

## Stanovení 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu v pevných částicích výfukových plynů

J. JÄGER

*Ústav hygieny, Praha*

Pomocí fluorescenční spektrografie prováděné za teploty kapalného dusíku a při použití *n*-heptanu jako rozpouštědla byla vypracována metoda stanovení obsahu 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu přímo ve směsi ostatních látek, pouze po jednoduchém chromatografickém dělení na tenké vrstvě kysličníku hlinitého a acetylované celulosy. Relativní chyba nepřesáhla ani u jednoho z uvedených uhlovodíků hodnotu 8,3 %.

Analýsa polycyklických aromatických uhlovodíků se provádí ve spojitosti se sledováním kancerogenní aktivity výfukových plynů. Poměrně vysoký výskyt anthanthrenu a 1,12-benzperylenu ve vzorcích je charakteristický pro výfukové plyny, a proto je hodnota vypočtená z poměru koncentrací 3,4-benzpyrenu : 1,12-benzperylenu a 3,4-benzpyrenu : anthanthrenu použitelná pro posouzení zdroje znečištění ovzduší. Nízké hodnoty těchto poměrů napovídají na znečištění atmosféry výfukovými plyny. K tomuto závěru dospěl E. Sawicki a spol. při systematické kontrole obsahu polycyklických uhlovodíků v atmosféře některých měst USA [1, 2]. V citovaných pracích jsou uvedeny i číselné hodnoty těchto poměrů pro jednotlivé situace.

Dále popsaná metoda stanovení uvedených tří polycyklických uhlovodíků přímo ve směsi s ostatními neidentifikovanými uhlovodíky přítomnými v roztoku je založena na využití tzv. quasičarových fluorescenčních spekter, získaných při fluorescenční spektrografii prováděné za teploty kapalného dusíku a při použití *n*-heptanu jako rozpouštědla. Teoretické základy quasičarových fluorescenčních spekter, jejich výhodné analytické vlastnosti společně s rozborem možných chyb jsou podrobně popsány v dřívějších pracích [3, 4]. V těchto pracích jsou uvedeny citace na všechny dostupné prameny původní literatury pojednávající o tomto problému.

### Experimentální část

#### *Příprava roztoků k analýze*

Určitou část benzenového extraktu získaného z přesně odváženého množství pevných částic z výfukových plynů chromatografujeme na tenké vrstvě kysličníku hlinitého a oddělíme pásmo fialově fluoreskujících látek v rozmezí  $R_F$  0,2—0,5 (benzpyrenová frakce). Tento pás společně s ostatními neidentifikovanými uhlovodíky bezpečně obsahuje stanovované látky. Oddělený kysličník hlinitý přelejeme 15—20 ml benzenu a za občasného protřepávání necháme vymývat 15 minut. Po této době všechny fluoreskující

látky přejdou kvantitativně do roztoku. Po odfiltrování roztok odpaříme pod infra-lampou na malý objem a nanese na tenkou vrstvu částečně acetylované celulosy.

Na celulose získáme dva jasně od sebe oddělené fluoreskující pásy. První pás  $R_F$  0,3 modrofialově fluoreskující obsahuje stanovený 3,4-benzpyren a anthanthren, druhý pás tmavomodře fluoreskující  $R_F$  0,7 obsahuje stanovený 1,12-benzperylen. Tyto oddělené pásy seškrábeme se skleněné desky a získanou celulosu promýváme benzenem v krátké chromatografické trubici až do vymizení fluorescence. K úplnému vymytí je třeba průměrně 40—50 ml benzenu. Tyto dva benzenové roztoky oddestilujeme ve vakuu, zbytky rozpustíme v *n*-heptanu a doplníme do 10 ml odměrných baněk. Jedna baňka obsahuje tedy ze stanovených látek 3,4-benzpyren společně s anthanthrenem a druhá 1,12-benzperylen.

Jelikož právě dokonalost chromatografického dělení extraktu není rozhodující částí popisované metody a použitá metoda chromatografie na tenké vrstvě nepřináší v tomto oboru nějaké nové poznatky, nebude na tomto místě blíže popisována. Použitá chromatografická technika je podrobně uvedena v práci [5].

