

## Stanovenie polycyklických aromatických uhľovodíkov v kvapalných údiacich preparátoch plynovou chromatografiou

RUŽENA UHEROVÁ — JÁN HRIVŇÁK — VLADIMÍR SMIRNOV

**Súhrn.** Stanovili sa podmienky identifikácie polycyklických aromatických uhľovodíkov vo frakciách drevného dechtu pomocou GLC na kapilárnej kolóne. Kapilárna kolóna bola dlhá 40 m, zmáčaná metylfenylsilikónovou stacionárnou fázou SE-52. Vlastnému stanoveniu predchádzala separácia tenkovrstvovou chromatografiou. Použili sa liate platne so sorbentom Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Extrakcia z tenkovrstvého materiálu sa robila dichlórmetánom.

Plynovochromatografické záznamy vzoriek sa kvantitatívne vyhodnotili zvýšením elučných vln polycyklických aromatických uhľovodíkov pridaním štandardnej zmesi polycyklických aromatických uhľovodíkov. Na kvantitatívne vyhodnotenie obsahu polycyklických aromatických uhľovodíkov sa použila identifikácia in situ na platni pomocou u.f. žiarenia v kombinácii s plynovou chromatografiou. V súhlase s Kadarom a kol. [2] sa stanovila citlivosť metódy, 50 ng. Vzorka A6-2.2 ( $n = 100$  ml) nevykazovala v oblasti polycyklických aromatických uhľovodíkov fluorescenciu, z čoho možno usudzovať, že koncentrácia sumy polycyklických aromatických uhľovodíkov vo vzorke je menšia ako 50 ng v 100 ml, čo zodpovedá 0,5  $\mu\text{g/l}$ . Pre  $\delta$  benzo(a)pyrén sa z príslušnej výšky elučnej vlny zaznamenala hodnota 2  $\mu\text{g}$  v 100 ml vzorky, t. j. 0,2  $\mu\text{g/l}$ , čo je hodnota podstatne nižšia ako prípustné množstvo stanovené zdravotníckou službou NSR — 1  $\mu\text{g/l}$ .

Zo zaznamenaných výsledkov vyplýva, že sledovaná frakcia drevného dechtu by ako kvapalný údiaci preparát vyhovovala i po hygienickej stránke.

Stanoveniu polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) sa v súčasnosti venuje veľká pozornosť. Táto skutočnosť vyplýva predovšetkým z ochrany životného prostredia a súvisí aj s prevenciou proti niektorým vážnym civilizačným ochoreniam.

---

Ing. Ružena Uherová, CSc., Katedra Chémie a technológie sacharidov a potravín Chemickotechnologickej fakulty SVŠT, Ing. Vladimír Smirnov, CSc., Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

Ing. Ján Hrivňák, CSc., Katedra zdravotného inžinierstva, Stavebná fakulta SVŠT, Radlinského 11, 813 68 Bratislava.

Problematika sa dostáva do popredia s rozvojom priemyslu, energetiky, dopravy i hustoty osídlenia, pretože stúpa spotreba uhlia, ropy a benzínu, čím sa zároveň zamoruje ovzdušie, vody a pôda spalnými produktami, ktoré okrem mnohých látok obsahuje aj PAU. Jednou z ďalších oblastí, v ktorej sa dokázala prítomnosť týchto látok, je udiarenský dym, a teda aj potraviny takto upravované ich vo väčšej či menšej miere viažu.

Dôležitým poslaním bádania v tejto oblasti je spôsob odstránenia karcinogénnych látok z udiarenskej technológie. Jedným zo spôsobov riešenia je uplatnenie údiacich preparátov zbavených PAU, z ktorých mnohé majú karcinogénny účinok. Spoločenskú potrebu takéhoto preparátu zdôrazňuje to, že ide o látky kontrolovaného zloženia, zbavené zdraviu škodlivých zložiek dymu, čím sa odstraňuje jeden z potenciálnych zdrojov rakovinového ochorenia.

