

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 токсичны 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 наименования.

## **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).

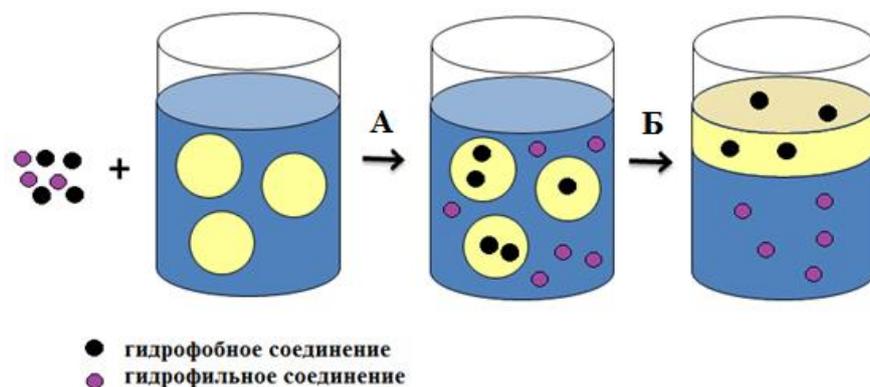
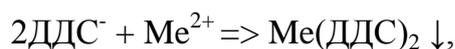


Рис. 1. Иллюстрация применения МЭ для извлечения и последующего концентрирования целевых веществ. А – солюбилизация гидрофобных соединений в микроэмульсионной капле, а гидрофильных в водной фазе. Б – образование двух несмешивающихся фаз после разрушения МЭ и концентрирование целевых компонентов за счет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

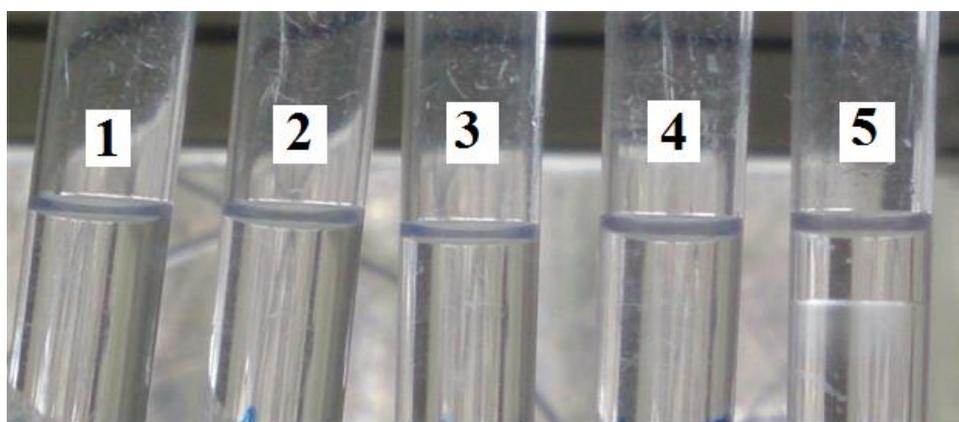


Рис. 2. Микроэмульсия состава ДДСН / *n*-гексан / *изо*-пентанол / вода (3, 0,8, 6, 90,2 % по мас.) после добавления различной концентрации хлорида кальция: 1 - 0,05 мМ, 2 – 0,07 мМ, 3 – 0,14 мМ, 4 – 0,35 мМ, 5 – 0,7 мМ.

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.

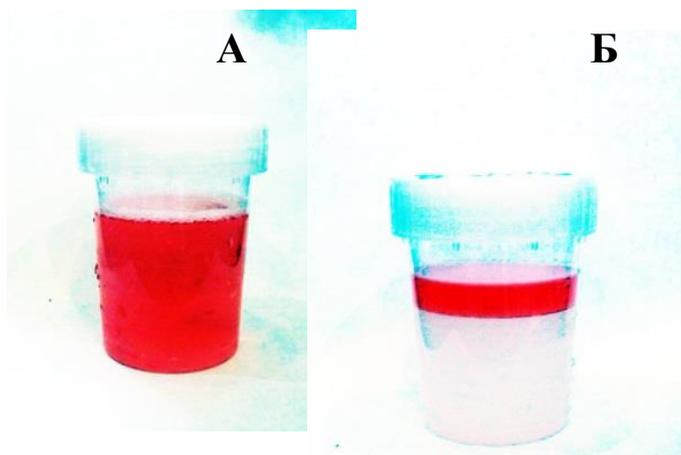


Рис. 3. Микроэмульсия с Суданом III до расслоения (А) и после расслоения (Б).