Z takto připraveného základního roztoku obsahujícího 3,4-benzpyren a anthanthren odebereme tři stejné díly a do každého jednotlivého přidáme odstupňované známé množství 3,4-benzperyrenu pomocí jeho standardního roztoku. Musíme zvolit takové množství základního roztoku a tak vysoké přídavky, aby výsledná koncentrace 3,4-benzperyrenu nepřesáhla po zředění v 10 ml odměrné baňce hodnotu 0,1  $\mu\text{g/ml}$ . Abychom mohli úspěšně splnit tuto podmínku, naexponujeme základní roztok za standardních podmínek a získané fluorescenční spektrum porovnáme se spektry standardních roztoků čistého 3,4-benzperyrenu a anthanthrenu pořízených za stejných podmínek. Odhadneme tak zhruba koncentrace stanovených látek v základním roztoku a můžeme správně zvolit počet ml tohoto roztoku, který vezmeme k analýze. Podle naší dosavadní praxe jsou 3 ml základního roztoku do každého dílu nejčastěji používané množství, je-li váha analysovaného vzorku v extraktu kolem 0,05 g. Ke každým těmto 3 ml odpipetovaným do tří 10 ml odměrných baněk přidáme 0,2  $\mu\text{g}$ ; 0,4  $\mu\text{g}$  a 0,6  $\mu\text{g}$  3,4-benzperyrenu, čili po doplnění *n*-heptanem do 10 ml získáme tři roztoky s obsahem přidaného 3,4-benzperyrenu 0,02; 0,04 a 0,06  $\mu\text{g}$  v 1 ml.

Po pořízení fluorescenčních spekter těchto roztoků přidáme do prvního 0,3  $\mu\text{g}$ , do druhého 0,45  $\mu\text{g}$  a do třetího roztoku 0,6  $\mu\text{g}$  anthanthrenu, a tak vlastně získáme tři roztoky s obsahem přidaného anthanthrenu 0,03; 0,045 a 0,06  $\mu\text{g}$  v 1 ml. Takto připravené roztoky analyzujeme opět pomocí fluorescenční spektrografie postupem popsaným v druhé kapitole této práce. Fluorescence anthanthrenu nemůže být nijak podstatně ovlivněna přítomností dříve přidaného 3,4-benzperyrenu, neboť excitační záření propuštěné interferenčním filtrem pro 4050 Å (filtr použitý při pořizování fluorescenčních spekter anthanthrenu) není touto látkou prakticky absorbováno a fluorescenční spektrum anthanthrenu leží v příliš dlouhých vlnových délkách, než aby mohlo docházet k absorpci fluorescence anthanthrenu přítomným 3,4-benzperyrenem.

Ze základního roztoku obsahujícího 1,12-benzperylen odebereme stejným způsobem 3 stejné díly a do každého přidáme odstupňované množství 1,12-benzperyrenu tak, aby jeho výsledná koncentrace nepřesáhla v 10 ml odměrné baňce hodnotu 0,1  $\mu\text{g/ml}$ . Pro hrubou orientaci o koncentraci stanovené látky v základním roztoku opět naexponujeme základní roztok za standardních podmínek a porovnáme se spektry standardních roztoků 1,12-benzperyrenu. Podle našich dosavadních zkušeností jsou i v případě stanovení 1,12-benzperyrenu ve výfukových plynech 3 ml základního roztoku do každého dílu nejčastěji používané množství. Ke každým těmto 3 ml odpipetovaným do tří 10 ml odměrných baněk přidáme tolik standardního roztoku 1,12-benzperyrenu, abychom

po doplnění do 10 ml dostali tři roztoky s obsahem 0,02; 0,04 a 0,06  $\mu\text{g}$  přidaného 1,12-benzperylenu v 1 ml roztoku. Tyto roztoky analyzujeme opět fluorescenční spektrografií za teploty  $-197^\circ\text{C}$ .

