

УДК 543.544.6:543.721

КОСВЕННОЕ УФ-ДЕТЕКТИРОВАНИЕ В ОДНОКОЛОНОЧНОЙ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Е.В. Иванайнен, А.А. Иванов, А.В. Пирогов, О.А. Шпигун

(кафедра аналитической химии; e-mail: iva9nen@yandex.ru)

В качестве элюентов для косвенного УФ-детектирования изучен ряд ароматических кислот и их солей. Показана связь чувствительности детектирования с молярным коэффициентом поглощения элюента, его концентрацией и элюирующей силой. На сорбенте Nucleosil 10-SA, модифицированном 3,6-иономом, осуществлено разделение смеси семи неорганических анионов с использованием данных элюентов. Для аниона BF_4^- удалось достичь более низкого предела обнаружения, чем в двухколоночной ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием.

Одним из способов детектирования в ионной хроматографии является косвенное спектрофотометрическое детектирование. Этот способ применим в том случае, когда ионы элюента имеют при выбранной длине волны большие коэффициенты молярного поглощения (ϵ) по сравнению с определяемыми ионами [1]. Так как большинство неорганических анионов поглощают излучение только в узкой области спектра 170–220 нм, их детектирование осуществляют при длинах волн, превышающих максимальную границу этого диапазона.

Среди соединений, используемых в качестве элюентов при реализации косвенного УФ-детектирования, наибольшее предпочтение отдается органическим соединениям, содержащим ароматические кольца, в основном это бензол- и нафталин-замещенные карбоновые и сульфоновые кислоты [2, 3]. Эти соединения, как правило, имеют максимумы в УФ-области с относительно высокими значениями ϵ .

Рассмотрим формирование аналитического сигнала в косвенном УФ-детектировании [4]. Элюент имеет некоторое поглощение (E_1) при выбранной длине волны. Это поглощение является базовым сигналом, который до начала разделения приравнивается нулю ($E_1=0$). Вытеснение УФ-поглощающих ионов элюента (молярный коэффициент поглощения ϵ_b) равным количеством УФ-“прозрачных” ионов пробы понижает сигнал базовой линии до значения E_3 . Однако это значение может уменьшаться до E_2 , если компоненты пробы имеют некоторое собственное поглощение (молярный коэффициент поглощения ϵ_s) при длине волны детектирования. Концентрация элюента (c_b), вызывающая поглощение E_1 в динамических условиях не может быть превышена концентрацией пробы (c_s) без перегрузки системы, т.е. нельзя получить сигнал больше, чем E_1 .

Таким образом, согласно закону Ламберта–Бера:

поглощение раствора элюента

$$E_1 = \epsilon_b \cdot c_b \cdot d, \quad (1)$$

поглощение иона пробы

$$E_2 = \epsilon_s \cdot c_s \cdot d, \quad (2)$$

ослабление поглощения при прохождении зоны компонента пробы через детектор:

$$E_3 = \epsilon_b \cdot c_s \cdot d, \quad (3)$$

где d — длина оптического пути.

Сигнал на максимуме пика может быть рассчитан следующим образом:

$$S = E_2 - E_3 = \epsilon_s \cdot c_s \cdot d - \epsilon_b \cdot c_s \cdot d, \quad (4)$$

$$S = (\epsilon_s - \epsilon_b) \cdot c_s \cdot d. \quad (5)$$

Если рассматривать мультивалентный буфер и ионы, то уравнение (3) должно быть скорректировано. С ионами элюента, несущими заряд z , которые вытесняются ионами пробы с зарядом x , E_3 можно представить как:

$$E_3 = x / z \cdot \epsilon_b \cdot c_s \cdot d. \quad (6)$$

Подставив это равенство в уравнение (4), получаем, что для поливалентных ионов величину сигнала в максимуме пика можно рассчитывать по уравнению:

$$S = (\epsilon_s - x / z \cdot \epsilon_b) \cdot c_s \cdot d = \epsilon_b \cdot (\epsilon_s / \epsilon_b - x / z) \cdot c_s \cdot d. \quad (7)$$

Уравнения (5) и (7) демонстрируют появление отрицательных пиков при анализе непоглощающих ионов ($\epsilon_s = 0$). Можно также заметить, что для ионов, имеющих собственное поглощение на рабочей длине волны, могут наблюдаться положительные пики, в случае когда $\epsilon_s / \epsilon_b > x / z$. Кроме того, когда $\epsilon_s / \epsilon_b = x / z$ сигнал и вовсе может отсут-

ствовать. В этом случае должна быть изменена длина волны детектирования.