Keďže sa na Katedre chémie a technológie sacharidov a potravín v súčasnosti pracuje na príprave tekutého údiaceho preparátu z drevného dechtu, treba sa venovať skúmaniu v oblasti identifikácie niektorých PAU so špeciálnym zameraním na benzo(a)pyrén, ktorého koncentrácia či prítomnosť je mierou hygienickej hodnoty potravín.

Z mnohých metód stanovenia uvedených v odbornej literatúre sme si vybrali chromatografické metódy, a to: tenkovrstvovú chromatografiu a kapilárnu plynovú chromatografiu, ktoré sú veľmi účinné. Vychádzali sme zo skutočnosti, že skupina PAU zahrnuje zlúčeniny rôznorodých funkčných skupín a štruktúr, z čoho vyplýva rozmanitosť fyzikálnochemických vlastností (prchavosť, reaktivnosť, svetelná a tepelná stabilita a pod.).

## Materiál a metódy

PAU sme stanovili vo frakcii drevného dechtu pripravenej na našom pracovisku. Východiskovou surovinou bol drevný decht, získaný z bukového dreva za teploty do 450 °C zo Slovenských lučobných závodov, n. p., Hnúšťa.

Obsah PAU sme sledovali vo frakcii A6-2.2, ktorá bola z hľadiska senzorkého, a teda aj z hľadiska zastúpenia dôležitých zložiek optimálna, čo znamená, že by ako tekutý údiaci preparát vyhovovala.

Na vlastné stanovenie sme použili tieto vzorky:

a) štandardná zmes PAU: naftalén, acenaftén, acenaftylén, fluorén, fenant-rén, antracén, fluorant-rén, pyrén, benzo(a)antracén, chryzén, benzo(b)fluorant-rén, benzo(k)fluorantén, benzo(e)pyrén, benzo(a)pyrén, dibenzo(a,h)antracén, indeno (1,2,3-c,d) pyrén, benzo(g,h,i)perylén — dodávatelia Fluka (Buchs, Switzerland), Aldrich Chem. Co. (Milwaukee, Wis., USA), Analabs, Inc. (North

Haven, Conn., USA), Sigma (St. Louis, Mo., USA) a Carlo Erba (Milano, Italy);

b) frakcia dreveného dechtu A6-2.2.

### Izolácia PAU

Na izoláciu PAU sme použili metódu podľa Tótha a Blaasa [3]. Princíp metódy spočíva vo viacnásobnej extrakcii PAU z tekutého údiaceho preparátu cyklohexánom. Fenolické zložky sa odstránia 8 % NaOH. Ďalej sa extrakt vysuší a zahustí na objem 0,1—0,2 ml.

*Separácia PAU tenkovrstvovou chromatografiou.* Podľa Kadara a kol. [2] sme separáciu PAU robili tenkovrstvovou chromatografiou (TLC). Na prípravu platní sme použili Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> (Merck), ktorý sme naniesli na sklené platne. Hrúbka vrstvy bola 0,1—0,25 mm. Po prečistení platní metanolom a následnej aktivácii (100 °C počas 30 min) sme na štart naniesli zahustený cyklohexánový extrakt (0,1—0,2 ml) vo forme tenkého pásika. Okrem vzorky sme súčasne naniesli štandardný roztok PAU (1 µl) a vzorku obohatenú štandardným roztokom PAU (1 µl).

Platne sme vyvíjali v zmesi benzén : *n*-hexán (1 : 4) 30 min. Detekciu sme robili vizuálne pomocou u.f. žiarenia. Na extrakciu PAU sme použili dichlórmetán.

*Dôkaz a stanovenie PAU plynovou chromatografiou (GLC).* Na stanovenie izolovaných extraktov PAU sme použili plynovú chromatografiu na kapilárnej kolóne. Použili sme plynový chromatograf Fractovap mod. 2350 (Carlo Erba, Milano). Kapilárna kolóna bola pripravená z tvrdého skla značky Pyrex, impregnovaná statickým spôsobom SE-52 ako kvapalnou fázou a kondiciovanou pri 260 °C počas 2-krát 30 min.

