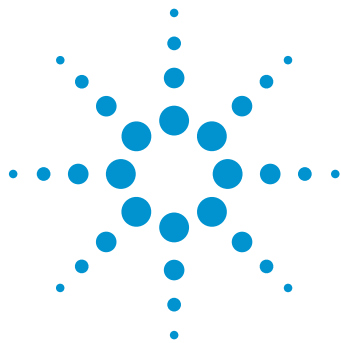




Определение фракции полициклических ароматических углеводородов в сырой нефти с помощью системы Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ

Методическая информация

Энергетика и химическая промышленность

Авторы

Герд Ванхоенакер (Gerd Vanhoenacker), Фрэнк Дэвид (Frank David) и Пэт Сандра (Pat Sandra)
Исследовательский институт
хроматографии
Kennedypark 26
B-8500 Кортрейк
Бельгия

Удо Хубер (Udo Huber)
Agilent Technologies, Inc.
Вальдброн, Германия

Аннотация

Система Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ использовалась для определения фракции полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в нефтепродуктах с помощью комплексной двумерной жидкостной хроматографии (ЖХ-ЖХ). Сложный состав этой фракции, которая состоит из незамещенных ПАУ, алкилзамещенных ПАУ и гетероциклических ПАУ, имеет огромное количество пиков, превышающее возможности одномерного ЖХ-разделения.

Сочетание цианпропиловой колонки в первом измерении и ПАУ колонки во втором обеспечили хорошую ортогональность, что привело к большему возможному количеству пиков. Детектирование производилось параллельно с помощью диодно-матричного и флуоресцентного детекторов. Данная методическая информация показывает потенциал 2D-ЖХ для определения профилей полиароматической фракции в нефтепродуктах.



Agilent Technologies

Введение

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) — хорошо известные загрязняющие окружающую среду и пищу вещества. ПАУ обычно являются продуктом процессов естественного и антропогенного горения. Сейчас большая часть аналитических методов определения следовых количеств ПАУ в пробах из окружающей среды (почва, осадки, вода, воздух) и из пищи (обычно жирные продукты) сосредоточена на определенном количестве (обычно 16) незамещенных полициклических ароматических углеводородов, таких как флуорантен, хризен, бензо(а)пирен и бензофлуорантены. Аналитические методы основаны на ГХ-МС (включая одноквадрупольные и трехквадрупольные МС) или сочетание ВЭЖХ с детектором на диодной матрице (DAD) или флуоресцентным детектором (ФЛД).

Канцерогенность определенных ПАУ была явно продемонстрирована. Для измерения общей степени загрязнения пробы ПАУ используются коэффициенты эквивалентной токсичности (КЭТ), также как для полихлорированных диоксинов и фуранов (ПХДД/ПЗДФ), а также полихлорированных бифенилов (ПХБ).

Недавно была поднята проблема токсичности алкилзамещенных ПАУ. И действительно, в таких продуктах нефтепереработки, как дизельное топливо, нефтепродукты и сырая нефть, вклад замещенных ПАУ в общую фракцию полиароматических углеводородов намного больше, чем обычно анализируемых неалкилированных ПАУ. Этот факт раскрывается, например, в статье EFSA «Научное мнение о нефтяных углеводородах в пище»¹. Для анализа нефтепродуктов в пище и в упаковочных материалах используется методика ГХ-ПВД после предварительного отделения фракции насыщенных углеводородов от ароматической фракции путем твердофазной экстракции или нормально-фазовой ВЭЖХ.

Имеется подробное описание анализа фракции насыщенных углеводородов, но все еще отсутствует хорошая характеристика ароматической фракции. Это противоречит тому утверждению, что токсичность ароматической фракции значительно выше, чем фракции насыщенных углеводородов.

Ароматическая и полициклическая ароматическая фракции содержат незамещенные двух- и шестикольцевые ПАУ, алкилзамещенные ПАУ, гетероциклические ПАУ (например, дибензотиофен), алкилзамещенные гетероциклические ПАУ и, возможно, более полярные производные, такие как гидрокси-ПАУ, amino-ПАУ и нитро-ПАУ. Из-за их сложности требуется техника разделения с высоким разрешением. Фракции насыщенных и ароматических углеводородов обычно анализируются с помощью ЖХ-ЖХ или ЖХ-ЖХ/МС, но в качестве превосходной дополнительной методики можно рассматривать также комплексную ЖХ-ЖХ, в особенности из-за того, что она позволяет легко анализировать ПАУ с высокой молекулярной массой (шестикольцевые) и выполнять очень чувствительное селективное детектирование на основе флуоресценции.