### *Fluorescenční spektrografie za teploty $-197^\circ\text{C}$*

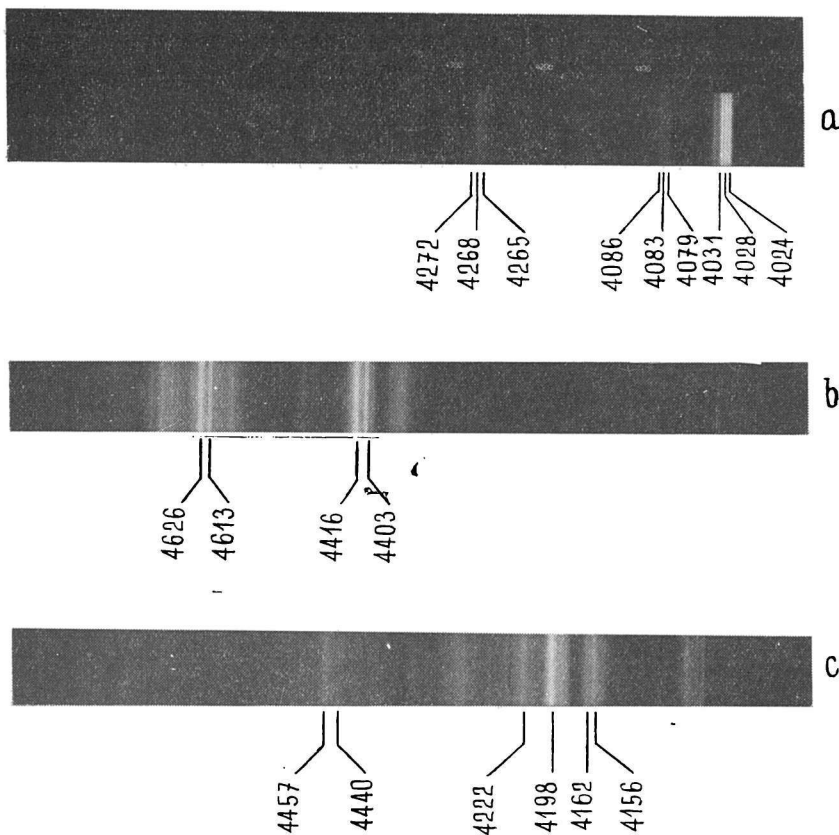
Jednotlivé prvky pokusného zařízení a přesný postup při snímání quasicarových fluorescenčních spekter byly popsány v předcházející práci [3]. Osvětlení kvivety se vzorkem je provedeno tak, že excitující paprsek dopadá na stěnu kvivety obrácenou ke štěrbině spektrografu pod úhlem  $45^\circ$ . Buzení je prováděno dvěma křemennými rtuťovými výbojkami Philips 125 W, jejichž záření je usměrňováno kondensorem a prochází vyměnitelným filtrem (tab. 1).

Tabulka 1  
Podmínky fluorescenční spektrografie

Látka	3,4-benzpyren	anthanthren	1,12-benzperylen
Filtr	UFS-3	interferenční pro 4050 Å	UFS-1
Expozice (min.)	15	20	20
Štěrba (mm)	0,2	0,25	0,25
Analytická čára (Å)	4031	4416	4198
Spektrograf	KSA-1 se skleněnou optikou		
Buzení	Hg-výbojka 125 W, intenzita proudu 1,9 A		
Teplota ( $^\circ\text{C}$ )	$-197$		
Fotodesky	ORWO WP1 Rot Rapid $9 \times 24$		
Výbojka	Rodinal 1 : 20, vyvolávací doba 7 minut		

Quasicarová fluorescenční spektra 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu jsou uvedena na obr. 1. Ke kvantitativnímu stanovení 3,4-benzpyrenu používáme čáru 4031 Å, která leží v nejkrátkovlnnějším tripletu spektra. U anthanthrenu proměříme zčernání čáry 4416 Å, která vykazuje nejen maximální citlivost, ale také nejpřesnější výsledky ve srovnání s čarami dubletů vlnových délek 4403, 4626 a 4613 Å. Použitý interferenční filtr vymezuje tak úzkou oblast vlnových délek kolem 4050 Å, že ve směsi s 1,12-benzperylenem a 3,4-benzpyrenem získáme pouze čisté spektrum anthanthrenu, neboť ten má v oblasti propustnosti filtru ještě dostatečně vysoké absorpční maximum na rozdíl od předcházejících dvou látek, jejichž absorpční schopnost v dlouhovlnné části spektra prakticky končí vlnovou délkou 4000 Å.

