

С.Н. Ланин  
(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;  
e-mail: SNLanin@phys.chem.msu.ru)

## ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ НЕФТЕПРОДУКТОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА ПРИМЕРЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВАКУУМНЫХ МАСЕЛ

Рассмотрено влияние эксплуатации минеральных вакуумных масел на их состав. Применение метода нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) даёт возможность проводить групповое разделение и определение ароматических углеводородов в маслах, а также контролировать состав и свойства масел при их использовании. Показано, что состав масла претерпевает значительные изменения в процессе использования. Биолуминисцентное исследование токсичности отработанных масел позволяет оценить их экологическую опасность.

Ключевые слова: нефтепродукты, экологичность, опасность.

S.N. Lanin

## ESTIMATION OF ECOLOGICAL DANGER OF MINERAL OIL BY METHOD OF HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY ON THE EXAMPLE OF MINERAL VACUUM OILS

Influence of operation of mineral Vacuum oils on their structure is considered. Application of normal-phase high performance liquid chromatography (HPLC) makes it possible to perform group separation and determination of aromatic hydrocarbons of oils and to control the composition and properties of the oils during their usage. The oil composition suffers significant changes during usage. A bioluminescence toxicity test enables the express estimation of the ecological harmfulness of oils.

Key words: mineral oil, ecological, danger.

Для решения задач контроля природной среды, в частности содержания органических загрязнителей в водных бассейнах, важное значение имеет определение состава ароматических углеводородов. Последние являются наиболее токсичными компонентами нефтепродуктов, часто содержащихся в промышленных сточных водах [1-4]. Указанная проблема весьма актуальна и с точки зрения контроля эксплуатационных характеристик бензинов, дизельных топлив, масел, так как именно природой и составом ароматических углеводородов, содержащихся в нефтепродуктах, во многом определяются их свойства и сроки эксплуатации [5].

В статье изложены результаты исследования возможности группового разделения ароматических углеводородов минеральных вакуумных масел методом нормально-фазовой ВЭЖХ для решения задач контроля эксплуатационных характеристик нефтепродуктов и изменения их токсичности в результате эксплуатации.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на микроколоночном хроматографе МИЛИХРОМ-4 со шприцевым насосом (регулирование расхода подвижной фазы в интервале  $1 \div 999$  *мкл/мин*) и спектрофотометрическим детектором (спектральный диапазон  $190 \div 360$  *нм*). Стальную колонку  $62 \times 2$  *мм* заполняли суспензионным способом гидроксिलированным силикагелем силасорб-600 с удельной поверхностью  $600$  *м<sup>2</sup>/г* и средним диаметром частиц  $5$  *мкм*. В качестве подвижной фазы применяли осушенный *n*-гексан. Для определения мертвого объема использовали четыреххлористый углерод, который очень слабо сорбируется на поверхности гидроксилированного силикагеля из раствора в *n*-гексане.

В качестве объектов анализа использовали образцы моторного масла ВМ-4 (исходное и отработанное). Перед введением в колонку из образцов масла водой экстрагировали полярные соединения: к  $1$  *мл* масла прибавляли  $50$  *мл* воды и встряхивали  $15$  *мин* в делительной воронке. Через  $24$  *ч* в делительную воронку приливали  $10$  *мл* гексана и органическую фазу отделяли. Затем к  $2$  *мл* полученного гексанового экстракта масла прибавляли  $10$  *мл* осушенного гексана. Полученный раствор масла в *n*-гексане в количестве  $1$  *мкл* вводили в колонку.

Биолюминесцентный тест на токсичность приводили на портативном пробирочном люминометре ЕМЛ/ТЕ. Для приготовления рабочей суспензии навеску лиофильно высушенных фотобактерий суспензировали в  $1$  *мл* 2%-ного раствора NaCl, предварительно охлажденного до  $+5$  °С, затем разбавляли до  $10$  *мл* 3%-ным раствором NaCl и оставляли в холодильнике на  $1$  *ч* при  $+5$  °С, а затем  $0,5$  *мл* этой суспензии разбавляли до  $10$  *мл* 3%-ным раствором NaCl. Для измерения интегральной токсичности  $0,5$  *мл* водной вытяжки масла прибавляли к  $0,5$  *мл* приготовленной рабочей суспензии люминесцентных бактерий и измеряли тушение сигнала через определенные промежутки времени. Для приготовления водной вытяжки  $1$  *мл* масла вносили в  $100$  *мл* воды и оставляли на  $24$  *ч*, затем водную фракцию отделяли.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сложный многокомпонентный состав ароматических углеводородов нефтепродуктов затрудняет решение задач разделения и их индивидуального определения. Для проведения таких исследований обычно применяют метод капиллярной газовой хроматографии. Здесь возникают проблемы разделения, идентификации большого числа веществ и градуировки по каждому индивидуальному компоненту, поэтому эта задача в настоящее время не решена даже для более простых по составу, чем масла, нефтепро-