#### Podmienky GLC:

detektor	FID
teplota detektora	275 °C
teplota injektora	250 °C
objem vzorky	1 µl
kolóna	sklená kapilára, dĺžka 40 m, vnútorný priemer 0,22 mm, náplň SE-52, nosný plyn dusík, tlak dusíka 90 kPa, teplota kolóny programovaná od 80 °C do 250 °C pri 5 °C/min 16 × 1
citlivosť	16 × 1
zapisovač	Speedomax XL 681, posun papiera 1 m/min

*Vyhodnotenie GLC.* Plynovochromatografické záznamy sme vyhodnocovali metódou štandardného prídavku, a to tak, že sa porovnávali záznamy sledovanej vzorky a vzorky so štandardným prídavkom. Základ pre toto hodnotenie tvoril chromatografický záznam syntetickej zmesi štandardov fy Supelco a Fluka.

## Výsledky a diskusia

Na stanovenie PAU v tekutých údiacich preparátoch sme na základe odborných prác Tótha a Blaasa [3] a Kadara a kol. [2] zvolili separačný a identifikačný systém so zameraním na chromatografické metódy. PAU sme zo vzoriek izolovali kombináciou extrakčných metód: kvapalina—kvapalina a tenkovrstvovou chromatografiou (TLC). Na identifikáciu a kvantitatívne vyhodnotenie jednotlivých PAU sme použili kapilárnu plynovú chromatografiu, ktorá sa podľa mnohých autorov javí v danom prípade dostatočne selektívna. Umožňuje aj potrebné rozlíšenie izomérov, z ktorých mnohé majú rozdielne karcinogénne účinky.

Pri analýze uvedených vzoriek môžu vlny prislúchajúce PAU rušiť iné zložky, od ktorých je preto potrebné PAU oddeliť. Preto je izolácia a separácia dôležitým krokom umožňujúcim stanovenie týchto látok plynovou chromatografiou. Na separáciu PAU od iných zložiek (organické kyseliny, alifatické uhlovodíky,  $-\bar{O}-$ ,  $-\bar{S}-$ ,  $-\bar{N}-$  deriváty PAU) sme použili metódu TLC, ktorá umožňuje prácu s menším množstvom sledovanej vzorky a delenie je účinnejšie ako pri použití napr. stĺpcovej chromatografie. Na delenie sme použili sorbent silikagél [2]. Najlepšie výsledky sme dosiahli na silikagéli Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>.

Kritickým krokom v tejto časti práce bola extrakcia oddelených PAU z tenkovrstvového materiálu. Dobré sa osvedčilo použitie dichlórmétánu v množstve 4 ml.

Ďalej sme sa zamerali na výber kapilárnej chromatografickej kolóny, ktorá musí byť dostatočne selektívna a účinná. Zadržiavanie látok na kolóne závisí od hrúbky filmu kvapalnej fázy. Vyššie frakcie PAU najlepšie eluujú na kolónach s tenkým filmom. V praxi treba voliť kompromis medzi rozsahom bodov varu PAU a zadržiavaním látok na kolóne, účinnosťou, inerciou a termickou stabilitou [1]. Keďže pre vysoké teploty najlepšie vyhovujú tvrdé borosilikátové sklá, použili sme v našej práci kapilárnu kolónu zo skla Pyrex.

*Vyhodnotenie chromatografických záznamov.* Identifikáciu sledovaných látok sme robili kapilárnou plynovou chromatografiou pomocou štandardnej zmesi

PAU a charakterizovali sme 17 elučných vln v tomto poradí: naftalén, acenaftén, acenaftylén, fluorén, fenantrén, antracén, fluorantrén, pyrén, benzo(*a*)antracén, chryzén, benzo(*b*)fluorantén, benzo(*k*)fluorantén, benzo(*e*)pyrén, benzo(*a*)pyrén, dibenzo(*a,h*)antracén, indeno(1, 2, 3-*c,d*)pyrén, benzo(*g,h,i*) perylén. Chromatografické záznamy identifikácie PAU sú na obrázkoch 1—3. Na obrázku 1 je chromatogram štandardnej zmesi PAU, z ktorého vyplýva, že vysokoúčinná kapilárna plynová chromatografia umožňuje separáciu všetkých študovaných PAU. Elučné vlny zodpovedajúce jednotlivým PAU uvádza tabuľka 1.

