

УДК 543.8: 543.545 + 543.544.5.068.7

Разработка методик определения фенолов в питьевой и природной водах методами капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии

В.В. Сурсякова^{а*},

Г.В. Бурмакина^{а,б}, А.И. Рубайло^{а,б}

^а *Институт химии и химической технологии СО РАН
Россия 660049, Красноярск, ул. К. Маркса, 42*

^б *Сибирский федеральный университет
Россия 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79¹*

Received 6.09.2010, received in revised form 13.09.2010, accepted 20.09.2010

Разработаны методики определения фенолов в питьевой и природной водах методами капиллярного электрофореза (КЭ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Пределы обнаружения без предварительного концентрирования составили 0,2-0,5 мг/л для КЭ и 0,02-0,05 мг/л для ВЭЖХ. Пределы обнаружения с предварительным концентрированием методом твердофазной экстракции с применением патронов ДИАПАК П (ЗАО «БиоХимМак СТ») на три порядка выше, что позволяет определять фенолы на уровне 0,5 ПДК и ниже.

Ключевые слова: фенол и его производные, хлорфенолы, питьевая вода, природная вода, капиллярный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Введение

Производные фенола характеризуются более высоким фоновым содержанием в окружающей среде по сравнению с другими наиболее распространенными классами приоритетных органических загрязнителей. Это связано с тем, что эти соединения применяются практически во всех областях промышленности: в производстве лаков и красок, синтетических смол, пластификаторов, поверхностно-активных и дубильных веществ, ядохимикатов, стабилизаторов, антисептиков и др. Хлорфенолы поступают

в окружающую среду в основном из почв и водоисточников, загрязненных хлорированными фенольными пестицидами, с промышленными выбросами и сбросами; образуются в процессе водоподготовки при хлорировании сточных и питьевых вод, недостаточно очищенных от фенолов [1, 2]:

Фенол и его производные токсичны и уже при концентрации на уровне нескольких мкг/л ухудшают вкус и запах воды. Предельно допустимые концентрации (ПДК) многих фенолов установлены на уровне 1 мкг/л (табл. 1) [2-4], поэтому для их определения

* Corresponding author E-mail address: viktoria_vs@list.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

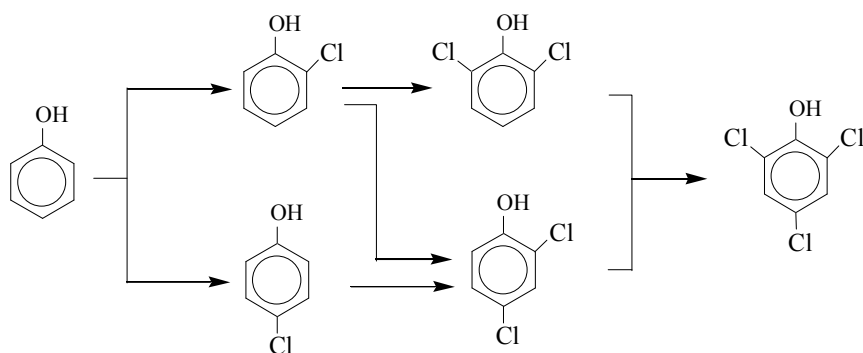


Таблица. 1. Предельно допустимые концентрации фенола и его производных в воде [2-4]

Соединение	ПДК, мг/л
Фенольный индекс	0,25
<i>Одноатомные фенолы</i>	
Фенол	0,001
2-метилфенол (о-крезол)	0,003
3-метилфенол и 4-метилфенол (м- и п-крезол)	0,004
2- и 4-пропилфенол	0,01
Диметилфенол (ксиленол)	0,25
Алкилфенолы	0,1
<i>Двухатомные фенолы и их производные</i>	
1,2-дигидроксибензол (пирокатехин)	0,1
1,3-дигидроксибензол (резорцин)	0,1
1,4-дигидроксибензол (гидрохинон)	0,2
2-метоксифенол (гваякол)	0,05
5-метилрезорцин	1,0
<i>Хлорфенолы</i>	
Хлорфенол	0,001
Дихлорфенол	0,002
Трихлорфенол	0,004
Пентахлорфенол	0,03