Сочетание двух режимов разделения, таких как разделение по числу колец и разделение по гидрофобности, может быть особенно полезно при определении профилей ароматической фракции в нефтепродуктах. В этой методической информации показан ЖХ-ЖХ подход с использованием системы Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ.

Экспериментальная часть

Пробы и пробоподготовка

Раствор эталонных веществ с 16 растворенными ПАУ в ацетоне/бензоле, каждый в концентрации 2 мг/мл (смесь ПАУ 25, Dr. Ehrenstorfer, Аугсбург, Германия) был разведен в ацетоне до 10 мкг/мл.

Из пробы сырой нефти была выделена полиароматическая фракция с использованием фазового разделения жидкость-жидкость между гексаном и нитрометаном.

Проба сырой нефти массой 100 мг была растворена в 5 мл гексана. После растворения было добавлено 5 мл нитрометана и была выполнена жидкость-жидкостная экстракция. Расположенная сверху фракция гексана содержала фракцию насыщенных углеводородов. Расположенный снизу слой нитрометана, который содержал более полярную ароматическую фракцию, был собран для анализа. Для проб сырой нефти ароматическая фракция обычно составляет от 5 до 30 % пробы¹.

Оборудование

Для проведения экспериментов использовалась система Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ в следующей конфигурации.

- Бинарный насос Agilent 1290 Infinity для первого измерения (G4220A)
- Бинарный насос Agilent 1290 Infinity для второго измерения (G4220A)
- Автосамплер Agilent 1290 Infinity (G4226A)
- Термостат Agilent 1290 Infinity (G1330A)
- Термостат отсека для колонок Agilent 1290 Infinity (G1316C)
- Диодно-матричный детектор Agilent 1290 Infinity со стандартной проточной кюветой (G4212A)
- Флуоресцентный детектор Agilent 1260 Infinity (G1321B)
- Привод крана Agilent 1290 Infinity (G1170A)
- 2-позиционный/4-портовый двойной кран для 2D-ЖХ Agilent 1290 Infinity (G4236A)

Программное обеспечение

- Программное обеспечение Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition версии C.01.07 и программное обеспечение 1290 Infinity 2D-LC версии A.01.02
- Программное обеспечение GC Image LCxLC Edition для анализа данных 2D-ЖХ (GC Image, LLC., Линкольн, Небраска, США)

Методика

Первое измерение	
Колонка	Agilent ZORBAX SB-CN, 2,1 × 150 мм, 5 мкм (кат. № 883700-905)
Растворитель А	Вода
Растворитель В	Метанол
Скорость потока	100 мкл/мин
Градиент	40 %В при 0 минут 100 %В при 80 минутах 100 %В при 85 минутах
Время постобработки	10 минут при 40 %В
Температура колонки	40 °С
Второе измерение	
Колонка	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH, 3,0 × 50 мм, 1,8 мкм (кат. № 959757-318)
Растворитель А	Вода
Растворитель В	Ацетонитрил
Скорость потока	2 мл/мин
Скорость потока во время ожидания	0,3 мл/мин
Начальный градиент	От 50 до 70 %В от 0 до 0,35 минуты 70 %В от 0,35 до 0,40 минуты 50 %В при 0,41 минуты
Модуляция градиента	от 50 %В при 0 минут до 100 %В при 70 минутах от 70 %В при 0,35 минуты до 100 %В при 55 минутах
Температура колонки	40 °С
Модуляция	
Модуляция включена	от 7 до 85 минут
Петли	Две петли 60 мкл, конфигурация совместных потоков
Время модуляции	0,50 минуты
Вводимый ^а	
Объем	1 мкл (программа ввода, смесь с водяной пробкой 1 мкл)
Промывка иглы	5-секундная промывка порта (метанол/ацетон)
Детектирование на основе диодной матрицы ^б	
Длина волны	Сигнал 220/10 нм
Скорость передачи данных	80 Гц
Детектирование ФЛД ^б	
Длина волны	Режим нескольких излучений Сигнал А: Ex 260 нм/Em 350 нм Сигнал В: Ex 260 нм/Em 430 нм Сигнал С: Ex 260 нм/Em 500 нм
Скорость передачи данных	37,04 Гц
Усиление PMT	7

^а Пробы вводились вместе с водяной пробкой, чтобы избежать уширения/разделения пиков из-за влияния сильного растворителя проб.