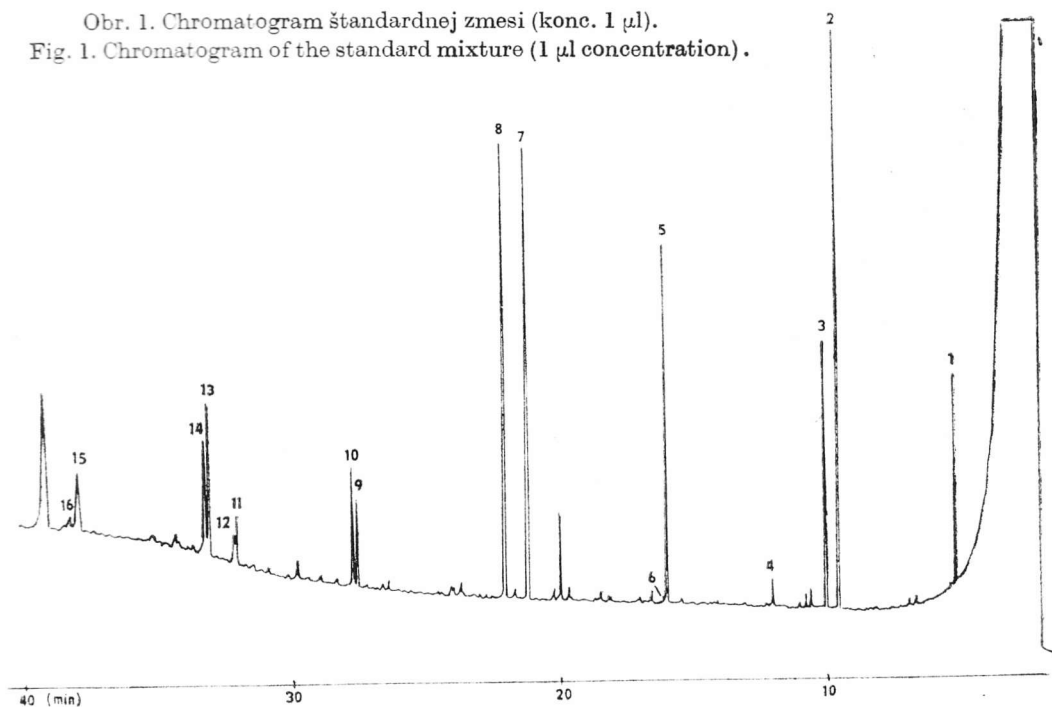
Tabuľka 1. Obsah PAU vo frakcii drevného dechtu A6-2.2  
Table 1. Content of polycyclic aromatic hydrocarbons in the  
A6-2.2. wood tar fraction

Zlúčenina <sup>1</sup>	Číslo vlny <sup>19</sup>	Koncentrácia menej ako <sup>20</sup> [ng/l]
naftalén <sup>2</sup>	1	30
acenaftén <sup>3</sup>	2	90
acenaftylén <sup>4</sup>	3	42
fluorén <sup>5</sup>	4	4
fenantrén <sup>6</sup>	5	55
antracén <sup>7</sup>	6	—
fluorantrén <sup>8</sup>	7	70
pyrén <sup>9</sup>	8	71
benzo ( <i>a</i> ) antracén <sup>10</sup>	9	15
chryzén <sup>11</sup>	10	19
benzo ( <i>b</i> ) fluorantén <sup>12</sup>	11	8
benzo ( <i>k</i> ) fluorantén <sup>13</sup>	12	5
benzo ( <i>e</i> ) pyrén <sup>14</sup>	13	24
benzo ( <i>a</i> ) pyrén <sup>15</sup>	14	18
dibenzo ( <i>a,h</i> ) antracén <sup>16</sup>	15	9
indeno (1,2,3- <i>c,d</i> ) pyrén <sup>17</sup>	16	2
benzo ( <i>g,h,i</i> ) perylén <sup>18</sup>	17	22
Σ PAU		484 ng