требуются методики, позволяющие достоверно идентифицировать и определять их концентрации 0,5 мкг/л и менее. Официальные методики определения индивидуальных фенолов в пробах воды основаны на использовании газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [5-7]. Метод капиллярного электрофореза (КЭ) является быстрым, мощ-

ным и эффективным методом для анализа многокомпонентных смесей [8, 9], однако, несмотря на свои достоинства, метод КЭ не включен ни в одну официальную методику определения фенолов в воде или других объектах при том, что он дешевле в эксплуатации и более толерантен при анализе сложных матриц. Данная работа посвящена разработке методик определения фенола и его производных методами КЭ и ВЭЖХ в питьевой и

природной водах. В отличие от существующих иностранных методик, предназначенных для определения фенолов, включенных в списки приоритетных загрязнителей воды Агентства по охране окружающей среды США и Европейского Сообщества, предлагаемые авторами методики позволяют определять не только хлорфенолы, но и ряд других фенолов, ПДК которых приведены в «СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения» [3].

Экспериментальная часть

Электрофоретическое разделение проводили с использованием системы капиллярного электрофореза с диодноматричным детектором Agilent ^{3D}CE G1600A (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Применяли немодифицированный кварцевый капилляр с внутренним диаметром 50 мкм, общей длиной 64,5 см, эффективной длиной 56 см. Капилляр термостатировали при 20 °С. Сбор и обработку данных осуществляли при помощи программного обеспечения HP Chemstation Rev.A.10.02. Использовали напряжение + 30 кВ. В качестве фоновых электролитов применяли растворы 10 – 50 мМ K_2HPO_4 + K_3PO_4 , pH 9 – 12.

Хроматографическое разделение проводили с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent HPLC 1200 Series (Agilent Technologies, USA), колонка Zorbax eclipse XDB-C18, 4,6*150 мм, 5 мкм. Колонку термостатировали при 30 °С. Сбор и обработку данных осуществляли при помощи программного обеспечения HP Chemstation B.03.02. В качестве подвижных фаз использовали смеси водного раствора уксусной кислоты, pH 3,3 – 3,4 и ацетонитрила (Криохром; Panreac).

Стандартные образцы фенолов были приобретены в «Экрос» (Россия, Санкт-Петербург). Для концентрирования фенолов использовали твердофазную экстракцию с применением патронов ДИАПАК П (ЗАО «БиоХимМак СТ») [10]. Патроны ДИАПАК П кондиционировали 5 мл перегнанного ацетона (осч), а затем 20 мл бидистиллированной воды. Воду объемом 500 мл, отфильтрованную через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, пропускали через патрон ДИАПАК П при помощи вакуумного насоса со скоростью 2-5 мл/мин. Затем патрон промывали 20 мл дистиллированной воды. Сконцентрированные фенолы элюировали с патрона 5 мл ацетона (осч) в отгонную колбу емкостью 10 мл, элюат упаривали на водяной бане при температуре не выше 25 °С в слабом токе азота до исчезновения запаха растворителя. Объем водного остатка измеряли при помощи микропипетки и доводили до 500 мкл смесью вода/ацетонитрил (9:1).

Результаты и их обсуждение

1. Капиллярный электрофорез

Определение различных фенолов в водных образцах методом КЭ может выполняться как в варианте капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ), так и в варианте мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ). В КЗЭ разделение происходит за счет различия в подвижностях определяемых фенолов, которые в зависимости от pH раствора частично или полностью переходят в анионную форму. В МЭКХ в фоновый электролит вводят добавки, образующие мицеллы, и разделение происходит за счет различного распределения определяемых веществ между фоновым электролитом и внутренней частью мицелл.

