



УДК 541

Применение многослойных колонок для проведения экспрессной адсорбционной очистки при определении хлороорганических пестицидов

Михеева А.Ю., Васильева И.А.

Центр Исследования и Контроля Воды, Санкт-Петербург,

Семенов С.Ю.

ФГУП «Российский научно-исследовательский центр чрезвычайных ситуаций», Москва

Сычев К.С.

ЗАО «Найтек Инструментс», Москва

Поступила 11.12.2008

Аннотация

В Центре Исследования и Контроля Воды (г. Санкт-Петербург) проводятся исследования по разработке унифицированной процедуры подготовки пробы для определения приоритетных загрязнителей: ПХДД, ПХДФ, ХОП, ПХТ, ПАУ и фталатов – в различных экологических матрицах. В основу исследований положена идея экспрессной адсорбционной очистки экстрактов с применением многослойных колонок, заполненных адсорбентами различных типов. В этой работе приведены данные исследования по применению унифицированной процедуры подготовки пробы с применением многослойных картриджей для определения хлороорганических пестицидов.

Ключевые слова: ТФЭ, твердофазная экстракция, хлороорганические пестициды, ГХ-МС анализ

Water Research and Control Center, Saint-Petersburg is keeping on the extensive studies of the novel uniform SPE approach for the sample preparation of various environmental pollutants including PCBs, PCDDs, PCDFs, PCTs, PAHs, phthalates and organochlorine pesticides. The key idea is to use for SPE procedure the uniform multi-layer cartridges filled with the number of adsorbents of different types. This work describes the results of applying uniform SPE procedure for organochlorine pesticides.

Key words: SPE, solid phase extraction, organochlorine pesticides, GC/MS analysis

Введение

Глобальное загрязнение окружающей среды и неблагоприятная экологическая ситуация в промышленных районах обуславливают необходимость постоянного эколого-аналитического контроля (ЭАК) за загрязнением воздуха,

качеством питьевой воды и накоплением токсичных соединений в почве и донных отложениях.

В соответствии с различными международными соглашениями, в том числе Стокгольмской конвенцией, около 60 химических веществ вошли в списки, предусматривающие ограничение их распространения. Из этих соединений 12 органических веществ, названных «грязной дюжиной», выделены в группу стойких органических загрязнителей (СОЗ): алдрин, эндрин, диэлдрин, мирекс, ДДТ, гексахлорбензол, гептахлор, токсафен, хлордан, полихлорированные бифенилы (ПХБ), полихлорированные дибензо-*p*-диоксины (ПХДД) и полихлорированные дибензофураны (ПХДФ). В 2003 г. в рамках проекта, направленного на проведение оценки угрозы СОЗ для здоровья человека и окружающей среды, ООН рекомендовала расширить список контролируемых химических соединений, включив в него, в том числе 16 приоритетных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и шесть эфиров фталевой кислоты – фталатов.

Для создания эффективной системы мониторинга приоритетных загрязнителей необходимо решение проблемы упрощения, ускорения и удешевления ЭАК. В связи с этим, чрезвычайно своевременной можно было бы рассматривать задачу по разработке комплексного подхода к анализу приоритетных загрязнителей на основе унификации существующих методов их определения.

Подобного рода исследовательская работа давно ведется в Центре Исследования и Контроля Воды (г. Санкт-Петербург). Основной целью является поиск путей для унификации процедуры подготовки экстракта пробы при определении приоритетных загрязнителей в различных экологических матрицах методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В основу исследований положена идея экспрессной адсорбционной очистки экстрактов с применением многослойных колонок, заполненных адсорбентами различных типов.

Адсорбционная очистка на многослойных колонках является стандартной процедурой подготовки пробы при определении ПХБ. В большинстве случаев такая очистка экстракта позволяет определять аналиты в сложных экологических матрицах на следовом уровне (1-2 пг на ввод). По этой причине в основу унифицированной процедуры была положена именно эта схема очистки экстракта.