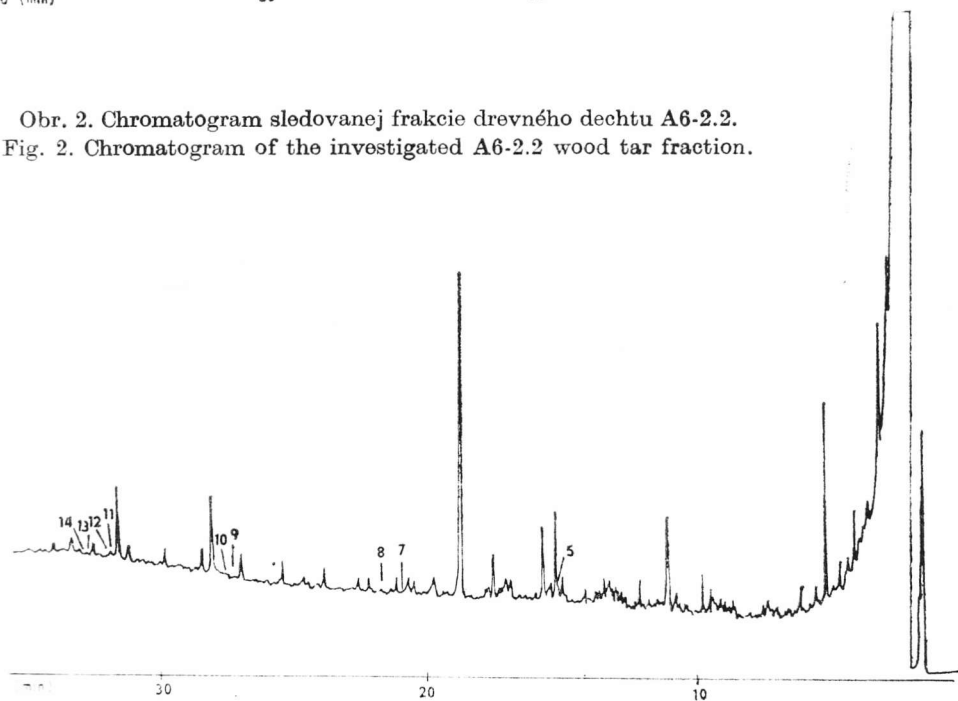
<sup>1</sup>Compound; <sup>2</sup>Naphthalene; <sup>3</sup>Acenaphthene; <sup>4</sup>Acenaphthylene; <sup>5</sup>Fluorene; <sup>6</sup>Phenanthrene; <sup>7</sup>Anthracene; <sup>8</sup>Fluoroanthrene; <sup>9</sup>Pyrene; <sup>10</sup>Benzo (*a*) anthracene; <sup>11</sup>Chrysene; <sup>12</sup>Benzo (*b*) fluoroanthene; <sup>13</sup>Benzo (*k*) fluoroanthene; <sup>14</sup>Benzo (*e*) pyrene; <sup>15</sup>Benzo (*a*) pyrene; <sup>16</sup>Dibenzo (*a,h*) anthracene; <sup>17</sup>Indeno (1,2,3-*c,d*) pyrene; <sup>18</sup>Benzo (*g,h,i*) perylene; <sup>19</sup>Wave No; <sup>20</sup>Concentration smaller than.

Na obrázku 2 je chromatogram sledovanej frakcie drevného dechtu po separácii TLC. Ďalej sa uvádza záznam tej istej vzorky obohatenej štandardným prídavkom PAU (obr. 3). Ako vidieť zo záznamov identifikovali sme podľa retenčných časov tieto PAU: 5, 7—14, čiže fenantrén, fluorantén, pyrén, benzo(*a*)antracén, chryzén, benzo (*b*)fluorantén, benzo(*k*)fluorantén, benzo(*e*)pyrén, benzo(*a*)pyrén. Zvláštnu pozornosť sme venovali benzo(*a*)pyrénu (elučná vlna 14), ktorého prítomnosť je z hygienického hľadiska dominujúca.