^б На выходе из колонки для второго измерения был установлен тройник с нулевым мертвым объемом для разделения потока на ДАД и ФЛД. Для соединения с детекторами использовались красные капилляры РЕЕК диаметром 0,12 мм. Длина капилляров от тройника до ФЛД была в два раза больше, чем до ДАД, что дало коэффициент разделения DAD/ФЛД приблизительно 2:1.

Результаты и обсуждение

ЖХ-анализ ПАУ обычно выполняется с использованием специальных колонок для ПАУ и детекторов на диодной матрице или ФЛД. Использование данных колонок с градиентами воды/ацетонитрила позволяет выполнить полное разделение 16 наиболее важных незамещенных углеводородов. Когда проба анализируется в других обращенно-фазовых системах (другие колонки, другие подвижные фазы), обычно происходит некоторое коэлюирование, но большая часть аналитов все-таки разделяется. Анализ ПАУ в пробах более сложного состава (число ПАУ или сложность матрицы) вызывает значительно большие затруднения и требует большей хроматографической селективности и способности разделения, а также по возможности лучшей селективности обнаружения. Сравнение одномерного анализа стандартной смеси 16 ПАУ и экстракта сырой нефти в первом измерении на колонке ZORBAX SB-CN приведено на рис. 1 (условия хроматографирования отличаются от конечных условий ЖХ-ЖХ). Очевидно, что сложность реальных проб слишком высока для одномерного разделения. Причина сложности проб состоит в том, что в сырой нефти содержатся как замещенные, так и незамещенные ПАУ, а также еще и гетероциклические ПАУ. Замещенные ПАУ, как правило, включают алкилированные ПАУ и, с учетом различий в степени замещения, длине алкильных цепей, разветвленности и положения замещения, составляют большую группу растворенных веществ. Все это приводит к высочайшей сложности, и не существует какой-либо хроматографической методики, при использовании которой можно было бы достичь полного разрешения для всех возможных отдельных соединений. Для характеристики полиароматической фракции важно получить сведения о числе ароматических колец, относительной степени замещения и возможном наличии более полярных ПАУ.

В выбранной колонке SB-CN для первого измерения получено интересное разделение. Порядок элюирования в примененных условиях для 16 ПАУ значительно отличается от нормального порядка при анализе ПАУ по классическому варианту SB-CN (см. табл. 1). Это открывает перспективы для ортогональности настройки 2D-ЖХ.

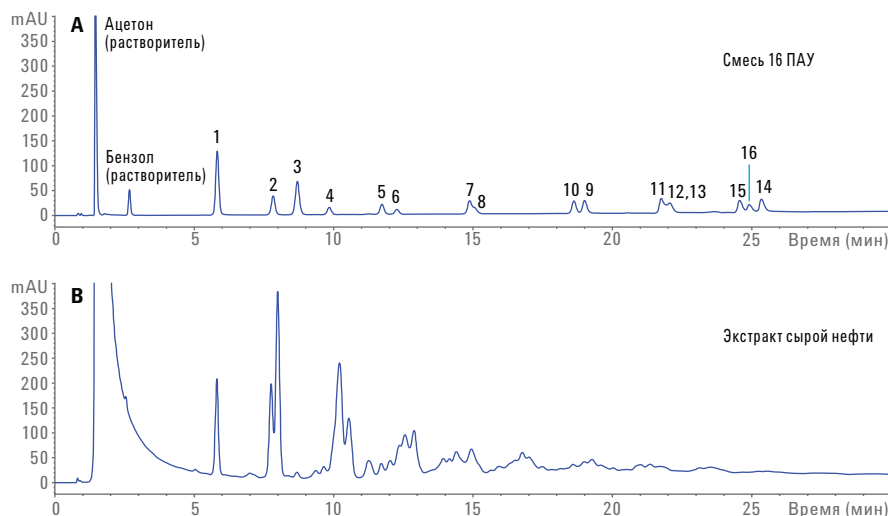


Рис. 1. Сравнение одномерного анализа стандартной смеси ПАУ и экстракта пробы Колонка: Agilent ZORBAX SB-CN, 2,1 × 150 мм, 5 мкм, скорость потока: 0,3 мл/мин, градиент: 40–100 % метанола в воде, 0–40 минут. Идентичность пиков: см. табл. 1.