дуктов - дизельных топлив. Капиллярную газовую хроматографию часто сочетают с предварительным выделением и концентрированием полиароматических углеводородов методами экстракции и адсорбционной хроматографии, как это сделано в случае анализа смазочных масел [5, 6]. Таким образом, при одновременном присутствии большого числа компонентов в анализируемом объекте перспективно групповое (по числу бензольных колец) разделение и определение ароматических углеводородов нефтепродуктов, поскольку вещества с одинаковым числом бензольных колец имеют не только близкие свойства и хроматографические параметры удерживания, но и близкие значения предельно допустимых концентраций [4] в природных объектах.

Для группового разделения ароматических углеводородов исследуемых нефтепродуктов выбрали нормально-фазовый (НФ) вариант ВЭЖХ, который даёт возможность разделить ароматические углеводороды на несколько хроматографических зон по числу бензольных колец [7, 8].

Хроматограмма модельной смеси незамещенных ароматических углеводородов (бензол, нафталин, дифенил, фенантрен, тетрафен), имеющих различное число колец, приведена на рис. 1. Видно, что при использовании в качестве сорбента гидроксилированного силикагеля, а в качестве подвижной фазы осушенного н-гексана наблюдается хорошее разделение смеси на индивидуальные компоненты.

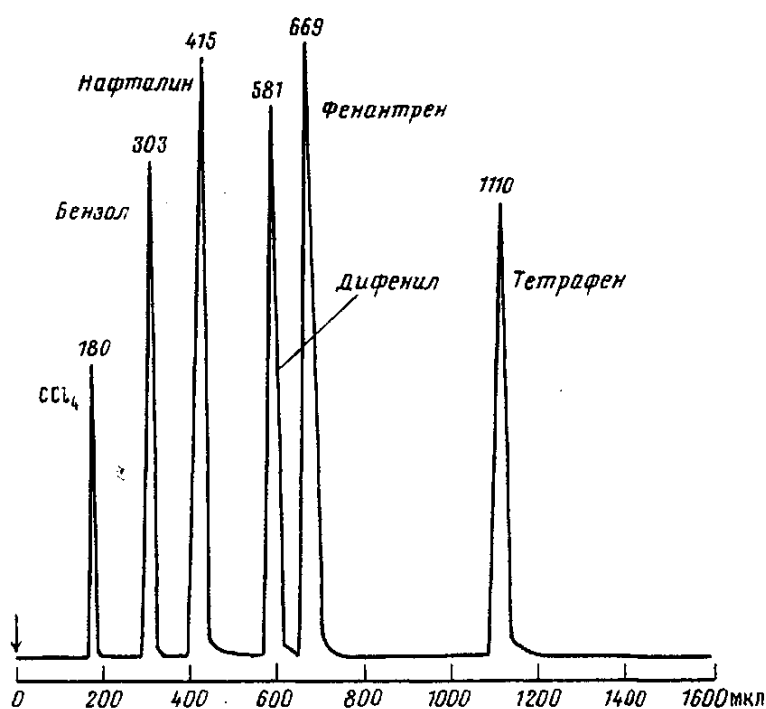


Рис. 1. Хроматограмма модельной смеси (неподвижная фаза - силасорб-600; подвижная фаза - осушенный н-гексан)

Хроматограмма исходного масла ВМ-4, полученная в тех же условиях, приведена на рис. 2. В этом случае наблюдается значительное расширение хроматографических пиков, по сравнению с хроматограммой смеси индивидуальных ароматических углеводородов, из-за содержащихся в маслах полиметил- и алкилзамещенных ароматических углеводородов, так как известно [9-11], что в НФ ВЭЖХ на гидроксилитированном силикагеле полиметилзамещенные ароматические углеводороды удерживаются сильнее, а алкилзамещенные - слабее незамещенных. Из-за расширения хроматографических зон добиться полного разделения хроматографических пиков масла до нулевой линии на обычных аналитических колонках невозможно. Однако путем сопоставления с хроматограммой модельной смеси незамещенных ароматических углеводородов (рис. 1) можно предположить, какой группе углеводородов (с каким числом бензольных ядер) соответствует каждый хроматографический пик.