Для разделения различных фенолов методом КЭ предложены различные по составу фоновые электролиты [11-21], однако большинство из них не предназначены для определения фенола и крезолов, поскольку последние не включены в списки приоритетных загрязнителей воды Агентства по охране окружающей среды США и Европейского Сообщества. Методики, в которых оптимизировано разделение фенолов, в том числе фенола и крезолов, основаны на неводном КЭ [20, 21] или применении сложных по составу фоновых электролитов [14], содержащих органические растворители и модификаторы электроосмотического потока. Использование неводного КЭ и сложных фоновых электролитов не всегда оправдано, удлиняет среднее время анализа, поскольку такие фоновые электролиты зачастую не хранятся, а готовятся ежедневно. Поэтому в данной работе в качестве фоновых электро-

литов брали простые по составу фосфатные буферные растворы.

Подбор оптимальных условий электрофоретического разделения фенолов осуществляли экспериментально с использованием модельных смесей фенолов. Как видно из табл. 2, фенолы проявляют слабые кислотные свойства, поэтому определение фенолов в варианте КЗЭ должно выполняться при высоком pH, на 1-2 порядка выше их pK_a . Электрофоретическая подвижность фенолов гораздо меньше, чем электроосмотическая подвижность при pH 9-12, поэтому для того, чтобы фенолы достигали детектора, разделение проводили при положительной полярности напряжения. При этом суммарная подвижность аниона равна разности электроосмотической и электрофоретической подвижности, и первыми после маркера электроосмотического потока (ЭОП) детектора достигают наиболее медленные анио-

Таблица 2. Константы кислотной диссоциации различных фенолов [11, 22]

Соединение	pK_a (pK_{a1}); pK_{a2}
<i>Одноатомные фенолы</i>	
Фенол	10,09
о-крезол	10,32
м-крезол	10,09
п-крезол	10,27
2,6-ксиленол	10,63
<i>Двухатомные фенолы и их производные</i>	
Пирокатехин	9,34; 12,6
Резорцин	9,32; 11,1
Гваякол	9,98
Флороглюцин (1,3,5 –тригидроксibenзол)	-
<i>Хлорфенолы</i>	
2-хлорфенол	9,13
4-хлорфенол	9,70
2,4-дихлорфенол	8,51
2,6-дихлорфенол	7,15
2,4,6-трихлорфенол	6,51
Пентахлорфенол	4,93

ны. Эффективная электрофоретическая подвижность аниона равна [23]

$$\mu_{\text{эфф},i} = \mu_{\text{ЭОП}} - \mu_{\text{сумм},i} = \frac{l \cdot l_{\text{эфф}}}{U} \left(\frac{1}{t_{\text{ЭОП}}} - \frac{1}{t_i} \right), \quad (1)$$

где $\mu_{\text{ЭОП}}$ – электроосмотическая подвижность, $\mu_{\text{сумм},i}$ – суммарная подвижность аниона, l и $l_{\text{эфф}}$ – общая и эффективная длины капилляра (расстояние от входного конца капилляра до детектора), U – напряжение, $t_{\text{ЭОП}}$ – время миграции нейтрального соединения, t_i – время миграции иона.

Зависимость эффективной электрофоретической подвижности одноосновных фенолов $\mu_{\text{эфф},i}$ от pH фонового электролита описывается следующими уравнениями:

$$\mu_{\text{эфф},i} = \mu_i \cdot \alpha_i, \quad (2)$$

$$\alpha_i = \frac{K_{a,i}}{K_{a,i} + [\text{H}^+]} = \frac{K_{a,i}}{K_{a,i} + 10^{-\text{pH}}}, \quad (3)$$

где μ_i – электрофоретическая подвижность ионной формы, α_i – степень диссоциации, $K_{a,i}$ – константа диссоциации кислоты. Для двух- и трехосновных фенолов вклад в эффективную электрофоретическую подвижность дают все заряженные частицы, получающиеся при диссоциации соответствующего фенола, с учетом их мольных долей.