Pro stanovení 1,12-benzperylenu byla vybrána nejintenzivnější čára celého fluorescenčního spektra, mající vlnovou délku 4198 Å. K vyclonění části excitačního záření



Obr. 1. Quasičarová fluorescenční spektra 3,4-benzopyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperyrenu při teplotě  $-197^{\circ}\text{C}$  v *n*-heptánu. Vlnové délky udány v Å.  
a) 3,4-benzopyren; b) anthanthren; c) 1,12-benzperylen.

byl pro 1,12-benzperylen použit filtr UFS-1, který má oproti filtru UFS-3 větší propustnost v celém svém spektrálním rozsahu, čímž byla zvýšena citlivost stanovení. Větší množství excitačního záření, které se tak dostane do spektrografu, nemůže ovlivnit stanovení 1,12-benzperyleny, neboť spektrum rtuti nemá v měřené oblasti vlastní čáry.

#### *Odečtení výsledků pomocí metody standardních přídavek*

Ke zjištění koncentrací stanovených látek používáme metody standardních přídavek. Při této metodě systematicky kompensujeme vliv eventuálně přítomných zhašedel v analysované směsi na fluorescenci stanovené látky. Nesrovnáváme totiž analysovaný roztok s čistým standardním roztokem, ale s roztokem analysovaným, do kterého bylo přidáno známé množství stanovené látky, jejíž fluorescence je vystavena stejným vlivům rušivých příměsí jako původně přítomná analysovaná látka.

Změřené hodnoty zčernání analytických čar všech tří látek vyneseme do grafu oproti koncentraci přidávaných čistých látek. Získáme tak pro každou stanovenou látku

tři body, kterými proložíme přímky a jejich dolní konce prodloužíme, až protnou zápornou koncentrační osu. Absolutní hodnoty vzdáleností těchto průsečíků od počátku souřadnic udávají hodnoty neznámé koncentrace 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu původně přítomných v roztoku. Takto odečtené hodnoty přepočteme na koncentrace v 1 ml základního roztoku a z velikosti navážky a počtu mililitrů extraktu vzatého k analýze vypočteme obsahy stanovovaných látek v 1 g pevných částic.

### Výsledky a diskuse

Popsaná metoda stanovení 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu byla prověřována pomocí uměle připravených směsí, které se skládaly z těch uhlovodíků, jejichž přítomnost se dá podle literárních údajů i našich zkušeností předpokládat ve frakcích získaných jednoduchým chromatografickým postupem [6, 7].

Správnost výsledků analýsy 3,4-benzpyrenu byla zjišťována nejen pomocí umělých směsí, ale i současným stanovením 3,4-benzpyrenu ve vzorcích pevných částic z výfukových plynů pomocí klasické spektrofotometrické metody. V žádném případě relativní chyba stanovení nepřesáhla 8 %. Získané výsledky a jejich diskuse jsou uvedeny v práci z roku 1965 [3].

#### *Správnost a přesnost stanovení anthanthrenu a 1,12-benzperylenu*

Obsahy jednotlivých uhlovodíků v umělé směsi *III* a *IV* jsou uvedeny v tab. 2. Jejich poměrná množství jsou zvolena tak, aby odpovídala jejich zastoupení ve skutečných vzorcích odebraných z výfukových plynů. Jako podklad byla zvolena práce Hoffmanova, který analysoval přímo částice z výfukových plynů [8] na rozdíl od dříve použitých údajů Sawického, který analysoval karbon z výfukového potrubí [1]. Koncentrace je vyjádřena v  $\mu\text{g}$  v 1 ml konečného roztoku.

Anthanthrenu bylo přidáno tolik, aby jeho konečná koncentrace v 1 ml

Tabulka 2  
Obsah uhlovodíků v umělé směsi *III* a *IV*

Uhlovodík	Směs <i>III</i> ( $\mu\text{g}$ )	Směs <i>IV</i> ( $\mu\text{g}$ )
3,4-benzpyren	0,070	0,035
perylene	0,010	0,005
1,2-benzpyren	0,400	0,200
1,12-benzperylene	0,050	0,025
11,12-benzfluoranthren	0,052	0,026

byla pro směs *III* 0,036 a 0,045  $\mu\text{g}$  a pro směs *IV* 0,0225 a 0,030  $\mu\text{g}$ . Výsledky měření jsou shrnuty v tab. 3.