Таблица 1. Идентификация пиков для 16 ПАУ (номера пиков назначены в соответствии с порядком элюирования в колонке ПАУ)

Номер пика	Соединение
1	Нафталин
2	Аценафтилен
3	Аценафтен
4	Флуорен
5	Фенантрен
6	Антрацен
7	Флуорантен
8	Пирен
9	Бензо(а)антрацен
10	Хризен
11	Бензо[б]флуорантен
12	Бензо[к]флуорантен
13	Бензо(а)пирен
14	Дибензо(аh)антрацен
15	Бензо(ghi)перилен
16	Индено(1,2,3-с,d)пирен

Адаптированные условия хроматографирования и переход на оборудование УВЭЖХ могли бы повысить разрешение экстракции сырой нефти, но для существенного увеличения количества пиков более эффективна 2D-ЖХ. Была создана комбинация колонки ZORBAX SB-CN, в которой при первом измерении в качестве подвижной фазы используется вода/метанол, с классическими настройками анализа ПАУ во втором измерении (колонка PAFN Eclipse с водой/ацетонитрилом в качестве подвижной фазы). В колонке для ПАУ было получено лучшее разделение в группе с одинаковым числом колец (например, изомеры бензофлуорантена).

Контурные графики ЖХ-ЖХ для ПАУ, полученные с помощью детектора на диодной матрице при использовании сочетания SB-CN/Eclipse PAFN, показаны на рис. 2В. Их можно сравнить с рис. 2А, где показано одномерное разделение на колонке SB-CN. Лучшее разделение было получено для фенантрена/антрацена, бензо(а)антрацена/хризена и бензофлуорантенов. Полного разделения не удалось достичь только для бензо(ghi)перилена и индено(1,2,3-сd)пирена. Далее ароматическая фракция нефтепродуктов анализировалась с использованием тех же условий. Контурный график ЖХ-ЖХ показан на рис. 2С.