В этой работе приведены экспериментальные данные по применению унифицированной процедуры для определения хлороорганических пестицидов (ХОП).

Эксперимент

Реагенты

В работе применялись растворители: гексан, метиленхлорид марки «pesticide grade» фирмы Merck. Для адсорбционной очистки применялись окись алюминия и силикагель фирмы Merck. Марка окиси алюминия: «Aluminum oxide 60 active basic», размер частиц 0.063-0.200 мм (70-230 меш), активность 1, значение pH 9.0-10.5. Марка силикагеля: «Kieselgel 60», удельная поверхность 480-540 м²/г, насыпная плотность 0,74-0.84 г/мл, размер частиц 0.063-0.200 мм (70-230 меш).

В работе применялись стандартные образцы фирмы Ultra Scientific. Выборка включала 26 хлороорганических пестицидов: (1) гексахлорбензол, (2) α - гексахлорциклогексан, (3) β - гексахлорциклогексан, (4) γ - гексахлорциклогексан, (5) ε - гексахлорциклогексан, (6) δ - гексахлорциклогексан, (7) алдрин, (8)

диелдрин, (9) эндрин, (10) изодрин, (11) гептахлор, (12) *транс* - гептахлорэпоксид, (13) *цис* - гептахлорэпоксид, (14) α - эндосульфан, (15) β - эндосульфан, (16) *транс* - хлордан, (17) *цис* - хлордан, (18) оксихлордан, (19) метоксихлор, (20) мирекс, (21) *о,п* - ДДЕ, (22) *п,п* - ДДЕ, (23) *о,п* - ДДД, (24) *п,п* - ДДД, (25) *о,п* - ДДТ, (26) *п,п* - ДДТ (см. рис. 1). Из них 14 соединений: 1, 7, 8, 9, 11, 16, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 – относятся к группе СОЗ.