Из данных уравнений следует, что при прочих равных условиях чем больше коэффициент молярного поглощения элюента, тем выше значение сигнала на максимуме пика. Очевидно, что для повышения чувствительности косвенного спектрофотометрического детектирования предпочтительнее использовать элюенты с высоким значением ϵ . Однако детектор может не компенсировать поглощение раствора с концентрацией, необходимой для успешного элюирования анионов. Кроме того, увеличение фонового поглощения сопровождается, как правило, ростом шума базовой линии (N), поэтому при выборе элюента важно учитывать соотношение сигнал/шум:

$$S/N = c_s \cdot (\epsilon_s - x / z \cdot \epsilon_b) / c_b \cdot \epsilon_b \quad (8)$$

Из уравнения (8) следует, что отношение сигнал/шум улучшается при снижении концентрации элюента. Таким образом, оптимальный элюент для чувствительного косвенного СФ-детектирования должен сочетать в себе высокий коэффициент молярного поглощения и достаточную элюирующую силу, чтобы при его относительно невысоких концентрациях обеспечивалось селективное и эффективное разделение анализируемой смеси за приемлемое время.

Экспериментальная часть

В качестве элюентов были исследованы растворы некоторых ароматических кислот (бензойной, фталевой, сульфосалициловой, бензоилфталевой, 2,6-дипиколиновой, 2-нафтол-3,6-дисульфокислоты, транс- α -фенилкоричной). По предварительно снятым спектрам поглощения были определены их максимумы в УФ-области и рассчитаны соответствующие коэффициенты молярного поглощения (табл. 1).

Работу выполняли на хроматографе "Стайер" фирмы "Аквилон" (спектрофотометрический детектор "UVV 104" с перестраиваемой длиной волны в УФ- и в видимой областях спектра). Разделение осуществляли на колонке 4×100 мм, заполненной сорбентом *Nucleosil 10-SA*, модифицированным 3,6-ионеном [5].

Чувствительность косвенного детектирования в зависимости от коэффициента молярного поглощения элюента определяли путем измерения пределов обнаружения ($S/N = 3$) аниона тетрафторбората. BF_4^- не имеет собственного поглощения в УФ-области спектра. На сорбентах с полимерными матрицами этот анион ведет себя как гидрофобный сильноудерживаемый. По литературным данным [6, 7] предел его обнаружения в двухколоночном варианте с кондуктометрическим детектированием составляет 0,05 мг/л (по бору). На используемом нами сорбен-

Т а б л и ц а 1

Максимумы поглощения используемых в работе соединений и соответствующие им молярные коэффициенты поглощения

Органическая кислота	Длина волны максимума в УФ-диапазоне, λ , нм	Молярный коэффициент поглощения, ϵ , $10^{-3} \cdot \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$
Бензойная	225 254*	7,47 0,53
Бензоилфталевая	235 254*	20,3 8,38
Транс- α -фенилкоричная	275 254*	10,0 7,47
Фталевая	220 254*	7,37 1,17
2,6-Дипиколиновая	270	3,11
Сульфосалициловая	235* 298	7,88 2,43
2-Нафтол-3,6-дисульфокислота	235* 290	29,2 5,10

* Длина волны, используемая в работе.

те время удерживания BF_4^- не превышало 6 мин для большинства используемых элюентов, поэтому смена концентрации элюентов мало влияла на ширину и число теоретических тарелок пика BF_4^- .

Наряду с определением пределов обнаружения BF_4^- рассматривалась возможность разделения смесей анионов, в которые кроме тетрафторбората входили такие стандартные анионы, как хлорид, нитрат, сульфат, а также иодид, тиоцианат и перхлорат. Удовлетворительное разрешение пиков являлось одним из основных критериев при выборе рабочих концентраций исследуемых элюентов. рН элюентов выбирали исходя из констант диссоциации соответствующих кислот, чтобы избежать появления системных пиков.

Результаты и обсуждение

Результаты по удерживанию и пределам обнаружения BF_4^- , полученные на разных элюентах, приведены в табл. 2. Используемые в работе кислоты условно можно разделить на две группы: одноосновные и двухосновные. К первой относятся бензойная, бензоилфталевая и транс- α -фенилкоричная. При рН раствора, превышающем рК, эти соединения находятся в растворе в виде соответствующего

однозарядного аниона, что наряду с размером гидратированного иона определяет их элюирующую способность.