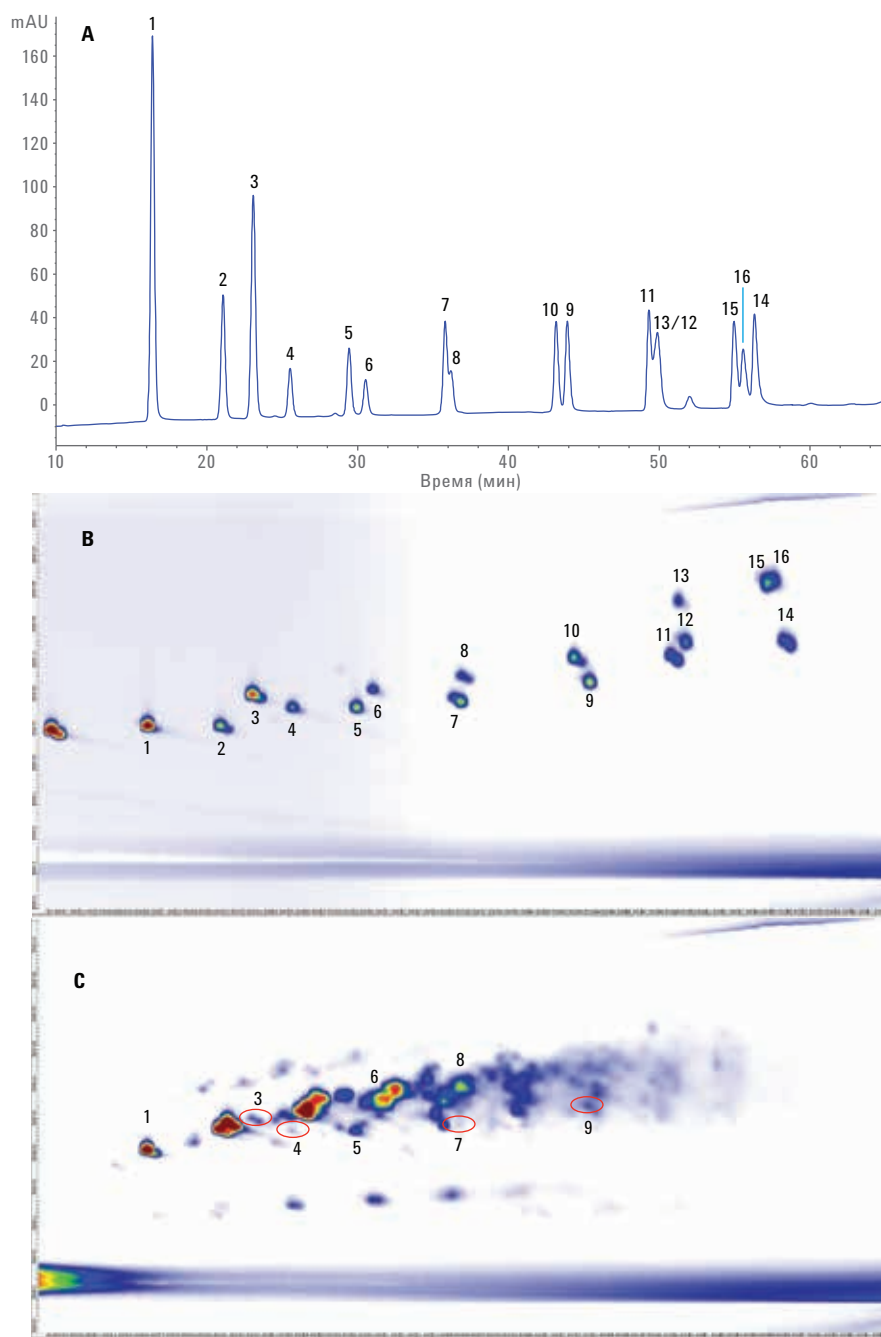


Рис. 2. Сравнение этапа 1D-ЖХ для стандартной смеси (А), ЖХ-ЖХ для стандартной смеси (В) и ЖХ-ЖХ для пробы (С). Сигнал: детектор на основе диодной матрицы, 220 нм.

На рис. 3, рис. 4 и рис. 5 показаны результаты ЖХ-ЖХ с ФЛД при использовании других длин волн излучения. Четко детектируются некоторые дополнительные серии соединений (возможно, замещенные ПАУ). В качестве примера имеется серия соединений, которая элюируется раньше незамещенных ПАУ в колонке для второго измерения. Это четко видно при использовании ФЛД. Существует также значительное число соединений в стандартной смеси, которые в большей или меньшей степени рассеиваются вокруг ПАУ. Идентификация дополнительных соединений в экстракте нефтепродуктов потребует дальнейшего исследования с использованием, например, перехода к МС с ионизацией при атмосферном давлении, однако по их рисунку можно предположить, что они являются алкилзамещенными ПАУ. Эти результаты четко показывают высокую сложность фракции ПАУ в неочищенной нефти.

Хотя многие соединения остаются нераспознанными, результаты четко демонстрируют потенциал системы Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ для данного типа анализа.