На рис. 1 приведены зависимости эффективных электрофоретических подвижностей фенолов от pH раствора фонового электролита. Для одноосновных фенолов μ_i и $K_{a,i}$ определяли экспериментально из линейной зависимости $1/\mu_{\text{эфф},i} = 1/\mu_i + 1/(\mu_i \cdot K_{a,i}) \cdot [\text{H}^+]$, затем строили зависимости, описываемые уравнениями (2) и (3); для пирокатехина, резорци-

на и флороглюцина вышеупомянутые зависимости построены по экспериментальным точкам. Как видно из рис. 1, разделения всех рассматриваемых фенолов можно достигнуть при pH = 11,1 с учетом того, что pH фонового буферного электролита в КЭ должен находиться в диапазоне $\text{pK}_a \pm 1$ (pK_{a3} ортофосфорной кислоты при ионной силе 0,15 М равно 11,4 [22]).

Изучено влияние скорости электроосмотического потока на разделение фенолов. Установлено, что с уменьшением скорости ЭОП путем увеличения ионной силы фонового электролита увеличивается время разделения и улучшается разрешение электрофоретических пиков. Однако найдено, что использование гидродинамического давления для регулирования скорости ЭОП [23] в случае, когда электроосмотическая подвижность больше электрофоретических подвижностей ионов, негативно сказывается на разрешении электрофоретических пиков.

На рис. 2 приведена электрофореграмма разделения 15 фенолов в оптимальных условиях. Нижний предел детектирования для различных фенолов (длины волн детектирования 215 и 225 нм) составил 0,2-0,5 мг/л при вводе пробы при давлении 50 мбар в течение 20 с, что позволяет при использовании стадии концентрирования определять фенолы методом КЭ на уровне ПДК [5, 10]. Линейный диапазон определяемых концентраций без концентрирования составил 0,2/0,5 – 25 мг/л.

2. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Подбор оптимальных условий элюирования осуществляли экспериментально с использованием модельных смесей фенолов. Найдено, что увеличение объемного содержания ацетонитрила в подвижной фазе ведет к уменьшению времен удерживания фенолов,