Přesnost stanovení anthanthrenu byla prověřena pětinasobně opakovanou analysou směsi *III* s přidavkem anthanthrenu 0,045  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Z naměřených hodnot byla vypočtena směrodatná odchylka stanovení  $s_x = 0,0031$  a směrodatná odchylka aritmetického průměru  $s_p = 0,0014$ .

Tabulka 3  
Výsledky stanovení anthanthrenu v umělých směsích

Směs <i>III</i>			Směs <i>IV</i>		
přidaný anthanthren ( $\mu\text{g}$ )	nalezený anthanthren ( $\mu\text{g}$ )	relativní chyba (%)	přidaný anthanthren ( $\mu\text{g}$ )	nalezený anthanthren ( $\mu\text{g}$ )	relativní chyba (%)
0,036	0,034	-5,6	0,0225	0,023	2,2
0,045	0,047	4,3	0,030	0,029	-3,3

Správnost stanovení 1,12-benzperylenu byla zjišťována pomocí analyzy směsi *III* doplněné 0,045  $\mu\text{g}/\text{ml}$  anthanthrenu a směsi *IV* doplněné 0,0225  $\mu\text{g}/\text{ml}$  anthanthrenu. 1,12-Benzperylenu bylo přidáno tolik, aby jeho konečná koncentrace v 1 ml pro směs *III* byla 0,050 a 0,060  $\mu\text{g}$ , pro směs *IV* 0,025 a 0,040  $\mu\text{g}$ . Výsledky jsou uvedeny v tab. 4.

Tabulka 4  
Výsledky stanovení 1,12-benzperylenu v umělých směsích

Směs <i>III</i>			Směs <i>IV</i>		
přidaný 1,12-benzperylen ( $\mu\text{g}$ )	nalezený 1,12-benzperylen ( $\mu\text{g}$ )	relativní chyba (%)	přidaný 1,12-benzperylen ( $\mu\text{g}$ )	nalezený 1,12-benzperylen ( $\mu\text{g}$ )	relativní chyba (%)
0,050	0,046	-8,0	0,025	0,026	4,0
0,060	0,055	-8,3	0,040	0,037	-7,5

Přesnost stanovení 1,12-benzperylenu byla prověřována pětinasobně opakovanou analysou směsi *III* s obsahem 1,12-benzperylenu 0,050  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Z naměřených hodnot byla vypočtena směrodatná odchylka stanovení  $s_x = 0,0034$  a směrodatná odchylka aritmetického průměru  $s_p = 0,0015$ .

Popsaná metoda stanovení 3,4-benzpyrenu, anthanthrenu a 1,12-benzperylenu v pevných částicích výfukových plynů pomocí jejich quasičarových

fluorescenčních spekter řeší podmínky nezbytné k úspěšné kvantitativní fluorescenční analýze následujícím způsobem:

1. Teplota je přesně definována bodem varu kapalného dusíku, neboť do něho květu s měřeným roztokem přímo ponoříme.

2. Vliv zhášedel je snížen na minimum tím, že vysoká citlivost stanovení nám umožňuje pracovat jen s nepatrnými koncentracemi a použitá metoda standardního přídávku zavádí do výsledku určitou korekci na vliv těchto látek.

3. Vliv vedlejších fluoreskujících látek na fluorescenci látky stanovované je eliminován čarovým charakterem spektra, který nám umožňuje ve většině případů výběr takové čáry, která není ovlivněna fluorescencí příměsí.

4. Citlivost metody umožňuje pracovat v tak nízkém koncentračním oboru, kde ještě nenastává nebezpečí koncentračního zhášení fluorescence stanovované látky.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ 3,4-БЕНЗПИРЕНА, АНТАНТРЕНА И 1,12-БЕНЗПЕРИЛЕНА В ТВЕРДЫХ ЧАСТИЦКАХ ВЫХЛОПНЫХ ГАЗОВ

Ю. Егер

Институт гигиены, Прага

В работе приведен разработанный метод определения 3,4-бензпирена, антантрена и 1,12-бензперилена в твердых частичках выхлопных газов. Аналитический метод основан на измерении флюоресцентных спектров, которые были произведены при температуре  $-197^{\circ}$  при применении *n*-гептана в качестве растворителя. При этих условиях имеют флюоресцентные спектры приведенных трех углеводородов линейный характер, который позволяет с достаточной точностью определить эти вещества возле себя непосредственно в смеси при присутствии других веществ в растворе, после простого хроматографического разделения на тонком слое окиси алюминия и ацетилюрованной целлюлозе.