Поскольку бензоат является одним из самых слабых элюентов, требуется относительно высокая его концентрация для достижения приемлемых времен удерживания анализируемых анионов, в частности BF_4^- . Это не позволяет проводить детектирование при длине волны, соответствующей максимуму поглощения бензоата (225 нм) из-за невозможности компенсировать фоновый сигнал, поэтому используют длину волны ($\lambda = 254$ нм), являющуюся наиболее чувствительной для данного детектора. Коэффициент молярного поглощения бензоата в этом случае почти в 14 раз меньше, чем в максимуме, что обуславливает высокий предел обнаружения BF_4^- . Как видно из табл. 2, для 5 мМ бензойной кислоты (рН 5,6) время удерживания BF_4^- составило 3,88 мин, а предел обнаружения — всего 5,4 мг/л. При снижении концентрации бензоата до 2,5 мМ это значение увеличилось, что связано с ростом времени удерживания и сопутствующим уширением пика BF_4^- .

При использовании в качестве элюентов бензоилфталевой и *транс*- α -фенилкоричной кислот детектирование проводили также при $\lambda = 254$ нм. Молярные коэффициенты этих соединений в максимумах поглощения (соответственно 20,3 и $10,0 \cdot 10^{-3} \cdot \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) оказались слишком большими, поэтому даже при использовании 0,4–0,5 мМ растворов фоновый сигнал скомпенсировать не удалось. Невозможность работы с более высокими концентрациями этих соединений объясняется также их крайне плохой растворимостью в воде. Относительно низкие концентрации при существенно более высоких значениях ϵ_{254} позволили снизить предел обнаружения BF_4^- по сравнению с бензоатным элюентом почти в 10 раз (для бензоилфталата). *Транс*- α -фенилкоричная кислота в данной концентрации является довольно слабым элюентом, на что указывает относительно большое время удерживания BF_4^- . Как и бензойная кислота, она не позволяет получить пик сульфат-иона при хроматографировании в течение 1 ч. По-видимому, он размывается на колонке из-за слишком большого времени удерживания.

Существенными недостатками этих соединений как элюентов являются необходимость длительного (>2 ч) уравнивания колонки до выхода на рабочий режим, а также временная нестабильность хроматографических параметров. Уже через некоторое время работы с данными элюентами ухудшается эффективность разделения, на хроматограммах появляются посторонние пики, а время удерживания смещается в меньшую сторону. Вероятно, это связа-

но с наличием в молекулах данных соединений довольно крупных гидрофобных радикалов в виде дополнительных бензольных колец и неионообменной сорбцией на матрице сорбента.

Лучшие результаты были получены при использовании в качестве элюентов двухосновных ароматических кислот: фталевой, 2,6-дипиколиновой, сульфосалициловой и 2-нафтол-3,6-дисульфокислоты. Фталатный элюент наиболее часто используется в косвенном УФ-детектировании. В зависимости от рН фталат может находиться в растворе в виде одно- или двухзарядного аниона, что позволяет изменять силу элюента в зависимости от конкретных задач. Нами были выбраны концентрации 2 мМ (рН 4,7) и 0,4 мМ (рН 7,0). В максимуме, соответствующем 220 нм, фоновый сигнал скомпенсировать не удалось, поэтому детектирование осуществлялось при 254 нм. В диапазоне длин волн 250–270 нм фталат имеет интенсивное поглощение, поэтому чувствительное косвенное УФ-детектирование может быть проведено при любой длине волны из этого диапазона.

Как видно из табл. 2, были достигнуты довольно низкие пределы обнаружения BF_4^- . Причем их значения пропорциональны разнице в концентрациях элюентов, что соответствует изменению соотношения сигнал/шум при переходе от 2 к 0,4 мМ раствору. При этом время удерживания BF_4^- с изменением концентрации практически не изменилось благодаря регулируемому действию рН. Следует также отметить, что фталатный элюент позволил эффективно разделить смесь из семи анионов, включая BF_4^- (рис. 1). Предпочтительнее использование 0,4 мМ элюента с рН 7, который позволяет достичь низкого предела обнаружения (0,16 мг/л) и не дает системного пика на хроматограммах.

Сходные результаты были получены при работе с 2,6-дипиколиновой кислотой. Ее 0,3–0,5 мМ растворы (рН 6,9) позволили проводить детектирование на длине волны 270 нм, соответствующей максимуму в УФ-области. При этом времена удерживания анализируемых анионов практически совпадали с таковыми для фталатного элюента. Коэффициент молярного поглощения в максимуме 2,6-дипиколиновой кислоты примерно в 3 раза выше, чем у фталата на 254 нм, однако это не привело к пропорциональному увеличению отношения сигнал/шум и снижению предела обнаружения BF_4^- . Кроме того, при использовании 2,6-дипиколиновой кислоты на хроматограммах постоянно присутствует посторонний пик, совпадающий по времени с сульфат-ионом (рис. 2). Видимо, это связано с высокой комплексообразующей способностью в отношении ионов щелочноземельных металлов, которые в следовых