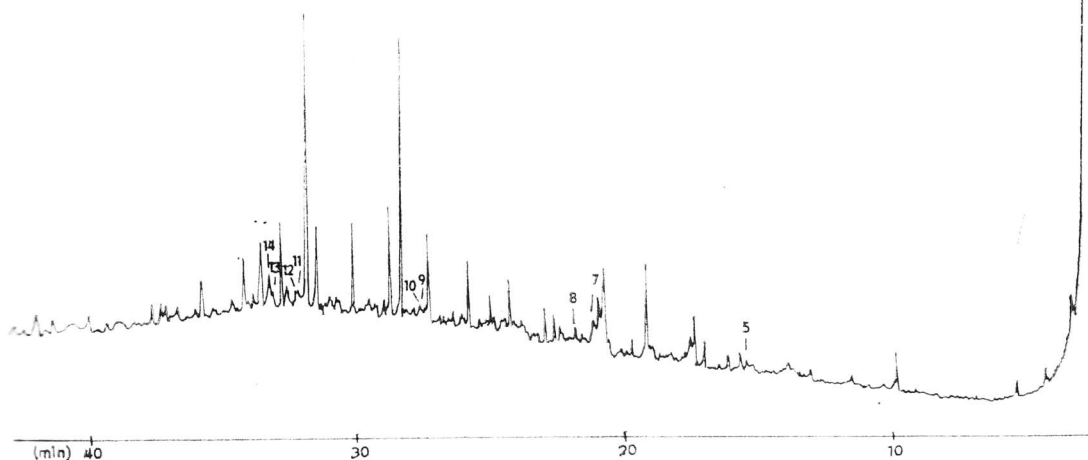
Obr. 1. Chromatogram štandardnej zmesi (konc. 1  $\mu$ l).  
 Fig. 1. Chromatogram of the standard mixture (1  $\mu$ l concentration).



Obr. 2. Chromatogram sledovanej frakcie drevného dechtu A6-2.2.  
 Fig. 2. Chromatogram of the investigated A6-2.2 wood tar fraction.

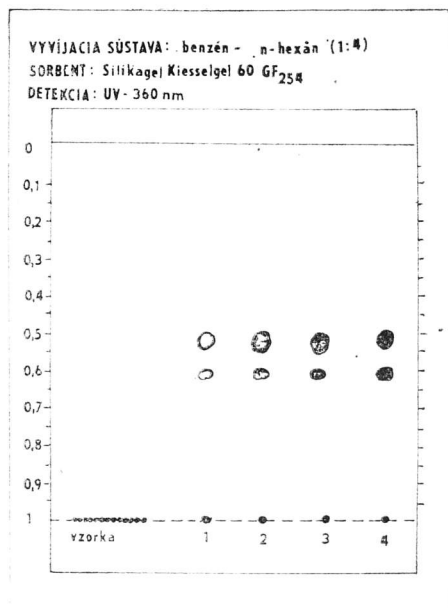


Ako vidieť z príslušných chromatografických záznamov (obr. 2 a 3), obsah tohto PAU bol v sledovanej frakcii A6-2.2, ktorá by zo senzorického hľadiska mohla slúžiť ako tekutý údiaci preparát, veľmi nízky. Preto sme na kvantitatívne vyhodnotenie použili u.f. detekciu na tenkej vrstve v kombinácii s plynovou chromatografiou na kapilárnej kolóne.



Obr. 3. Chromatogram frakcie A6-2.2 obohatenej štandardnou zmesou PAU.

Fig. 3. Chromatogram of the A6-2.2 fraction when added the standard PAH mixture.



Obr. 4. Delenie PAU pomocou TLC.

1 — 48,3 ng, 2—97 ng, 3—242 ng,  
4—483 ng.