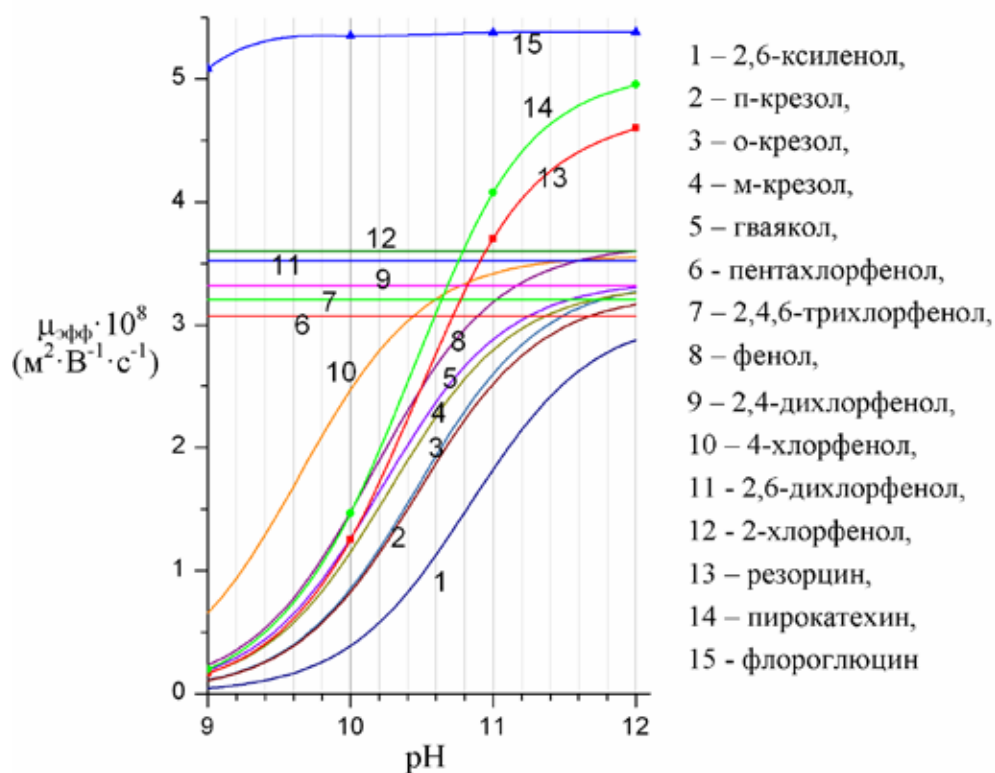


Рис. 1. Зависимости эффективных электрофоретических подвижностей фенолов от pH фонового электролита $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{K}_3\text{PO}_4$, ионная сила 0,15 М

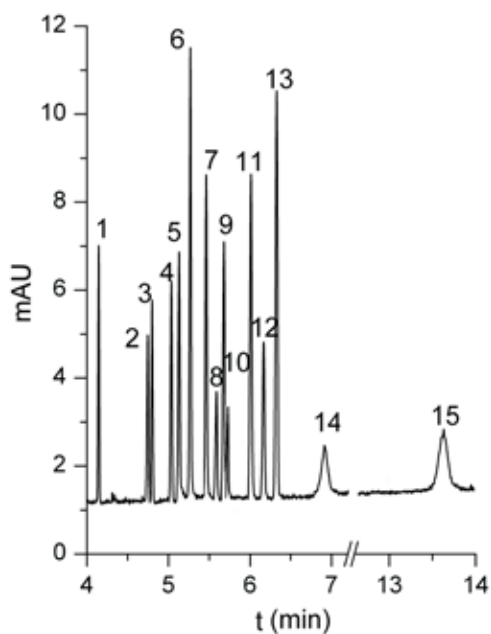


Рис. 2. Электрофореграмма разделения модельной смеси фенолов (25 мг/л). Фоновый электролит: 45 мМ $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{K}_3\text{PO}_4$, pH = 11,1. Ввод пробы: 50 мбар · 3 сек. Обозначение пиков соответствует нумерации фенолов на рис. 1

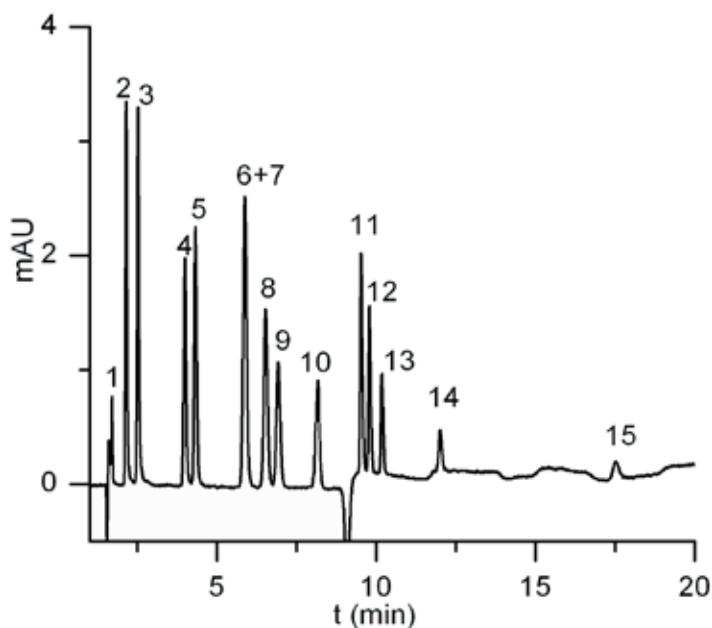


Рис. 3. Хроматограмма разделения модельной смеси фенолов (25 мг/л), объем вводимой пробы: 0,5 мкл. 1 – флороглюцин, 2 – резорцин, 3 – пирокатехин, 4 – фенол, 5 – гваякол, 6+7 – м-и п-крезол, 8 – о-крезол, 9 – 2-хлорфенол, 10 – 4-хлорфенол, 11 – 2,6-ксиленол, 12 – 2,6-дихлорфенол, 13 – 2,4-дихлорфенол, 14 – 2,4,6-трихлорфенол, 15 – пентахлорфенол