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.

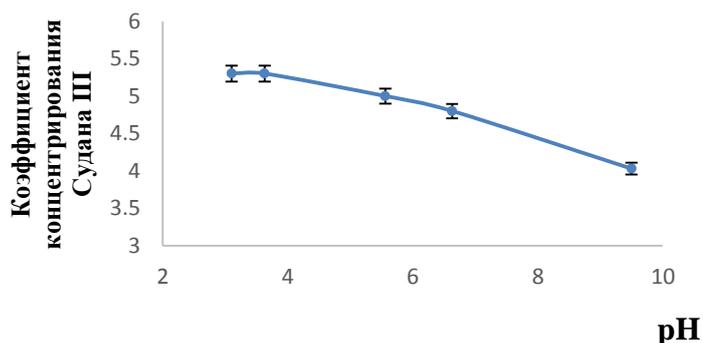


Рис. 4. Зависимость коэффициента концентрирования Судана III в органической фазе от pH микроэмульсии ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

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.

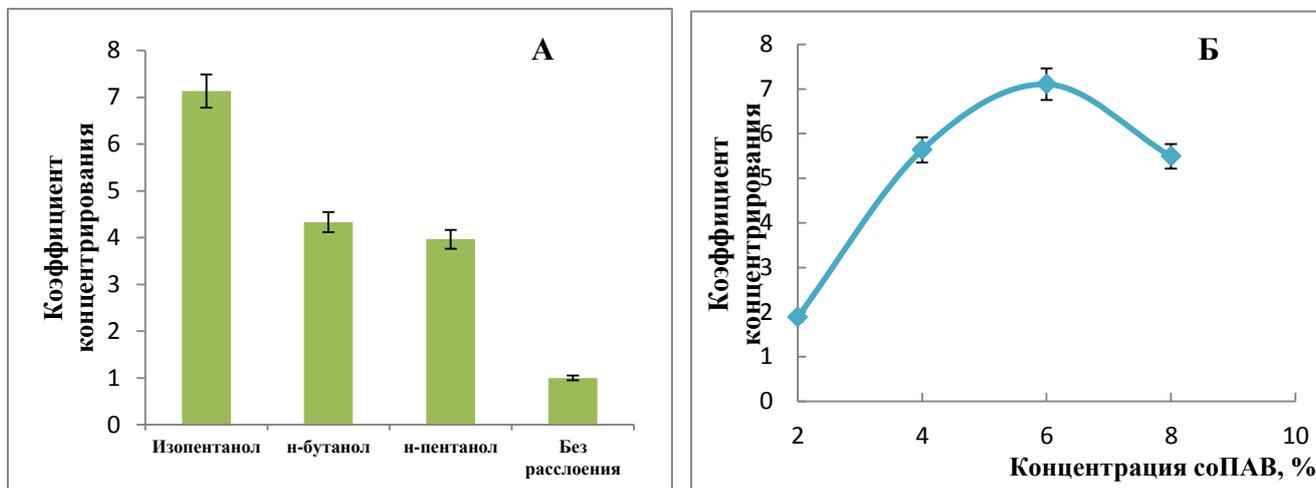


Рис. 5. Зависимость коэффициента концентрирования БаП от: А – природы соПАВ, Б – от концентрации соПАВ (*изо*-пентанола) ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

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.