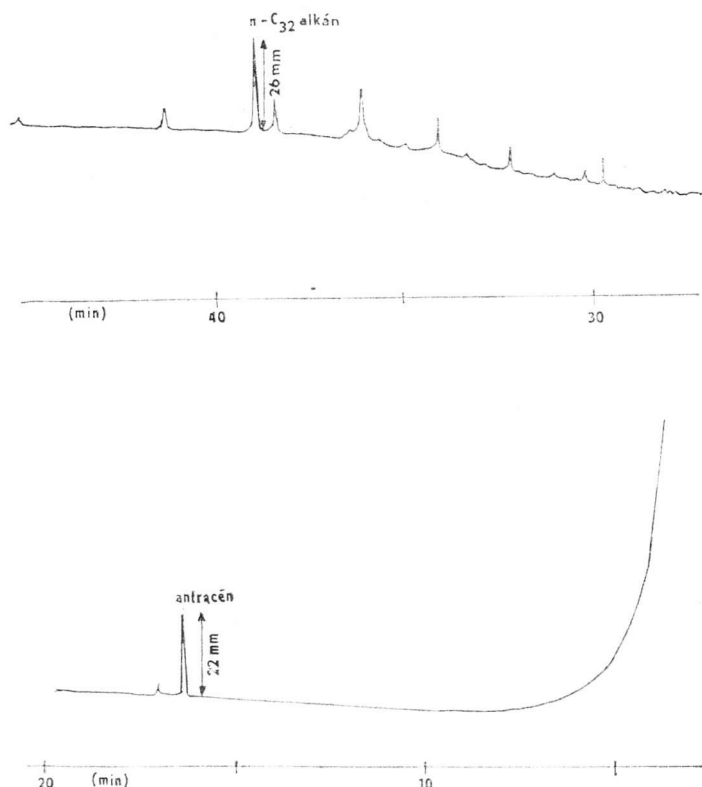
Fig. 4. Division of polycyclic aromatic hydrocarbons by thin-layer chromatography. 1—48.3 ng, 2—97 ng, 3—242 ng, 4—483 ng.

Na silikagélóvu platňu sme naniesli sledovanú frakciu ( $n = 100$  ml) spracovanú podľa uvedeného postupu súčasne so stúpajúcou koncentráciou (1, 2, 5, 10  $\mu$ l) zmesového štandardu PAU (obr. 4).

Detekciu PAU na tenkých vrstvách sme robili pri 360 nm. Vzorka v oblasti škvrín PAU fluorescenciu nevykazovala. Na výpočet sumy PAU v  $\mu$ l štandardnej zmesi sme použili metódu vnútornej štandardizácie. Ako vnútorný štandard sme v tomto prípade použili  $n$ -C<sub>32</sub> alkán a antracén.

Na obrázku 5 sú chromatografické záznamy 1 ng vnútorných štandardov  $n$ -C<sub>32</sub> alkánu a antracénu. Zo záznamov vyplýva, že výška elučných vln zodpovedajúca 1 ng PAU je priemerne 24 mm pri reprodukovateľnosti metódy  $\pm 10$  %.

Metódu vnútornej štandardizácie sme z chromatografického záznamu 1  $\mu$ l štandardnej zmesi PAU (obr. 1) vypočítali sumu PAU. Ako z výpočtov a z obrázku 4 vyplýva, obsah PAU v 100 ml sledovanej vzorky bol menší ako 50 ng, čo je pravdepodobne pod prahom citlivosti metódy.



Obr. 5. Chromatogram 1 ng vnútorných štandardov  $n$ -C<sub>32</sub> alkánu a antracénu.  
Fig. 5. Chromatogram of 1 ng internal standards of  $n$ -C<sub>32</sub> alkane and anthracene.