однако число разделенных пиков при этом также уменьшается. Изменение объемного содержания ацетонитрила не изменяет порядок элюирования фенолов, а влияет только на разрешение хроматографических пиков; в этом смысле метод ВЭЖХ по сравнению с методом КЭ обладает меньшими возможностями оптимизации разделения определяемых веществ только путем варьирования состава подвижной среды. Уменьшение объемного содержания ацетонитрила в подвижной фазе для получения максимального числа разделенных пиков чрезмерно увеличивает время на удерживания, уменьшает пределы детектирования вследствие значительного уширения пиков, поэтому оптимальное разделение 15 фенолов было достигнуто при градиентном элюировании за 18 мин при следующем содержании ацетонитрила в подвижной фазе: с начального момента после ввода пробы до 6,6 мин – 35 об. %, с 6,6 мин – 70 об. % (рис. 3). Как видно из рис. 3, пики м- и п-крезол не раз-

деляются, однако стоит отметить, что в Сан-ПиН [3] и ГН [4] ПДК приведен для суммы м- и п-крезолов.

Установлено, что оптимальная длина детектирования для пентахлорфенола 230 нм с опорной длиной волны 360 нм, для остальных фенолов – 195 и 270 нм с опорной длиной волны 360 нм. Линейный диапазон определяемых концентраций без концентрирования составил 0,02/0,05 – 25 мг/л.

Изучена возможность концентрирования фенолов из питьевых и природных вод путем твердофазной экстракции с применением патронов ДИАПАК П (ЗАО «БиоХим-Мак СТ») [10] для последующего определения методами КЭ и ВЭЖХ. Для модельных смесей установлены степени извлечения каждого фенола патронами ДИАПАК П по методу «введено-найдено», они составили 85 – 95 %. Коэффициент концентрирования патронов

ДИАПАК – около 100, с учетом упаривания элюата – около 1000.

Заключение

Таким образом, разработаны методики определения фенолов методами капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием для концентрирования твердофазной экстракции.

Методика определения фенолов методом КЭ по сравнению с методикой ВЭЖХ обладает несколько меньшей чувствительностью. Тем не менее, метод КЭ более экономичен в плане расходных материалов, позволяет определять фенолы при их содержании на уровне 0,5 ПДК и может быть использован не только как арбитражный, но и как основной метод определения фенолов в питьевых и природных водах.

Работа выполнена при поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности», конкурс индивидуальных проектов молодых ученых 2010.

Список литературы

1. Майстренко В.Н., Ключев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. 323 с.
2. Харлампович Г.Д., Чуркин Ю.В. Фенолы. М.: Химия, 1974. 376 с.
3. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. М.: Минздрав РФ, 2002. 104 с.
4. Гигиенические нормативы ГН 2.1.5.1315-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Издание официальное. М.: Минздрав РФ, 2004.
5. Другов Ю.С., Родин А.А. Пробоподготовка в экологическом анализе. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. 855 с.
6. Другов Ю.С., Родин А.А. Мониторинг органических загрязнений природной среды. 500 методик: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. 893 с.
7. Перечень основных действующих нормативных документов по методам контроля химических веществ в объектах окружающей среды, воздухе рабочей зоны, пищевых продуктах. М., Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 19 с.
8. Беленький Б.Г., Белов Ю.В., Касалайнен Г.Е. Высокоэффективный капиллярный электрофорез в экологическом мониторинге // Журн. аналит. химии. 1996. Т. 51. № 8. С. 817-824.
9. Handbook of capillary and microchip electrophoresis and associated techniques /Ed. By J.P.Landers. CRS Press. P. 1598.
10. Васяров Г.Г., Алексеева Г.С. Концентрирующие патроны ДИАПАК. Вып. 2. 56 с.
11. Zemann A., Volgger D. Separation of priority pollutant phenols with coelectroosmotic capillary electrophoresis // Anal. Chem. 1997. Vol. 69. P. 3243-3250.
12. Fu S., Li F., Chu S. G., Xu X. B. The determination of chlorophenols in waste water by capillary zone electrophoresis with an organic modifier // Chromatographia 2002. Vol. 56.No. 1/2. P. 69-72.
13. Li G., Locke D.C. Separation of the eleven priority pollutant phenols by capillary zone electrophoresis // J. Chromatogr. B. 1995. Vol. 669. P. 93-102.