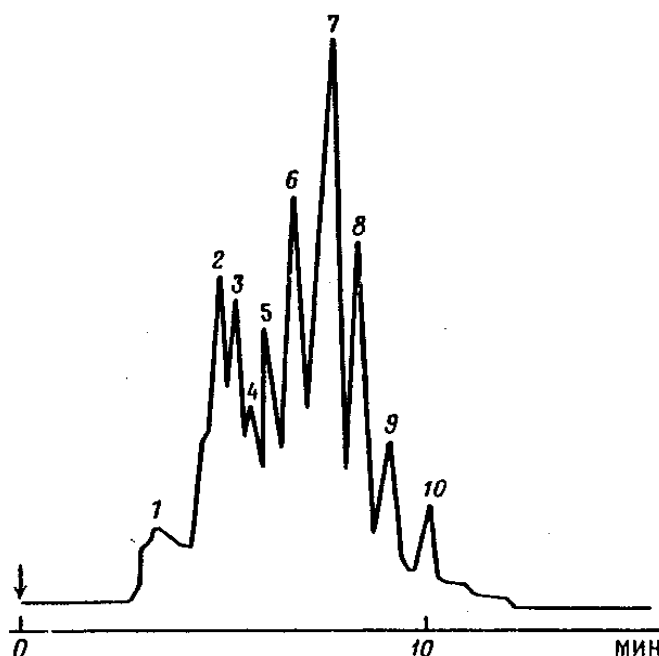


Рис. 2. Хроматограмма неотреботанного масла ВМ-4 (элюент - осушенный н-гексан)

Поскольку исследуемые ароматические углеводороды, особенно с большим числом колец, являются сильными токсикантами, при идентификации полученных при групповом анализе хроматографических пиков целесообразно использовать литературные данные по параметрам удерживания индивидуальных ароматических углеводородов. Так, например, в настоящей статье использованы данные по хроматографическому удерживанию ароматических углеводородов, приведенные в работе [12].

Для идентификации хроматографических пиков по числу бензольных колец из экспериментальных (на основании хроматограммы тестовой

смеси, состоящей из углеводородов с различным числом ароматических колец) (табл. 1) и литературных (табл. 2) данных рассчитывали относительные (к нафталину) коэффициенты емкости ( $k'_{отн}$ ) каждого индивидуального вещества по формуле  $k'_{отн} = k'_i/k'_н$ , где  $k'_i$  и  $k'_н$  – коэффициенты емкости идентифицируемого вещества и нафталина соответственно.

Таблица 1

Параметры хроматографического удерживания модельной смеси (колонка 62×2 мм, неподвижная фаза – гидроксилорированный силасорб-600, подвижная фаза – осушенный гексан)

№	Вещество	$V_r$	$V_r'$	$k'$	$k'/k'_н$
1	CCl <sub>4</sub>	188			
2	Бензол	303	115	0,612	0,507
3	Нафталин	415	227	1,207	1
4	Дифенил	581	393	2,090	1,731
5	Фенантрен	669	481	2,558	2,120
6	Тетрафен	1110	922	4,904	4,063

Примечание:  $V_r$  – хроматографический объём удерживания, мл;

$V_r'$  – исправленный хроматографический объём удерживания, мл

Затем на основании рассчитанных  $k'_{отн,лит}$  и  $k'_{отн,эсп}$  для веществ, входящих в состав тестовой смеси, строили зависимость вида

