

УДК 543.544.5.068.7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Карасева О.А., студент гр. Х-131, V курс
Научный руководитель: Иванова Н.В., к.х.н., доцент
Кемеровский государственный университет
г. Кемерово

Важнейшей экологической задачей является определение токсикантов различной природы в объектах окружающей среды и сточных водах промышленных предприятий различных сфер деятельности. Фенол и его производные представляют собой вещества высокой степени токсичности. Поэтому определение производных фенола в различных объектах, а также их последующее удаление является актуальной задачей. Для определения фенольных соединений предлагается использовать обращенно – фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), не требующую применения дополнительных стадий дериватизации [1, 2]. Поскольку эти соединения, как правило, характеризуются сильным поглощением в УФ-области спектра, наиболее часто используемым методом детектирования в ВЭЖХ является спектрофотометрия [3]. Одной из основных проблем, возникающих при хроматографировании, является выбор условий эффективного разделения фенольных соединений, например, таких как фенол, резорцин, пирокатехин. Целью данной работы является разработка приемов определения фенольных соединений в различных объектах методом ВЭЖХ.

Анализ выполнялся с использованием жидкостного хроматографа Shimadzu LC-2020Prominence, оборудованного автосамплером SIL-20AD, термостатом колонок СТО-20А и диодно-матричным спектрофотометрическим детектором SPD-M20А. Для разделения использовалась обращенно-фазовая колонка PerfectBond ODS-HDC-18, 250·3,0 mm (5µm). В качестве элюента использовались смеси: ацетонитрил, вода, уксусная кислота 0,1% в изократическом и градиентном режимах. Скорость потока элюента составляла – 0,3см³/мин; температура колонки 30 °С, объем вводимой пробы – 4мкл. Детектирования осуществляли в диапазоне 252 – 292нм.

При элюировании индивидуальных стандартных растворов фенола, резорцина и пирокатехина смесью ацетонитрил: вода в объемном соотношении 65:35, получены хроматограммы с симметричными пиками указанных веществ, основные параметры пиков представлены в табл.1. Видно, что в этих условиях времена удерживания фенольных соединений близки, особенно, пирокатехина и резорцина, поэтому требуется выбор условий разделения пиков путем повышения селективности хроматографической системы.

Таблица 1

Хроматографические характеристики исследуемых веществ, в элюенте ацетонитрил: вода в объёмном соотношении 65:35

Вещество	с, мг/л	Время удерживания t_R , мин	Площадь пика, 10^6 у.е.	Высота пика, 10^5 у.е.
Фенол	0,1	5,687	1,27	1,06
Пирокатехин		4,871	1,48	1,78
Резорцин		4,541	1,76	1,22

Время удерживания хроматографируемого вещества зависит от целого ряда факторов: скорости потока элюента, его состава, рН, температуры. Для того чтобы установить, как изменяется важнейший параметр хроматографирования, проведено исследование влияния объёмного состава элюента на времена удерживания веществ. Получены хроматограммы стандартных растворов фенольных соединений ($c = 0,1$ мг/л) с использованием трёх различных объёмных соотношений компонентов элюента в соотношении: а) 35:65, б) 65:35, в) 75:25 (вода: ацетонитрил). Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Времена удерживания фенолов при различных составах элюента

Состав элюента	Соотношение	t_R , мин (фенол)	t_R , мин (пирокатехин)	t_R , мин (резорцин)
вода: ацетонитрил	35:65	5,69	4,87	4,54
	65:35	7,01	5,96	5,73
	75:25	9,13	6,97	6,84

Установлено, что увеличение объёмного содержания ацетонитрила в подвижной фазе приводит к уменьшению времен удерживания фенолов, однако добиться разделения пирокатехина и резорцина в указанных условиях не удастся. Как известно, фенольные соединения способны диссоциировать по кислотному типу, поэтому следует ожидать влияния рН элюента на результат хроматографирования. Записаны хроматограммы стандартных растворов фенолов в элюенте вода – ацетонитрил - уксусная кислота. Параметры хроматограмм исследуемых веществ в элюентах: А) вода: 0,1% CH_3COOH : ацетонитрил: (30:5:65), Б) вода: 0,1% CH_3COOH : ацетонитрил (60:5:35) приведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние состава элюента на параметры хроматографических пиков фенолов

Элюент	Соотношение	t_R , мин (фенол)	t_R , мин (пирокатехин)	t_R , мин (резорцин)
А	30:5:65	5,74	5,17	4,88
Б	60:5:35	9,37	7,34	7,24

Из полученных данных можно сделать вывод, что увеличение кислотности элюента, как и ожидалось, влияет на времена удерживания компонентов, но пики резорцина и пирокатехина, по-прежнему, не разделяются. Хроматограмма модельной смеси фенолов, полученная в изократическом режиме с элюентом вода: ацетонитрил (35:65) представлена на рис.1.