14. Masselter S. M., Zemann A. J. Influence of organic solvents in coelectroosmotic capillary electrophoresis of phenols // *Anal. Chem.* 1995. Vol. 67. P. 1047-1053.
15. Martinez D., Pocurull E., Marce R. M., Borrull F., Calull M. Comparative study of the use of high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for determination of phenolic compounds in water samples // *Chromatographia* 1996. Vol.43. No. 11/12. P. 619-624.
16. Jauregui O., Moyano E., Galceran M.T. Capillary electrophoresis–electrospray ion-trap mass spectrometry for the separation of chlorophenols // *J. Chromatogr. A.* 2000. Vol. 896. P. 125–133.
17. Jauregui O., Puignou L., Galceran M.T. New carrier electrolyte for the separation of chlorophenols by capillary electrophoresis // *Electrophoresis.* 2000. Vol. 21. P. 611-618.
18. Jeevan. G.R., Bhaskar M., Chandrasekar R., Radhakrishnan G. Separation of harmful chlorophenols by cyclodextrin-assisted capillary electrokinetic chromatography // *J. Sep. Sci.* 2002. Vol. 25. P. 1143–1146.
19. Pirogov A. V., Shpigun O. A. Application of water-soluble polymers as modifiers in electrophoretic analysis of phenols // *Electrophoresis.* 2003. Vol. 24. P. 2099–2105.
20. Porrassa S. P., Kuldvee R., Palonen S., Riekkola M.-L. Capillary electrophoresis of methyl-substituted phenols in acetonitrile // *J. Chromatogr. A.* 2003. Vol. 990 P. 35–44.
21. Porras S. P., Kuldvee R., Jussila M., Palonen S., Riekkola M.-L. Capillary zone electrophoresis of phenol and methylphenols at high pH in methanol // *J. Sep. Sci.* 2003. Vol. 26. P. 857–862.
22. Lide D.R. *Handbook of chemistry and physics.* 84th edition 2003-2004. – CRC Press. – P. 2475.
23. Калякин С.Н., Сурсякова В.В., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И. Гидродинамическое давление электроосмотического потока в капиллярном электрофорезе с косвенным спектрофотометрическим детектированием // *Журн. аналит. химии.* 2009. Т. 64. № 4. С. 415-420.

Development of Methods for Phenols Determination in Drink and Natural Water Using Capillary Electrophoresis and High Performance Liquid Chromatography

**Viktoriya V. Sursyakova^a,
Galina V. Burmakina^{a, b} and Anatoliy I. Rubaylo^{a, b}**

*^a Institute of Chemistry and Chemical Technology,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
42 K. Marks st., Krasnoyarsk, 660049 Russia*

*^b Siberian Federal University
79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia*

The methods for phenols determination in drink and natural water using capillary electrophoresis (CE) and high performance liquid chromatography (HPLC) were developed. The detection limits without pre-concentration are 0,2-0,5 mg/l for CE and 0,02-0,05 mg/l for HPLC. The detection limits with pre-concentration by solid-phase extraction using cartridge DIAPAK P («BioChemMac ST») were high per thousand. It is allows to determine phenols with content at 0,5 of maximum allowable concentration (MAC) and below it.

Keywords: phenols, chlorophenols, drink water, natural water, capillary electrophoresis, high performance liquid chromatography.