$$k'_{отн,эсп} = \alpha k'_{отн,лит} - \beta. \quad (1)$$

Коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  рассчитывали по методу МНК. Они составили 1,418 и 0,474 соответственно, коэффициент корреляции близок к единице (0,999), что говорит о практически линейном характере зависимости между этими величинами. Используя эту зависимость (рис. 3), можно легко сравнить экспериментальные значения с имеющимися литературными данными. Затем для каждого хроматографического пика полученных хроматограмм, исходя из объёма удерживания пика, объёмов удерживания несорбируемого вещества и нафталина, рассчитывали относительный коэффициент емкости неизвестного компонента и пересчитывали его, используя коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  уравнения (1), для сопоставления с литературными данными. Рассчитанные значения параметров удерживания приведены в табл. 3, 4. Сопоставляя экспериментальные значения параметров удерживания с литературными данными (табл. 2), идентифицировали пики на полученных хроматограммах. Так, например, из табл. 2 видно, что пику 3 ( $k'_{отн,лит} = 1,897$ ) на хроматограмме исходного масла (рис. 2) соответствует пик 6 ( $k'_{отн,эсп}/\alpha = 1,884$  в табл. 3), что позволяет отнести его к фенантреновой фракции. Таким образом, описанный способ можно успешно применять для идентификации хроматографических пиков при групповом разделении ароматических углеводородов масел.

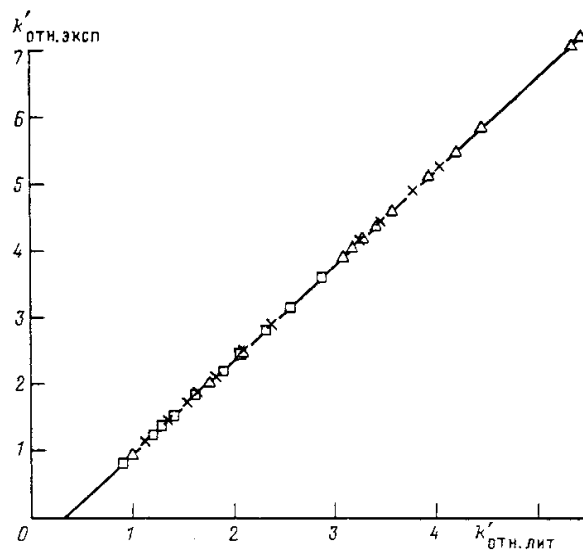


Рис. 3. Корреляционная зависимость экспериментальных ( $k'_{отн.эксп}$ ) и литературных ( $k'_{отн.лит.}$ ) параметров удерживания ( $\Delta$ ) - литературные данные, ( $\square$ ) - исходное масло, ( $\times$ ) - отработанное масло

Таблица 2

Параметры хроматографического удерживания полиароматических углеводородов (колонка  $30 \times 0,4$  см, неподвижная фаза - гидроксированный лихросорб Si-60, подвижная фаза – н-гексан)

№	Вещество	$k'$	$k'_{отн.лит}$
1	Нафталин	0,58	1
2	Антрацен	1,02	1,759
3	Фенантрен	1,10	1,897
4	Пирен	1,21	2,086
5	Тетраден	1,79	3,086
6	Тетрафен	1,84	3,172
7	Хризен	1,90	3,276
8	Трифенилен	1,98	3,414
9	Бенз(а)пирен	2,07	3,569
10	Перилен	2,28	3,931
11	1,2,5,6-Дибензантрацен	3,09	5,328
12	1,2,7,8-Дибензантрацен	3,14	5,414
13	1,12-Бензперилен	2,44	4,207
14	Коронен	2,58	4,448

Таблица 3

Параметры хроматографического удерживания исходного масла ВМ-4  
(колонка 62×2 мм, неподвижная фаза – гидроксिलированный силасорб-600,  
подвижная фаза – осушенный гексан)

№ пика	$V_r$	$k'$	$k'_{отн. эксп} = k'_i/k'_н$	$(k'_{отн. эксп} + \beta)/\alpha$
1	371	0,973	0,806	0,903
2	465	1,473	1,220	1,195
3	496	1,638	1,357	1,291
4	534	1,840	1,524	1,409
5	603	2,207	1,828	1,624
6	687	2,654	2,198	1,884
7	745	2,963	2,454	2,065
8	823	3,378	2,797	2,307
9	902	3,798	3,145	2,553
10	1004	4,340	3,595	2,870

Таблица 4

Параметры хроматографического удерживания отработанного масла ВМ-4ГЗ  
(колонка 62×2 мм, неподвижная фаза – гидроксилированный силасорб-600,  
подвижная фаза – осушенный н-гексан)

№ пика	$V_r$	$k'$	$k'_{отн. эксп} = k'_i/k'_н$	$(k'_{отн. эксп} + \beta)/\alpha$
1	444	1,361	1,128	1,130
2	515	1,739	1,441	1,350
3	578	2,074	1,718	1,546
4	612	2,255	1,868	1,652
5	666	2,543	2,106	1,819
6	754	3,011	2,493	2,093
7	843	3,484	2,885	2,369
8	1129	5,005	4,145	3,258
9	1192	5,340	4,423	3,454
10	1298	5,904	4,890	3,783
11	1380	6,340	5,251	4,038

Примечание: номера пиков в табл. 3, 4 соответствуют номерам пиков на хроматограммах.