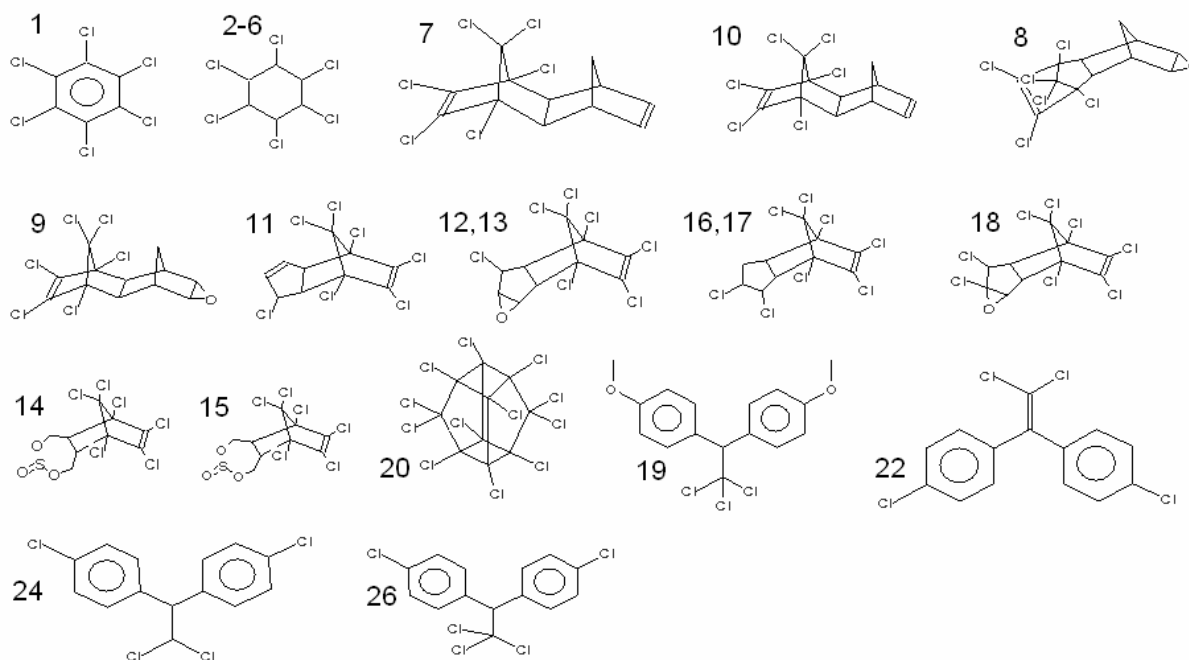


Рис. 1. Структурные формулы хлорорганических пестицидов: 1 - гексахлорбензол; 2-6 - общая формула для всех изомеров гексахлорциклогексана; 7 - альдрин; 10 - изодрин; 8 - диелдрин; 9 - эндрин; 11 - гептахлор; 12,13 - гептахлорэпоксид; 16,17 - хлордан; 18 - оксихлордан; 14 - α -эндосульфан; 15 - β -эндосульфан; 20 - мирекс; 19 - метоксихлор; 22 - *п,п*-ДДЕ; 24 - *п,п*-ДДД, 26 - *п,п*-ДДТ.

Способ проведения экстракции

Перед экстракцией твердый образец высушивался и усреднялся в соответствии с ИСО 11464:2006. Для извлечения аналитов из твердых образцов (почва, донные отложения) применяли двукратную ультразвуковую экстракцию в смеси органических растворителей гексан/ацетон 50/50.

Результаты и обсуждение

Выбор состава элюента

На первом этапе было необходимо выбрать оптимальный состав смеси гексан/хлористый метилен для элюирования ХОП в процедуре адсорбционной очистки.

Модельный эксперимент проводился на колонке, заполненной 10 мл силикагеля, что соответствует среднему объему адсорбента в многослойной колонке. Смесь ХОП наносили в гексане. Элюирование проводили по программе, приведенной в таблице 1. Результаты эксперимента приведены в таблице 2.

Таблица 1. Программа элюирования ХОП с колонки, заполненной 10 мл силикагеля

Номер фракции	Состав элюента гексан/хлористый метилен, % об.	Объем фракции, мл
1	95/2	50
2	95/5	50
3	90/10	50
4	80/20	50
5	70/30	50
6	60/40	50
7	50/50	50
8	0/100	50

Таблица 2. Распределение ХОП по фракциям при их элюировании по программе (см. табл. 1) с колонки, заполненной 10 мл силикагеля. Серой заливкой отмечены ячейки таблицы, соответствующие фракциям элюирования ХОП.

№ п/п	Аналиты	Фракции				
		1	2	3	4	5
		Содержание аналитов, % масс.				
1	Гексахлорбензол	100	-	-	-	-
2	α -Гексахлорциклогексан	82	22	-	-	-
3	β -Гексахлорциклогексан	16	88	-	-	-
4	γ -Гексахлорциклогексан	54	51	-	-	-
5	ϵ -Гексахлорциклогексан	-	64	42	-	-
6	δ -Гексахлорциклогексан	42	67	-	-	-
7	Альдрин	110	-	-	-	-
8	Диелдрин	-	-	35	55	-
9	Эндрин	-	-	56	46	-
10	Изодрин	103	-	-	-	-
11	Гептахлор	104	-	-	-	-
12	Транс-Хлордан	72	22	-	-	-
13	Цис-Хлордан	81	19	-	-	-
14	Оксихлордан	12	72	-	-	-
15	Транс-Гептахлорэпоксид	2	90	-	-	-
16	Цис-Гептахлорэпоксид	-	45	66	-	-
17	α -Эндосульфан	-	-	93	10	-
18	β -Эндосульфан	-	-	-	43	59
19	Метоксихлор	-	-	-	-	110
20	Мирекс	120	-	-	-	-
21	о,п-ДДЕ	96	-	-	-	-
22	п,п-ДДЕ	104	-	-	-	-
23	о,п-ДДД	92	-	-	-	-
24	п,п-ДДД	98	-	-	-	-
25	о,п-ДДТ	99	-	-	-	-
26	п,п-ДДТ	98	-	-	-	-

Из таблицы 2 видно, что все 26 модельных ХОП количественно элюируются с 10 мл силикагеля в пятой фракции, то есть при элюировании 50 мл смеси гексан/хлористый метилен 70/30.