Т а б л и ц а 2

Значения пределов обнаружения BF_4^- , полученные на различных элюентах

Элюент	Предел обнаружения BF_4^- , мг/л	Время удерживания BF_4^- , мин	Длина волны детектирования, нм
Бензойная кислота 5,0 мМ, (рН 5,8) 2,5 мМ (рН 6,0)	5,4 8,4	3,88 5,51	254 254
Бензоилфталевая кислота 0,4 мМ (рН 6,4)	0,5	5,03	254
Транс- α -фенилкоричная 0,5 мМ (рН 6,9)	2,2	9,70	254
Фталевая кислота 2,0 мМ (рН 4,0) 0,4 мМ (рН 7,0)	1,0 0,16	3,14 3,27	254 254
2,6-Дипиколиновая кислота 2,0 мМ (рН 4,2) 0,5 мМ (рН 6,7)	1,3 0,20	3,44 3,36	254 270
Сульфосалициловая кислота 0,5 мМ (рН 4,1)	0,05	2,42	234
2-Нафтол-3,6-дисульфокислота 0,1 мМ (рН 4,9)	0,05	2,27	235

количества могут присутствовать в анализируемых растворах.

Наилучших результатов удалось достичь при использовании в качестве элюентов сульфосалициловой и 2-нафтол-3,6-дисульфокислоты. Растворы этих кислот обладают высокой элюирующей способностью, что позволяет применять их в низких концентрациях и осуществлять детектирование при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения.

Сульфосалициловая кислота (pK_{a2} 2,50 и pK_{a3} 11,70) при рН >2,5 находится в растворе преимущественно в форме двухзарядного аниона, и изменение рН элюента практически не сказывается на его элюирующей силе. Отсутствие буферной емкости создает определенные ограничения использования сульфосалициловой кислоты для определения слабоудерживаемых анионов. Изменением рН при сохранении основной элюирующей формы можно дос-

тичь изменения селективности некоторых ионов (например, сульфата) по отношению к рН-независимым анионам. Сульфосалицилат имеет два максимума поглощения (при 298 и 234 нм) с соответствующими значениями ϵ (2,43 и $7,88 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$). Косвенное детектирование проводили при 234 нм, используя 0,5 мМ раствор сульфосалициловой кислоты (рН 3,7–6,7).

Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что достигнутый предел обнаружения BF_4^- составил 0,05 мг/л (0,006 мг/л по бору). Это на порядок превосходит результаты, описанные в литературе для двухколоночной хроматографии с кондуктометрическим детектированием. При этом наблюдалось достаточно эффективное разделение смеси шести анионов, включая BF_4^- (рис. 3). Иодид при 234 нм имеет собственное поглощение и находит отражение в виде положительного пика. Разрешение (R_s) меж-

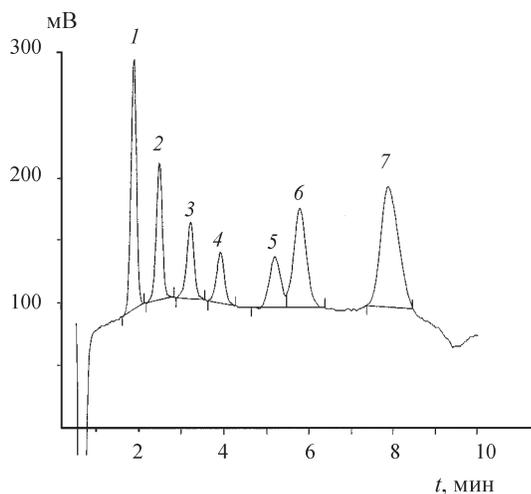


Рис. 1. Хроматограмма модельной смеси анионов: 1 – Cl^- , 2 – NO_3^- , 3 – BF_4^- , 4 – I^- , 5 – SCN^- , 6 – ClO_4^- , 7 – SO_4^{2-} (по 50 мг/л); ПФ: 2 мМ гидрофталата калия (рН 4,7); длина волны детектирования