На рис. 4 приведена хроматограмма отработанного масла ВМ-4ГЗ. Видно, что в этом случае фактически отсутствует бензольная фракция, что, по-видимому, вызвано высокой температурой эксплуатации масла. Пики на хроматограмме лучше разрешены, что можно объяснить тем, что в условиях эксплуатации масла в результате процессов деструкции, ароматизации и полимеризации образуются термодинамически более устойчивые соединения. Так, например, наблюдается увеличение относительной (внутри нафталиновой фракции) интенсивности хроматографического пика 1 на рис. 4, по сравнению с соответствующим ему пиком 2 на рис. 2, что соответствует переходу полиметилзамещенных нафталинов в термодинамиче-

ски более устойчивый монометилзамещенный нафталин [13]. Аналогичная картина наблюдается в случае фенантреновой фракции ароматических углеводородов, чем объясняется увеличение относительной интенсивности хроматографического пика 5 на рис. 4 (сравн. с пиком 6 рис. 2.). На хроматограмме наблюдается также уширение пика 7, что, по-видимому, объясняется большим количеством возможных изомеров триметилзамещенного фенантрена.

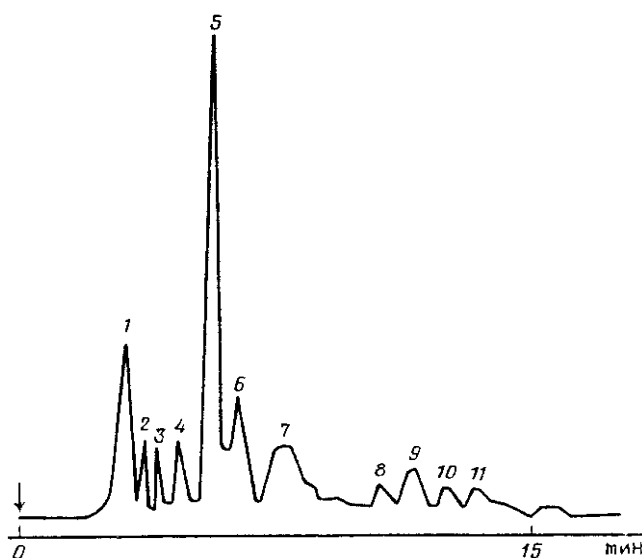


Рис. 4. Хроматограмма отработанного масла ВМ-4ГЗ  
(элюент - осушенный н-гексан)

Из хроматограммы рис. 4 видно, что высокотемпературные процессы поликонденсации, которые, вероятно, происходят в процессе эксплуатации масла, приводят к появлению хроматографических пиков, соответствующих полициклическим (4 и 5 колец) ароматическим углеводородам, которые отсутствовали в исходном масле.

Таким образом, значительное отличие хроматограмм исходного и отработанного масел позволяют использовать хроматографические данные для качественного анализа масел, проводить сопоставление их состава.

Изменение состава масел в процессе эксплуатации и особенно появление соединений с четырьмя и пятью бензольными кольцами в составе отработанного масла позволяет предположить, что токсичность исходного и отработанного масла различна. Провели оценку интегральной токсичности водной вытяжки исходного и отработанного масел биOLUMИнесцентным методом.