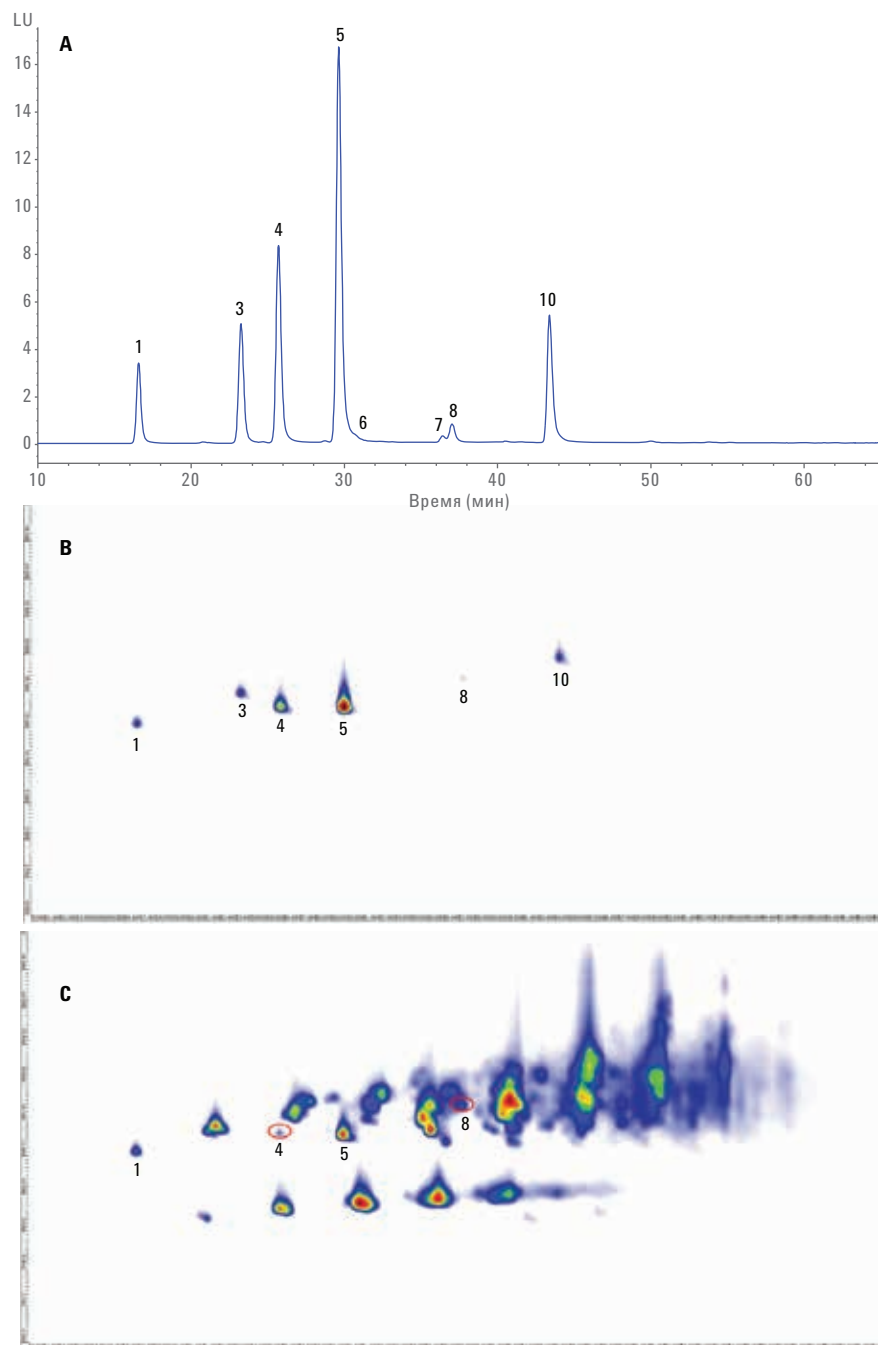


Рис. 3. Сравнение этапа 1D-ЖХ для стандартной смеси (А), ЖХ-ЖХ для стандартной смеси (В) и ЖХ-ЖХ для пробы (С). Сигнал: ФЛД, Ex 260 нм/Em 350 нм.

Выводы

Данная методическая информация показывает потенциал системы Agilent 1290 Infinity 2D-ЖХ для определения ПАУ в ароматической фракции нефтепродуктов при использовании в сочетании с диодно-матричным и флуоресцентным детектированием. Методика полезна при определении ПАУ в сырой нефти, битуме и других нефтепродуктах. Сочетание представленной методики 2D-ЖХ с МС с ионизацией при атмосферном давлении должно упростить дальнейшее уточнение структуры определяемых ПАУ-соединений.