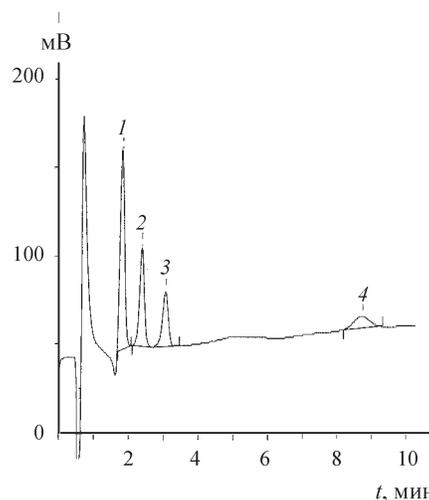


Рис. 2. Разделение смеси: 1 – Cl^- , 2 – NO_3^- , 3 – BF_4^- (по 10 мг/л); 4 – дипиколинат Са; ПФ: 0,5 мМ дипиколиновой кислоты (рН 6,7); длина волны детектирования 270 нм

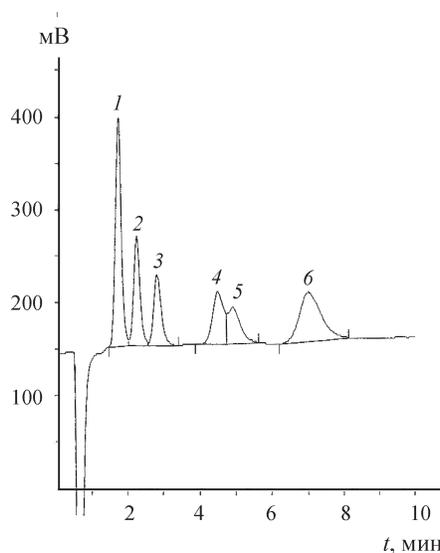


Рис. 3. Хроматограмма модельной смеси анионов 1 – Cl^- , 2 – NO_3^- , 3 – BF_4^- , 4 – SCN^- , 5 – ClO_4^- , 6 – SO_4^{2-} (по 10 мг/л); ПФ: 0,5 мМ сульфосалициловой кислоты (рН 5,5); длина волны детектирования 234 нм

ду пиками BF_4^- и ближайшим к нему NO_3^- составило 1,5.

Аналогичных пределов обнаружения BF_4^- позволяет достичь использование 2-нафтол-3,6-дисульфокислоты. Она имеет высокое значение $\epsilon_{235} = 29,2 \cdot 10^{-3} \cdot \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ в максимуме поглощения. В растворе эта кислота полностью диссоциирует и обладает очень большой элюирующей силой, поэтому ее использование оказалось возможным только в концентрации, не превышающей 0,1 мМ. Растворы

2-нафтол-3,6-дисульфокислоты 0,05–0,1 мМ позволили разделить смесь шести анионов на используемой колонке, однако эффективность разделения была хуже, чем на сульфосалицилатном элюенте. Кроме того, очень низкие концентрации элюента ограничивают верхний диапазон концентраций анализируемой смеси и предполагают анализ очень разбавленных проб.

Таким образом, полученные данные подтверждают тот факт, что чувствительность косвенного УФ-

детектирования повышается с ростом коэффициента молярного поглощения элюента и снижением его концентрации при сохранении оптимальной элюирующей силы. Минимальный предел обнаружения BF_4^- при достаточной эффективности разделения

был достигнут на 0,5 мМ сульфосалицилатном элюенте и детектировании на длине волны 234 нм, причем полученные результаты по чувствительности на порядок превосходят двухколоночный вариант с кондуктометрическим детектированием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Small H., Miller T.E.*// Anal. Chem. 1982. **54**. P. 462.
2. *Шпигун О.А., Золотов Ю.А.* Ионная хроматография и ее применение в анализе вод. М., 1990.
3. *Gao J., Yang W., Kang J., Hou J., Bian H.* // J. Chromatogr. A. 1997. **789**. P. 195.
4. *Steiner F., Beck W., Engelhardt H.*// J. Chromatogr. A. 1996. **738**. P. 11.
5. *Пирогов А.В.*// ЖАХ. 2000. **55**. С. 1285.
6. *Hill C.J., Lash R.P.*// Anal. Chem. 1980. **52**. P. 24.
7. *Williams R.S.* // Anal. Chem. 1983. **55**. P. 851.

Поступила в редакцию 28.11.05

INDIRECT UV-DETECTION IN SINGLE-COLUMN ION CHROMATOGRAPHY

E.V. Ivanaynen, A.A. Ivanov, A.V. Pirogov, O.A. Shpigun

(Division of Analytical Chemistry)

Several aromatic acids and their salts were studied as eluents for indirect UV detection. Relation between detection sensitivity and factor of molar absorptivity of the eluent, its concentration and elution strength was showed. Separation of seven inorganic anions mixture was realized on sorbent Nucleosil SA modified with 3,6-ionene by present eluents. The low limit of anion BF_4^- detection was reached. It was better as compared with double-column ion chromatography with conductometric detection.