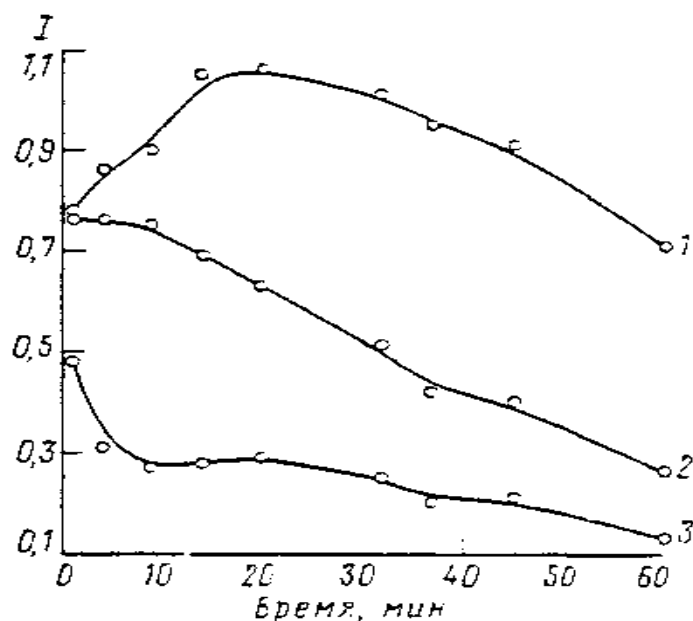


Рис. 5. Зависимость интенсивности свечения люминесцирующих бактерий от времени: 1 - без введения токсичного компонента; 2 - после введения водной вытяжки исходного масла ВМ-4; 3 - после введения водной вытяжки отработанного масла ВМ-473

На рис. 5 приведены зависимости от времени билюминесцентного свечения суспензии люминесцирующих бактерий. Представленные кривые достаточно хорошо описываются экспоненциальной зависимостью вида  $I = I_0 e^{-kt}$ , где  $I_0$  - зависящая от времени интенсивность свечения суспензии люминесцирующих бактерий без введения анализируемого образца;  $I$  - интенсивность свечения суспензии люминесцентных бактерий при введении анализируемого образца, измеренная в момент времени  $t$  после введения образца;  $k$  - коэффициент затухания билюминесцентного свечения.

Из системы девяти уравнений вида  $\ln I = \ln I_0 - kt$  рассчитали коэффициент затухания для кривых исходного и отработанного масел; он составил  $-0,017$  и  $-0,028$  соответственно. Также рассчитали время 50%-ного тушения свечения люминесцирующих бактерий ( $\tau_{0,5}$ ), которое составило  $41$  мин для исходного масла и  $24$  мин для отработанного. Таким образом, значения  $k$  и  $\tau_{0,5}$  могут служить для количественной оценки и сопоставления токсичных свойств нефтепродуктов. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что интегральная токсичность отработанного масла значительно выше токсичности исходного и билюминесцентный тест на токсичность можно эффективно использовать для экспрессной оценки опасности нефтепродуктов для окружающей среды.

## ВЫВОДЫ

Применение нормально-фазовой ВЭЖХ позволяет решить задачу группового разделения и определения ароматических углеводородов масел и следить за изменением состава и эксплуатационных свойств масел в процессе эксплуатации. Состав масла значительно изменяется в процессе эксплуатации. Применение биoluminesцентного теста на токсичность позволяет провести экспрессную оценку изменения экологической опасности масел.

### Литература

1. Химия и общество. Пер. с англ. – М., Мир, 1995.
2. Хабарова Е.И., Панова С.А. Экология в таблицах. Справочное пособие. -М.: Дрофа, 1999.
3. Человек и среда его обитания. Хрестоматия. Под ред. Г.В. Лисичкина и Н.Н. Чернова. -М.: Мир, 2003.
4. Беспамятнов Г.П. Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе и воде. Справочное пособие. -Л.: Химия, 1972. -376 с.
5. Карлин И.П., Семкин Е.П., Леонтьева СЛ. // Журн. аналит. химии, т. 39, 1984. -С. 75.
6. Grimmer G., Bohnke // Chromatographia, V. 9, № 1, 1976. -P. 30.
7. Ronchetti M., Cartoni G., Zoccolillo L. // Chromatographia, V. 348, 1985. -P. 159.
8. Bebris N.K., Vorobieva R.G., Kiselev AV. et al. // Chromatographia, V. 117, 1976. -P. 257.
9. Киселев Л.В., Яшин Я.И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография. -М: Химия, 1979. -С. 287.
10. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. -М.: Химия, 1986. -С. 270.
11. Lanin S.N., Nikitin Yu.S. // Chromatographia, V. 520, 1990. -P. 315.
12. Lanin S.N., Nikitin Yu.S., Pyatygin A.A., Staroveros S.M. // Chromatographia, V. 27, 1989. -P. 147.
13. Карапетьянц М.Х., Карапетьянц МЛ. Основные термодинамические константы неорганических и органических веществ. -М.: Химия, 1968. -470 с.

Статья поступила в редакцию Интернет-журнала 22 июня 2009 г.