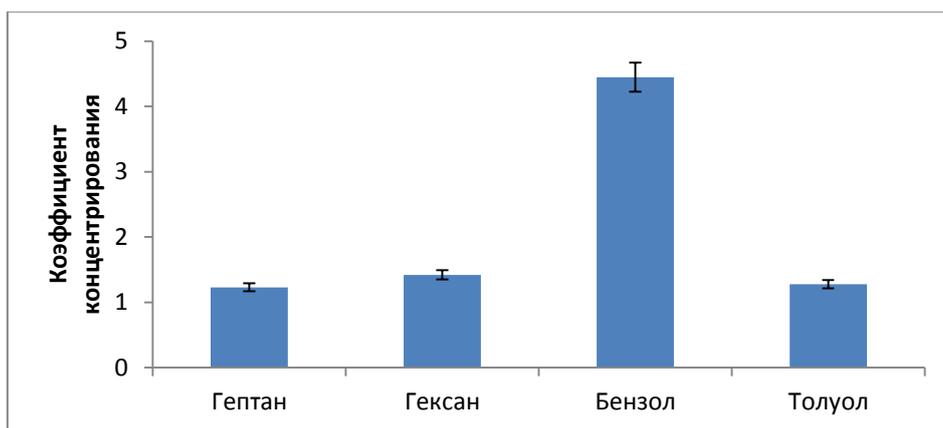


Рис. 6. Диаграммы распределения БаП для различных типов «масла» ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

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  $\pi$ - $\pi$

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.

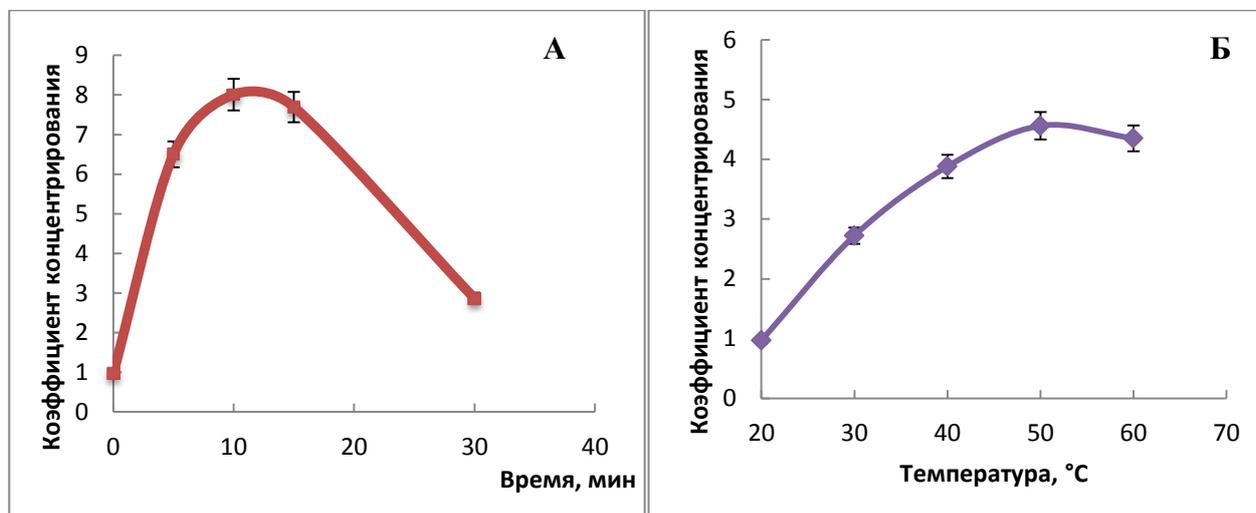


Рис. 7. Зависимость коэффициента концентрирования БаП в органической фазе от: А - времени расслаивания МЭ, Б - от температуры ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

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 значительно.

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).