Литература

1. EFSA Journal 2012; 10(6):2704, European Food Safety Authority <http://www.efsa.europa.eu/fr/search/doc/2704.pdf>

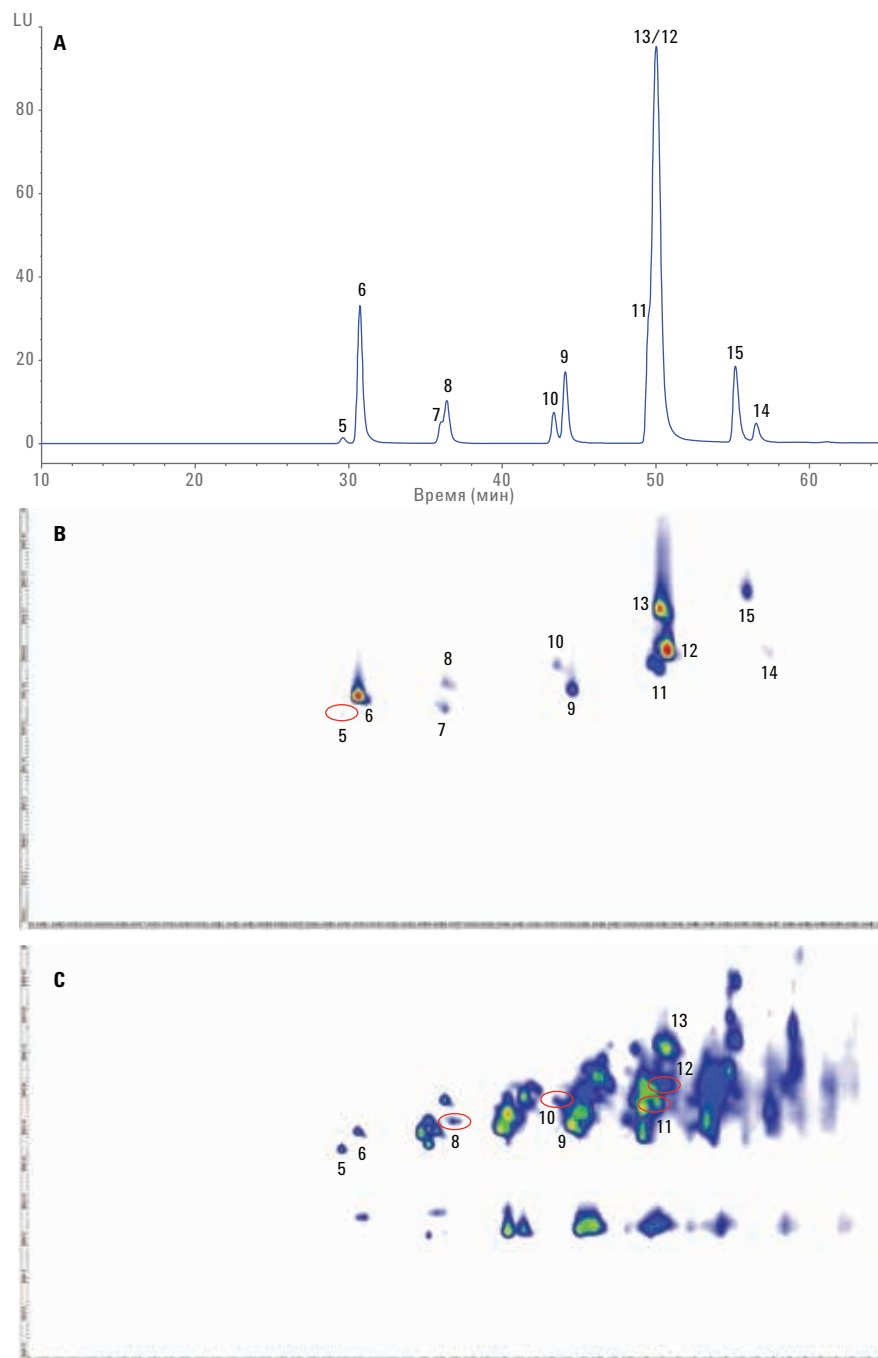


Рис. 4. Сравнение этапа 1D-ЖХ для стандартной смеси (А), ЖХ-ЖХ для стандартной смеси (В) и ЖХ-ЖХ для пробы (С). Сигнал: ФЛД, Ex 260 нм/Em 430 нм.