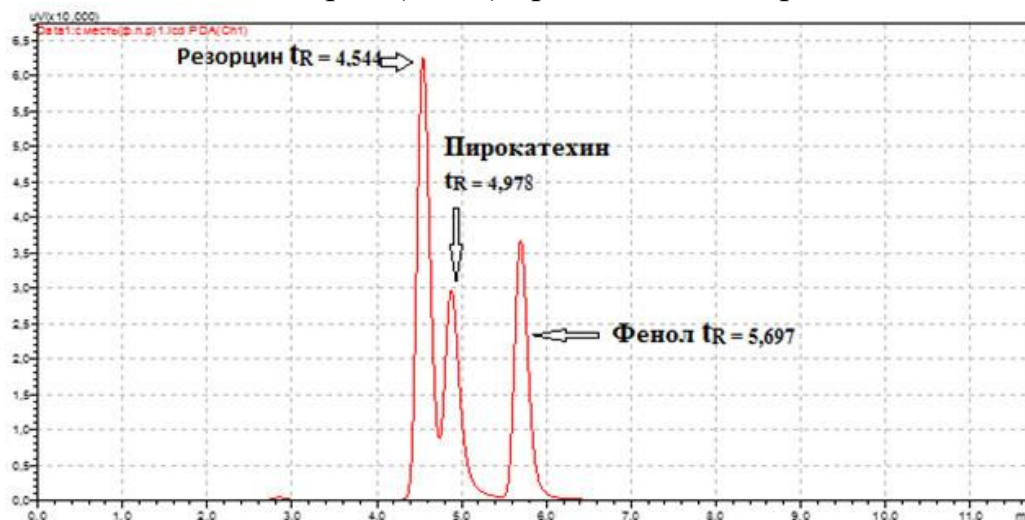


Рис. 1 . Хроматограмма модельной смеси, содержащей фенол, пирокатехин и резорцин (с =0,1 мг/л) в элюенте вода: ацетонитрил(35:65), изократический режим.

С учетом полученных данных была составлена программа градиентного элюирования фенолов с повышением объемной доли ацетонитрила в области времен (3 – 15 мин): 3 мин – 35%, 5 мин – 45%, 7 мин – 55%, 9 мин – 65%, 11 мин – 80% до 15 мин.

При совместном присутствии фенола, резорцина и пирокатехина результат хроматографирования оказался наиболее удачным (рис.2). Видно, что в указанных условиях все компоненты смеси удовлетворительно разделяются.

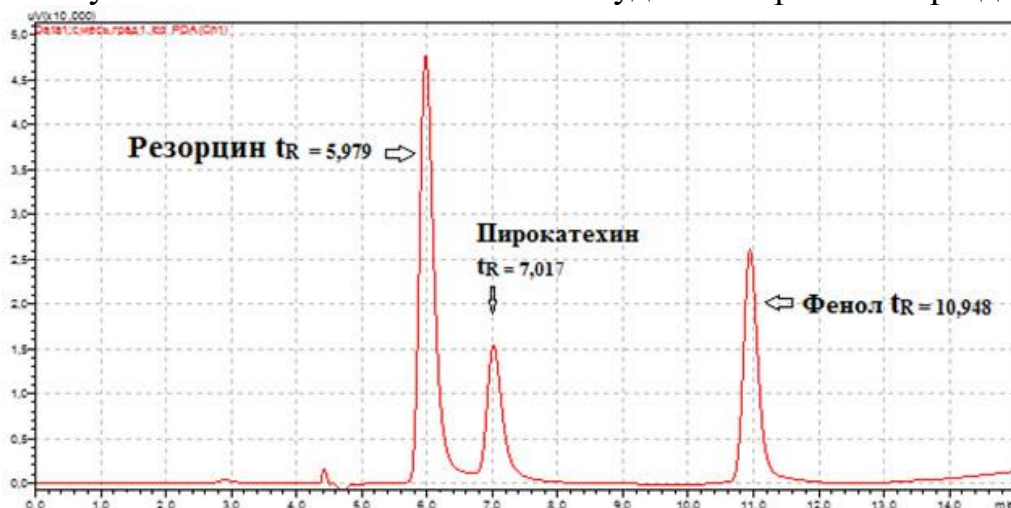


Рис. 3. Хроматограмма модельной смеси, содержащей фенол, пирокатехин и резорцин, градиентный режим, элюент вода: ацетонитрил.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что изменяя состав элюента и объемное соотношение компонентов в нем, можно варьировать не только время удерживания веществ, но и степень их разделения. При увеличении объема ацетонитрила времена удерживания компонентов уменьшаются, что затрудняет их разделение. Поэтому для оптимального разделения смеси фенолов было применено градиентное элюирование и выбрано самое эффективное соотношение компонентов элюента, в этих условиях достигнуто удовлетворительное разрешение пиков.

Список литературы:

1. Wester, R.C. Human in vivo and in vitro hydroquinone topical bioavailability, metabolism, disposition / R.C. Wester, J. Melendres, X. Hui et al. // J. Toxicol. Environ Health. – 1998. – Vol. 54, № 4. – P. 301- 317.
2. Шачнева, Е.Ю. Способы определения фенолов в объектах окружающей среды/ Е.Ю.Шачнева// Астраханский вестник экологического образования. –2013. –№ 4 (26). – С. 138-142.
3. Стыскин, Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография/ Л.Б.Ициксон, Е.В.Брауде.– М.: Химия, 1986. – 288 с.