Заметим, что представленные в таблице данные в рамках рутинного анализа позволяют аналитику выбирать наиболее подходящий состав элюента, количественно вымывающий целевые вещества с минимальной десорбцией примесей.

Определение степеней извлечения ХОП на многослойных колонках

Модельную смесь ХОП, содержащую по 200 нг каждого аналита, наносили на слой сульфата натрия монослойной колонки. ХОП элюировали 50 мл смеси гексан/хлористый метилен 70/30, элюат собирали и концентрировали. Определение ХОП выполняли методом внутреннего стандарта.

Таблица 3. Результаты определения степеней извлечения ХОП при их элюировании с многослойных колонок различного типа. Форма представления результата: степень извлечения, % (СКО, % при n = 6). Цветом отмечены области таблицы со степенями извлечения менее 80%.

N	Sil/H ₂ SO ₄	Sil/H ₃ PO ₄	Sil/КОН	Sil/AgNO ₃	Cu	Sil/КОН Sil/H ₃ PO ₄ Sil/AgNO ₃
1	101 (5,2)	102 (6,4)	99,5 (5,3)	99,5 (1,8)	106 (6,7)	105 (5,7)
2	99,5 (3,6)	98,5 (1,2)	97,5(6,2)	99,5 (2,0)	102 (5,5)	98,8 (2,1)
3	97,2 (5,0)	98,8 (4,4)	100 (2,5)	99,2 (3,2)	97,7 (4,2)	95,4 (4,4)
4	96,5(6,3)	102 (4,7)	104(9,2)	99,6 (2,8)	108 (4,4)	81,5 (4,9)
5	98,0 (4,4)	101 (5,2)	75,7 (9,3)	101 (3,3)	96,7 (5,1)	65,8 (12)
6	93,5 (4,2)	102 (6,2)	95,4 (6,7)	111 (1,5)	104 (6,2)	104 (3,5)
7	2,80 (80)	104 (5,7)	104 (2,8)	98,4 (6,2)	103 (4,3)	95,5 (5,5)
8	0	92,7 (7,8)	83,5 (3,6)	103 (3,4)	102 (7,9)	99,4 (3,9)
9	0	0	0	115 (7,2)	103 (3,7)	0
10	0	99,4 (6,9)	94,7 (4,3)	97,5 (3,8)	100 (6,6)	95,8 (4,2)
11	102 (3,2)	108 (4,3)	102 (3,2)	3,25 (86)	90,2 (5,3)	6,75 (68)
12	102 (3,5)	104 (2,7)	99,2 (4,4)	98,3 (4,2)	105 (5,8)	99,9 (4,3)
13	100 (2,7)	100 (3,5)	100 (5,6)	102 (3,9)	101 (2,7)	100 (5,6)
14	99,3 (5,6)	96,8 (4,7)	99,6 (1,7)	94,4 (6,8)	100 (2,4)	96,6 (2,2)
15	0	93,5 (4,4)	95,7 (6,3)	98,9 (6,5)	101 (3,0)	94,5 (6,3)
16	81,5 (5,1)	104 (2,8)	103 (2,9)	103 (3,7)	100 (2,9)	98,5 (5,4)
17	72,5 (10)	102 (3,5)	108 (3,8)	109 (5,1)	101 (3,4)	92,7 (3,7)
18	27,3 (65)	100 (5,5)	60,5 (8,7)	104 (3,2)	100 (2,1)	44,5 (16)
19	0	107 (3,8)	118 (2,5)	84,8 (6,7)	100 (3,8)	83,4 (2,4)
20	93,4 (6,6)	97,5 (4,8)	102 (4,5)	97,5 (6,4)	104 (4,6)	95,5 (4,1)
21	99,0 (5,2)	104 (4,4)	99,5 (4,1)	106 (3,6)	108 (3,7)	99,5 (7,1)
22	101 (3,4)	101 (3,1)	101 (2,5)	101 (2,8)	101 (4,3)	103 (5,4)
23	103 (2,9)	103 (2,9)	108 (3,4)	106 (3,9)	100 (6,3)	96,8 (5,7)
24	110 (2,7)	101 (2,9)	107 (6,2)	103 (6,4)	98,5 (5,4)	98,5 (4,9)
25	94,5 (4,5)	103 (4,9)	101 (3,7)	103 (3,1)	104 (3,7)	96,5 (4,6)
26	100 (4,1)	106 (3,4)	108 (4,2)	105 (3,7)	99,2 (4,6)	113 (5,2)