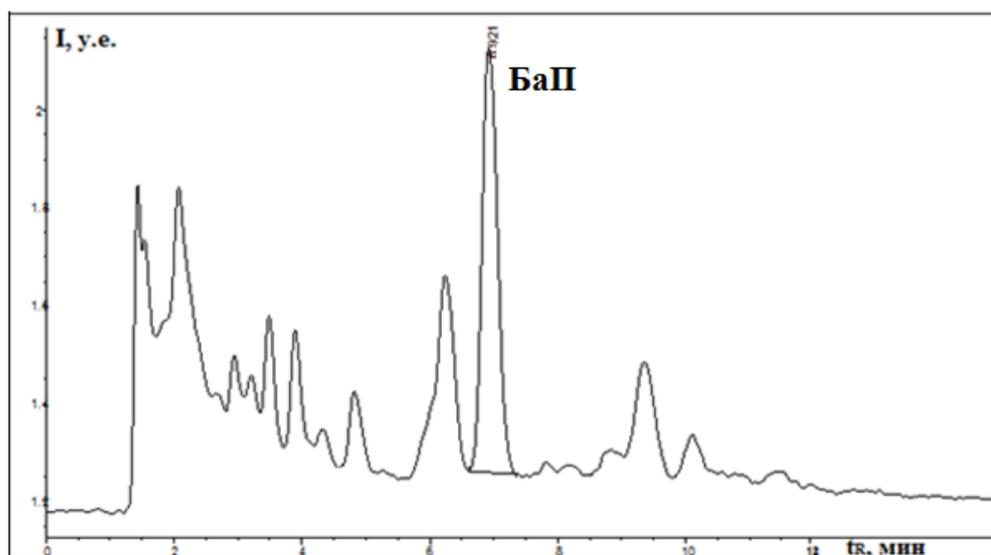


Рис. 8. Хроматограмма образца почвы. Условия хроматографического анализа представлены в табл.15. Извлечение проводили с помощью МЭ состава ДДСН / бензол / *изо*-пентанол (3; 0,8; 6 % по мас). Найденная концентрация БаП в объекте  $1,4 \pm 0,1$  мкг/кг.

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

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

| Тип масла | Найдено БаП<br>мкг / кг | $R_s$ с ближайшим<br>пиком | $N$ , ТТ/м | $\alpha$ |
|-----------|-------------------------|----------------------------|------------|----------|
| 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 расщавивания и в органическом слое, образовавшемся после расщавивания.