Правильность и точность результатов полученных описанным методом были проверены с помощью искусственно приготовленных смесей. Относительная ошибка не превышает ни у одного из определяемых углеводородов значение 8,3 %. Чувствительность метода значительная; в случае 3,4-бензпирена можно определить тысячные доли  $\mu\text{g}$  а в случае антантрена и 1,12-бензперилена сотые доли  $\mu\text{g}$  в 1 мл конечного раствора.

*Preložil M. Fedoroňko*

BESTIMMUNG VON 3,4-BENZOPYREN, ANTHANTHREN  
UND 1,12-BENZOPERYLEN IN FESTEN PARTIKELN VON AUSPUFFGASEN

J. Jäger

Institut für Hygiene, Prag

In der vorliegenden Arbeit wird eine ausgearbeitete Methode der Bestimmung von 3,4-Benzopyren, Anthanthren (d.i. Dibenzo/def. mno/chrysen) und 1,12-Benzoperylen (Benzo/ghi/-perylene) in festen Teilchen von Auspuffgasen angeführt. Dieses analytische Verfahren gründet sich auf eine Durchmessung der Fluoreszenzspektren, die bei einer Temperatur von  $-197^{\circ}\text{C}$  aufgenommen wurden, und bei Benutzung von *n*-Heptan als Lösungsmittel. Unter diesen Bedingungen weisen die Fluoreszenzspektren der angeführten drei Kohlenwasserstoffe Liniencharakter auf, der es mit hinreichender Genauigkeit gestattet, diese Stoffe nebeneinander direkt im Gemisch mit den übrigen, in der Lösung vorhandene Stoffen, nur nach einer einfachen Auftrennung mittels Dünnschicht-Chromatographie auf einer dünnen Sorptionsschicht aus Aluminiumoxid und Acetylcellulose, zu bestimmen.

Die Richtigkeit und Genauigkeit der durch die beschriebene Methode erhaltenen Ergebnisse wurde unter Zuhilfenahme künstlich hergestellter Gemische kontrolliert. Der relative Fehler überschritt bei keinem der ermittelten Kohlenwasserstoffe den Wert von 8,3 %. Die Empfindlichkeit der Methode ist beträchtlich, bei 3,4-Benzopyren kann man Tausendstel  $\mu\text{g}$ , bei Anthanthren und 1,12-Benzoperylen Hundertstel  $\mu\text{g}$  in 1 ml der finalen Lösung bestimmen.

Preložil K. Ullrich

## LITERATURA

1. Sawicki E., Hauser T. R., Elbert W. C., Fox F. T., Meeker J. E., *A. Ind. Hyg. Assoc. J.* **23**, 137 (1962).
2. Sawicki E., Fox F. T., Elbert W. C., Hauser T. R., Meeker J. E., *A. Ind. Hyg. Assoc. J.* **23**, 482 (1962).
3. Jäger J., Lugrová O., *Chem. zvesti* **19**, 774 (1965).
4. Jäger J., *Chem. listy* **60**, 1184 (1966).
5. Jäger J., Lugrová O., *Čs. Hyg.* **5**, 319 (1965).
6. Sawicki E., Stanley T. W., Pfaff J. D., *Chemist-Analyst* **53**, 6 (1964).
7. Sawicki E., Stanley T. W., Elbert W. C., Pfaff J. D., *Anal. Chem.* **36**, 497 (1964).
8. Hoffman D., Wynder E. L., *National Cancer Institute Monograph*, No 9, U. S. Department of Health, Education and Welfare, 1962.

Do redakcie došlo 1. 7. 1966

V revidovanej podobe 17. 12. 1966

Adresa autora:

Ing. Jiří Jäger, Ústav hygieny, Praha 10, Šrobárova 48.