Из таблицы 3 видно, что процедура адсорбционной очистки с использованием силикагеля, модифицированного серной кислотой, неприемлема для 7 из 26 модельных ХОП (7-10, 15, 18, 19) по причине их неустойчивости при контакте с этим типом адсорбента (степени извлечения менее 50%). В то же время,

адсорбционная очистки с использованием силикагеля, модифицированного гидроксидом калия, неприемлема всего для одного ХОП (9).

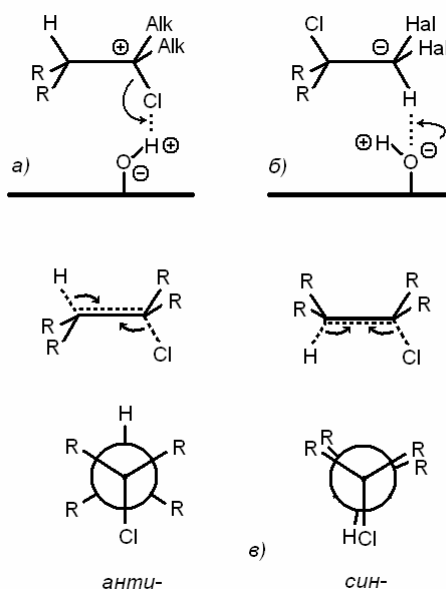


Рис. 2. Иллюстрации, поясняющие механизмы первой стадии реакции элиминирования для ХОП. а) при кислотном катализе (по Марковникову), б) при основном катализе (по Гофману), в) быстрая электронная перегруппировка при благоприятной анти- или син- конформации ХОП

Такой результат был ожидаем, поскольку деградация ХОП ускоряется при кислотном или основном катализе, особенно для соединений с син- или анти-конформацией (см. рис. 2).

Для уменьшения влияния кислотного катализа адсорбент, модифицированной серной кислотой, был заменен силикагелем, модифицированным менее сильной фосфорной кислотой. В результате чего степень извлечения оказалась неприемлемой только для одного ХОП (9) - эндрина. По всей видимости, эндрин имеет очень «выгодную» син- конформацию и поэтому крайне неустойчив при контакте с любыми кислотами и щелочами.

Для гептахлора неприемлемым оказался контакт с силикагелем, импрегнированным нитратом серебра. Маловероятно, чтобы пестицид деградировал на адсорбенте данного типа. Скорее всего, гептахлор удерживается на модифицированном сорбенте значительно сильнее других ХОП, поскольку имеет двойную связь (см. рис. 1), которая может вступать в π -d взаимодействие с серебром. Можно заметить, что подобную двойную связь имеет и ХОП (7) – альдрин, но он количественно элюируется 50 мл смеси гексан:хлористый метилен (70/30), % об. Возможно способность двойной связи гептахлора к π -d взаимодействию усилена наличием хлора в соседнем (β -) положении, при этом двойная связь $-C(Cl)=C(Cl)-$ с двумя хлорами в α - положениях, которая присутствует у большинства ХОП, совершенно не способна к π -d взаимодействию с серебром.