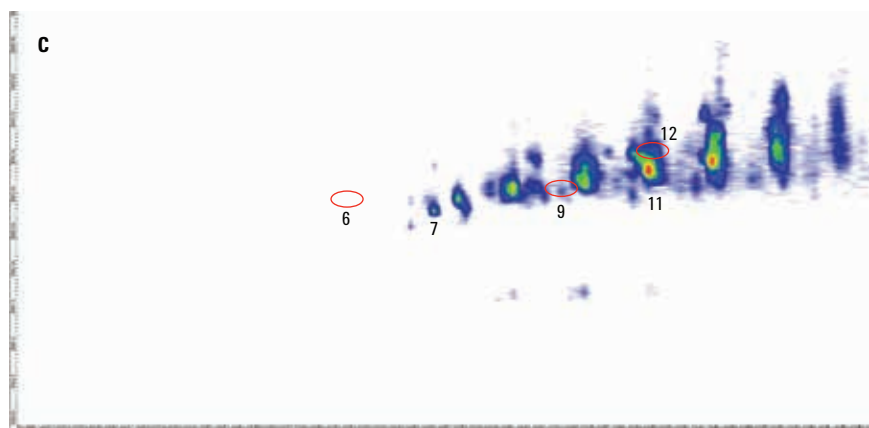
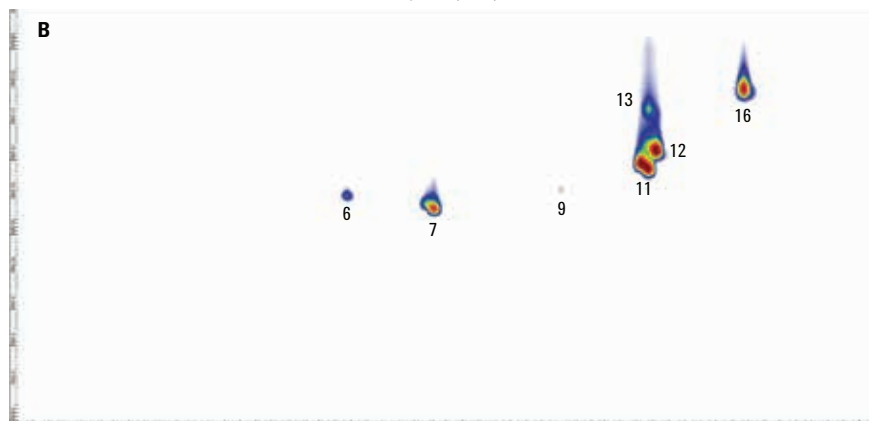
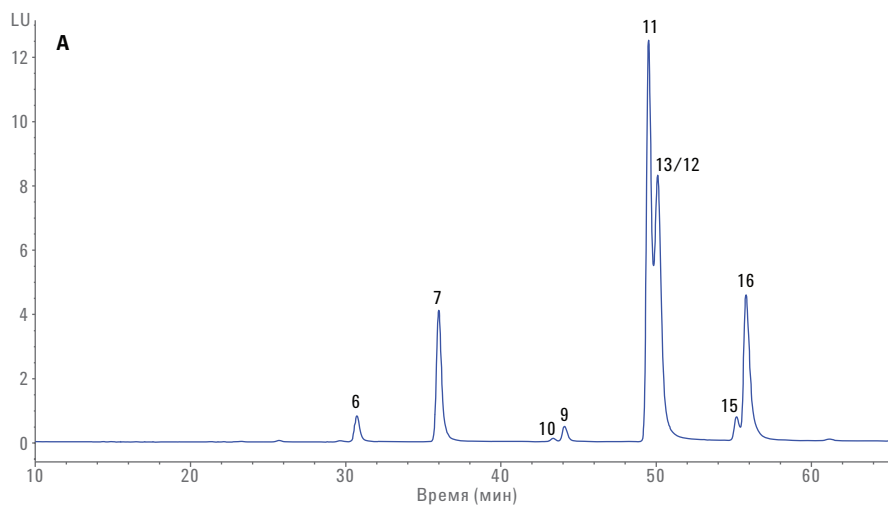


Рис. 5. Сравнение этапа 1D-ЖХ для стандартной смеси (А), ЖХ-ЖХ для стандартной смеси (В) и ЖХ-ЖХ для пробы (С). Сигнал: ФЛД, Ex 260 нм/Em 500 нм.

www.agilent.com/chem

Информация в этом документе может быть изменена без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
Напечатано в США 1 марта 2015 г.
5991-5619RU



Agilent Technologies