

Kapalinová chromatografie s UV detekcí jako nástroj pro simultánní stanovení devíti polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs)

LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH UV DETECTION AS A TOOL FOR SIMULTANEOUS DETECTION OF NINE POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS)

Ondřej Zítka¹, Ondřej Vodička², Vojtěch Adam¹, Petr Babula², Ladislav Havel¹, Marie Kummerová³
Miroslava Beklová², Libuše Trnková³, René Kizek¹

¹Mendelova univerzita v Brně; ²Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně; ³Masarykova univerzita; ⁴Radanal s. r. o.

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) jsou skupinou vysoce hydrofobních aromatických uhlovodíků s nejméně dvěma benzenovými jádry, které vznikají převážně během nedokonalého spalování materiálů obsahujících uhlík. V čisté formě se většinou jedná o bílé nebo nažloutlé krystalické látky. Tyto látky se v prostředí vyskytují hlavně díky antropogennímu působení zejména formou průmyslové výroby. Velké nebezpečí představuje také kouření, které je zdrojem intoxikace PAHs. Cílem naší práce bylo optimalizovat HPLC metodu pro simultánní detekci fluoranthenu, pyrenu, benz[*a*]pyren, antracenu, naftalenu, benzo[*a*]antracenu, methylantracenu, trifenyleny a coronenu jako sloučenin zařazených do třídy polutantů životního prostředí s potenciální možností kumulace v hospodářsky významných plodinách a následným začleněním do potravního řetězce, kde se již PAHs vyskytují (zejména v uzených potravinách, grilovaném mase).

Materiál a metody

Všechny použité chemikálie byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (USA), pokud není uvedeno jinak. HPLC systém byl složen ze dvou chromatografických pump a chromatografické kolony s reverzní fází Gemini NX C18 (100 × 2,0; velikost částic 3 μm, Phenomenex, USA) a UV detektoru. Vzorek (20 μl) byl injektován automaticky pomocí autosampleru. Standardy PAHs byly připraveny rozpuštěním 1 mg látky v 1 ml čistého metanolu.

Výsledky a diskuze

V naší práci jsme optimalizovali několik experimentálních podmínek pro simultánní stanovení devíti PAHs a to fluoranthenu, pyrenu, benz[*a*]pyren, antracenu, naftalenu, benzo[*a*]antracenu, methylantracenu, trifenyleny a coronenu. Svou pozornost jsme zaměřili na teplotu, průtok a složení mobilní fáze a jejich vliv na rychlost analýzy, rozlišení signálů separovaných látek a citlivost metody. Na základě výrazné hydrofobicity studovaných látek jsme pro analýzu použili krátkou kolonu a mobilní fázi složenou z vodné a organické složky. Jako vodnou složku jsme testovali kyselinu mravenčí a kyselinu octovou. Pro naše účely byla vybrána kyselina octová o koncentraci 0,1 M. Dalším faktorem, který ovlivňoval retenci látek, byla teplota. Nejlepších podmínek

pro separaci bylo dosaženo při teplotě 25 °C. Průtok mobilní fáze byl zvolen 0,3 ml.min⁻¹. Při tomto průtoku byly získány záznamy s nevhodnějším rozlišením a zpětný tlak v celém systému se pohyboval okolo 170 bar. Z důvodu heterogenity studovaných sloučenin jsme zvolili lineárně vzestupný gradient s mobilní fází. Detekce separovaných látek probíhala na UV detektoru při 275 nm s ohledem na absorpční maxima, zejména fluoranthenu a pyrenu. Limity detekce se pohybovaly v submikrogramových množstvích na ml pro všechny studované PAHs. Celková doba analýzy spolu s potřebnou regenerací kolony nepřekročila 25 minut a eluce všech studovaných látek proběhla do 15 minut. Námí zoptimalizovaná metoda může být velmi vhodným nástrojem pro studování vlivu PAHs na rostlinný organizmus.

Poděkování: Tato práce byla podpořena grantem GA ČR 522/09/0239, MSM 6215712402, Výzkumné centrum 1M06030 a INCHEM BIOL MSM0021622412.

Zítka O., Vodička O., Adam V., Babula P., Havel L., Kummerová M., Beklová M., Trnková L., Kizek R.: Liquid chromatography with UV detection as a tool for simultaneous detection of nine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) belong to the most frequently occurring organic pollutants in environment besides polychlorinated compounds. Their influence on organisms is relatively well understood in animals especially humans. On the other hand, the influence of PAHs on plants has not yet been adequately explained and described. In this study, we have attempted to develop a rapid method of high performance liquid chromatography (HPLC) using chromatographic columns with reversed phase and UV detection for rapid separation and simultaneous determination of nine polycyclic aromatic hydrocarbons fluoranthene, benzo[*a*]pyrene, pyrene, naphthalene, anthracene, benzo[*a*]anthracene, methylantracene, triphenylene and coronene. The detection limit ranged down to sub-micrograms per ml for all studied PAHs.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), high performance liquid chromatography (HPLC), optimization, environmental analysis.

Kontaktní adresa – Contact address:

Mgr. Ondřej Zítka, Mendelova univerzita v Brně, Ústav chemie a biochemie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: zitkao@seznam.cz