Определение степеней извлечения ХОП на окиси алюминия

В большинстве случаев применение многослойной адсорбционной колонки является необходимой и достаточной процедурой очистки. Исключением являются образцы, загрязненные различными типами нефтепродуктов, поскольку их компоненты (в основном – насыщенные углеводороды) сохраняются в экстракте до

стадии инструментального анализа, искажая хроматограмму и часто делая невозможным количественное определение аналитов из-за высокого фонового сигнала. В этом случае возникает необходимость в дополнительной очистке экстракта от нефтяных углеводородов.

Применение препаративной хроматографии на различных минеральных сорбентах, в том числе окиси алюминия, позволяет быстро и достаточно эффективно фракционировать соединения, значительно различающиеся по полярности. Однако для разделения ПХБ и нефтепродуктов, характеризующихся близкой полярностью, были подобраны специфические условия подготовки сорбента. Для разделения использовали активную (приготовленную непосредственно перед использованием) щелочную окись алюминия, поскольку только такой полярный сорбент позволял отделить неполярные углеводороды от слабополярных ПХБ.

Поскольку полярность большинства ХОП и ПХБ сопоставимы (они элюируются с силикагеля в 1 и 2 фракции, см. табл. 2), имело смысл попробовать окись алюминия также и для очистки экстрактов ХОП от загрязняющих их углеводородов. Для решения вопроса о возможности применения активного оксида алюминия при определении ХОП, необходимо было оценить их устойчивость на этом сорбенте, поскольку окись алюминия, особенно активированная, способна катализировать различные химические реакции.

Таблица 4. Результаты исследования фракционирования и устойчивости ХОП на оксиде алюминия.

№	Соединение	Выход, %	СКО, %	Фракция выхода
1	Гексахлорбензол	92,1	10	1
2	α-Гексахлорциклогексан	0,6	170	3-4
3	β-Гексахлорциклогексан	90,9	4,7	6-7
4	γ-Гексахлорциклогексан	18,4	94	3-4
5	ε-Гексахлорциклогексан	0	-	-
6	δ-Гексахлорциклогексан	0	-	-
7	Альдрин	29,2	77	3
8	Диелдрин	0	-	-
9	Эндрин	0	-	-
10	Изодрин	83,8	8,6	2-3
11	Гептахлор	0	-	-
12	Транс-Хлордан	82,0	10	4-5
13	Цис-Хлордан	95,8	12	4-5
14	Оксихлордан	0	-	-
15	Транс-Гептахлорэпоксид	0	-	-
16	Цис-Гептахлорэпоксид	0	-	-
17	α-Эндосульфан	0	-	-
18	β-Эндосульфан	0	-	-
19	Метоксихлор	18,0	170	5
20	Мирекс	92,1	13	3
21	о,п-ДДЕ	120	8,7	2-3
22	п,п-ДДЕ	140	15	2-3
23	о,п-ДДД	70,6	18	2-3
24	п,п-ДДД	30,0	62	2-3
25	о,п-ДДТ	40,0	44	2-3
26	п,п-ДДТ	23,8	55	2-3

Модельную смесь ХОП, содержащую по 200 нг каждого аналита, наносили на колонку, заполненную активированной окисью алюминия. Элюирование проводили по программе, приведенной в таблице 1. Результаты эксперимента приведены в таблице 4.

Из таблицы 4 видно, что большинство ХОП деградирует на активированной окиси алюминия. Сходные результаты были ранее получены для процедуры адсорбционной очистки экстракта пестицидов в этилацетате на DEAE силикагеле и основной не активированной окиси алюминия [2] (см. табл. 5). Из таблицы 5 видно, что извлечение γ -гексахлорциклогексана на не активированной окиси алюминия составляет порядка 29 % (на активированном адсорбенте 18.4 %), хотя для п,п'-ДДТ степень извлечения уже приемлема (82 % против 23.8 % на активированном адсорбенте).