Tabuľka 1 uvádza takto vypočítaný obsah jednotlivých PAU vo vzorke. Ako z chromatografického záznamu a tabuľky 1 vidieť, elučnej vlne 14 prislúchajúcej benzo(a)pyrénu zodpovedá hodnota 2 ng/100 ml. Keďže táto hodnota je pod prahom citlivosti metódy, môžeme povedať, že obsah benzo(a)pyrénu v sledovanej frakcii drevného dechtu bol podstatne nižší, ako je povolená hodnota — 1 µg/kg.

#### Literatúra

1. HRIVŇÁK, J.: Hydrochémia '81. Bratislava, ČSVTS 1981, s. 257.
2. KADAR, R. — NAGY, K. — FREMSTAD, D.: Talanta, 27, 1980, s. 227.
3. TÓTH, L. — BLAAS, W.: Fleischwirtschaft, 52, 1972, s. 1414.

### Определение полициклических ароматических углеводородов в жидких препаратах для копчения при помощи газовой хроматографии

#### Резюме

Определялись условия идентификации полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в фракциях древесного дегтя при помощи газожидкостной хроматографии на капиллярной колонке. Длина капиллярной колонки составляла 40 м, она постоянно смачивается метилфенилсиликоновой стационарной фазой SE-52. Собственному определению предшествовала сепарация при помощи тонкослойной хроматографии. Были использованы литые пластины с сорбентом силикагелем Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Экстракция из тонкослойного материала производилась дихлорметаном.

Хроматограммы газовой хроматографии образцов подвергались количественной оценке путем повышения волн элюации ПАУ за счет добавления стандартной смеси ПАУ. Для количественной оценки содержания ПАУ была использована идентификация *in situ* на пластинке при помощи УФ излучения в комбинации с газовой хроматографией. В соответствии с авторами Кадар и кол. (2) чувствительность метода была установлена в 50 нг. Образец А6-2.2 (n = 100 мл) в области ПАУ не флюоресцировал, на основании чего можно судить, что концентрация суммы ПАУ в образце меньше, чем 50 нг в 100 мл, что соответствует 0,5 мкг/л. Для самого бензо(а)пирена из соответствующей высоты кривой волны элюации была зарегистрирована величина 2 мкг в 100 мл образца, т. е. 0,2 мкг/л, что является величиной существенно более низкой, чем допустимое количество, установленное службой здравоохранения ФРГ — 1 нг/л.

Из зарегистрированных результатов следует, что изучаемая фракция древесного дегтя в качестве жидкого конти льного препарата могла бы быть удовлетворительной и в гигиеническом отношении.

## Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke-flavour liquid substances by means of gas-liquid chromatography

### Summary

In the paper conditions of identifying polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fractions of wood tar by means of gas-liquid chromatography using the capillary column are defined. The used capillary column was 40 m long and soaked by SE-52 methylphenyl silicon stationary phase. The proper definition was preceded by a separation through thin-layer chromatography using cast plates with the silica gel sorbent — Kieselgel 60 GF<sub>254</sub> (Merck). Dichloromethane was used for extraction from thin-layered material.

Elution polycyclic aromatic hydrocarbon waves were increased by adding the standard PAH mixture, which made it possible to qualitatively evaluate the gas-liquid chromatographic recordings of the samples. The combination of two methods, including the in situ identification on a plate using the ultraviolet radiation and the gas-liquid chromatography, was used for quantitative evaluation of the content of polycyclic aromatic hydrocarbons. Sensitivity of the method was 50 ng, which was in agreement with Kadar et al. [2]. There was no fluorescence observed in the PAH spectrum with the sample A6-2.2 ( $n = 100$  ml), which suggested that the PAH concentration in the sample was smaller than 50 ng in 100 ml, i.e. 0.5  $\mu\text{g/l}$ . From the respective elution wave height benzo(a)pyrene was detected to react the value of 2  $\mu\text{g}$  in 100 ml of the sample, i.e. 0.2  $\mu\text{g/l}$ , which is a value considerable lower than the permissible amount (1  $\mu\text{g/l}$ ) agreed upon by the F.R.G. Health Service.

The obtained results suggest that the wood tar fraction that has been investigated is likely to meet also the sanitary requirements when used as smoke-flavour liquid substance.