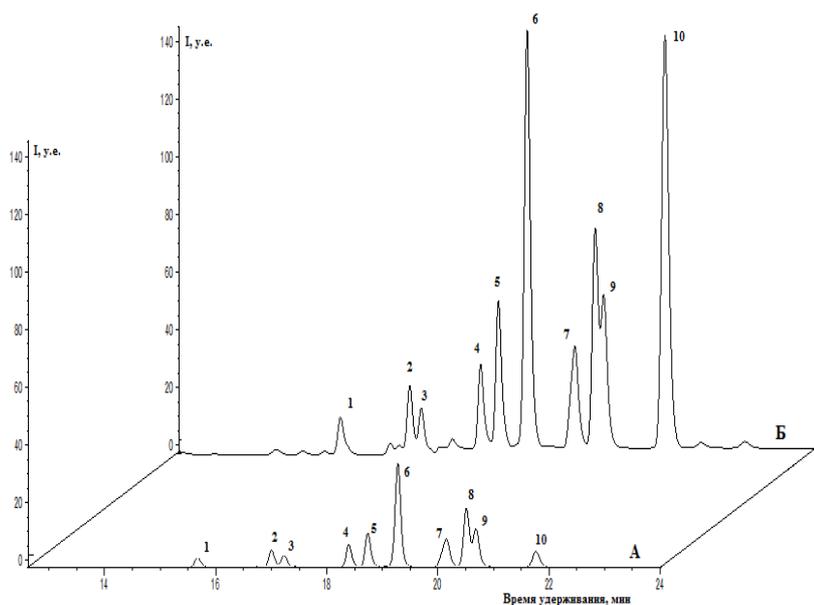


Рис. 9. Хроматограммы модельных смесей 10 ПАУ в МЭ без расщавивания (А) и в органическом слое, образовавшемся после расщавивания МЭ (Б), полученные методом ОФ – ВЭЖХ - ФЛД. Колонка Luna C18 (2) (250 мм × 4.6 мкм, 5 мкм), Элюент: А – ацетонитрил, В – вода. Градиентный режим: 0 мин – 40% А, 0 – 5 мин – 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 расщавивания МЭ, к площади пика, полученного без расщавивания 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                 | $C_{\text{мин}}$ ,<br>мкг/кг | $C_{\text{мин}}$ , мкг/кг<br>(ПНД Ф<br>16.1:2.2:2.3:3.62-09) | $C_{\text{мин}}$ , мкг/кг<br>(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<br>ПАУ в ГСО,<br>мг/кг | Степень<br>извлечения с<br>использованием<br>предложенного<br>подхода, % | Степень извлечения, %               |                      |
|----------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|----------------------|
|                            |                                     |  | (ПНД Ф<br>16.1:2.2:2.3:3.62-<br>09) | (МУК<br>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<br>(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.

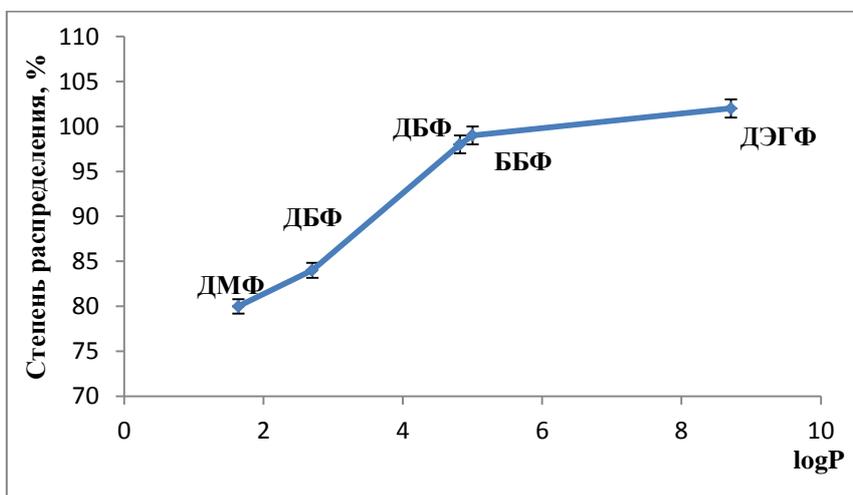


Рис. 10. Зависимость распределения ДМФ, ДБФ, ДБФ, ББФ и ДЭГФ между органической и водной фазами после расслоения МЭ1 от их коэффициента распределения октанол/вода ( $n = 3, P = 0,95$ ).

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.

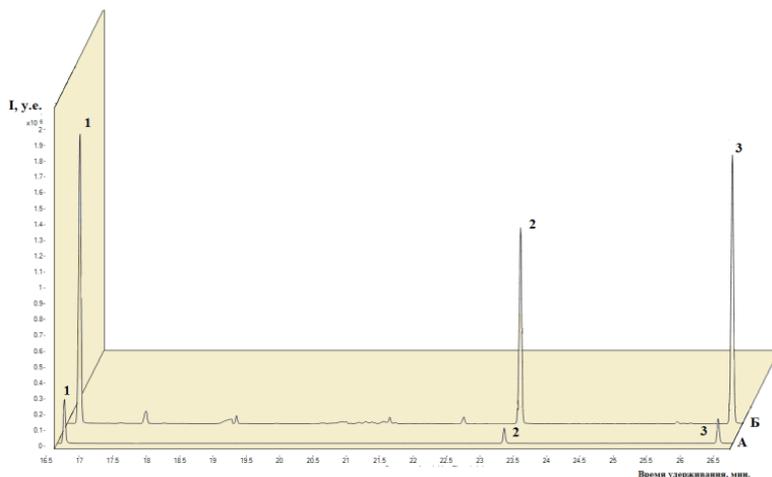


Рис. 11. Хроматограммы экстрактов из почв, полученные методом ГХ-МС с использованием ацетонитрила (А) и МЭ1 (Б) в качестве экстрагентов. Колонка HP-5MS (30м × 250 мкм × 0,25 мкм), подвижная фаза - гелий, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы - 1 мкл. Температурный градиент: с 40 °С до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