Таким образом, потери ХОП на окиси алюминия в целом уменьшаются при снижении активности адсорбента. Однако дезактивация сорбента снижает его разделительную способность, что в данном случае неприемлемо. В связи с этим подход к очистке ХОП от углеводородов на окиси алюминия был признан нами бесперспективным.

На принципиальную возможность разделения ХОП и алифатических углеводородов указывают наши последние эксперименты по применению сверхсшитого полистирола для разделения алифатических углеводородов от ПХБ, ПХДФ и ПАУ по смешанному эксклюзионно-адсорбционному механизму [2]. Таким образом, в случае успешного разделения ХОП от алифатических углеводородов на сверхсшитом полистироле разработку унифицированной процедуры подготовки пробы в приложении к ХОП можно будет считать полностью завершенной.

Таблица 5. Результаты определения степеней извлечения (%) нескольких пестицидов различных групп при адсорбционной очистке их экстрактов в этилацетате на DEAE силикагеле и не активированной основной окиси алюминия [1].

	Очистка на DEAE силикагеле	Очистка на окиси алюминия
Трифлуралин	85	18
Атразин	81	74
Базудин (диазинон)	87	47
γ -Гексахлорциклогексан	84	29
Дурсбан (хлорпирифос)	90	60
ДДТ	86	82

Заключение

В работе показана принципиальная возможность унификации процедуры подготовки пробы с применением многослойных сорбционных колонок для определения ХОП и ПХБ. Выбор оптимального состава многослойной колонки зависит от перечня целевых соединений и является прерогативой аналитика.

Исследована возможность очистки экстрактов ХОП от алифатических углеводородов на активированной окиси алюминия. В результате, этот подход был признан неприемлемым и бесперспективным. Возможность подобного разделения может быть связана с применением в качестве адсорбционного материала сверхсшитого полистирола.

1. Сычев К.С, Зорин М.В. Разработка методики контроля содержания остаточных количеств пестицидов в растительных образцах. // Диагностика. Контроль. № 2. 2006.

2. C.S. Sychov, N.A. Proshurina, V.A. Davankov, A.Y. Mikheeva. The Unique Selectivity of pi-Interactions: From The Good Theory To The Good Practice // LCGC Europe. № 1. 2009. in press.

Михеева Алена Юрьевна – инженер лаборатории хроматографических методов анализа, ЗАО «Центр исследования и контроля воды», г. Санкт-Петербург, Россия, тел.: +7(812)703-00-68

Васильева Ирина Александровна – к.х.н., начальник лаборатории хроматографических методов анализа, г. Санкт-Петербург, Россия, тел.: +7(812)703-00-68

Семенов Сергей Юрьевич – к.ф.-м.н., директор ФГУП «Российский научно-исследовательский центр чрезвычайных ситуаций» Минздрава РФ, ул. Щукинская, д. 40, 123182 Москва, Россия, тел.: +7(499)613-22-50

Сычев Константин Сергеевич – к.х.н., индивидуальный предприниматель, Орел, Россия, тел.: +7(906)723-24-18

Mikheeva Alyona J. – Engineer 1 cat., Chromatography Laboratory, «Water Research and Control Center» Joint Stock Company, Saint-Petersburg, Russia, e-mail: welcome@aqua-analyt.com, micheeva_alena@mail.ru

Vasilieva Irina Al. –PhD, Header of Chromatography Laboratory, «Water Research and Control Center» Joint Stock Company, Saint-Petersburg, Russia, e-mail: welcome@aqua-analyt.com

Semenov Sergey Y. – PhD, Director of Russian Center of Emergency, Ministry of Health, Moscow, Russia, e-mail: sysemenov@mtu-net.ru

Sychov Constantin S. – PhD, individual entrepreneur, Oryol Russia, e-mail: chromplus@list.ru