательность научному руководителю д.х.н., проф. А.В. Пирогову за участие и помощь в постановке задач и обсуждении результатов исследования; д.х.н., проф. О.А. Шпигуну за консультацию по тематике работы; всем членам лаборатории хроматографии за отзывчивость, теплую атмосферу и помощь в работе; Российскому фонду фундаментальных исследований и Российскому научному фонду за финансовую поддержку проведенных исследований (гранты РФФИ № 16-03-00257, РФФИ № 13-03-00394 и РНФ 16-13-10079).