

УДК 543

ПРОТОЧНОЕ СОРБЦИОННО-ЖИДКОСТНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОНОЭФИРОВ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ, ВКЛЮЧАЮЩЕЕ ДЕСОРБЦИЮ СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДОЙ

Д.Р. Борисова, Е.Н. Гончарова, М.А. Статкус, Г.И. Цизин

(кафедра аналитической химии)

Показана возможность проточного сорбционно-ВЭЖХ-определения моноэфиров фталевой кислоты. Комбинированная процедура включает концентрирование фталатов из 10 мл воды на пористом графитированном углеродном сорбенте Nurecarb, десорбцию субкритической водой при температуре 150°C, фокусирование аналитов на начальном участке ВЭЖХ-колонки и разделение смесью ацетонитрила и воды.

Ключевые слова: фталаты, сорбционное концентрирование, субкритическая вода, проточное определение.

Одной из приоритетных задач химического анализа является обнаружение и определение токсичных органических веществ в объектах окружающей среды, пищевых продуктах и биологических жидкостях. Эту задачу часто решают с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Однако чувствительность ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором обычно недостаточна для определения малых количеств токсичных веществ. Одним из наиболее распространенных и эффективных способов повышения селективности и чувствительности ВЭЖХ является динамическое сорбционное концентрирование, которое может быть использовано для разработки проточных автоматизированных методов анализа. В таких системах сорбция, десорбция, разделение и детектирование объединены в одном непрерывном цикле анализа: после извлечения определяемых веществ на колонке с сорбентом проводят их десорбцию, поток десорбирующего раствора доставляет вещества в хроматографическую колонку, где происходит их разделение.

Диэфиры фталевой кислоты широко используют в промышленности в качестве пластификаторов. Ввиду повсеместного использования пластиковых изделий фталаты попадают в пищевые продукты и питьевую воду и, следовательно, в организм человека. Согласно недавним исследованиям [1–4], фталаты могут обладать канцерогенными свойствами и влиять на репродуктивную функцию у животных. Их влияние на человека и другие живые организмы пока до конца не изучено. Моноэфиры фталевой кислоты являются продуктами метаболизма диэфиров фталевой кислоты в орга-

низме, поэтому они могут выступать в качестве маркеров контакта человека с последними. Таким образом, актуальна разработка как методов определения диэфиров фталевой кислоты в объектах окружающей среды, так и моноэфиров в биологических жидкостях.

В проточных методах анализа, включающих сорбционное концентрирование и ВЭЖХ, определение гидрофобных органических веществ, десорбцию и разделение аналитов, как правило, производят одним и тем же элюентом, хотя для эффективной десорбции необходимы сильные элюенты, например чистые метанол или ацетонитрил, а для разделения веществ – более слабые. Возникает проблема выбора оптимального состава элюента, подходящего как для десорбции, так и для разделения. Обычно используют элюент средней силы, однако это почти всегда приводит к уширению пиков на хроматограммах [5, 6].

Для решения этой проблемы нами предложено использовать субкритическую воду [7]. Субкритическая вода – это жидкая вода, нагретая под давлением выше 100°C. В таких условиях ее диэлектрическая проницаемость резко снижается, вода становится менее полярной, что приводит к повышению растворимости гидрофобных органических веществ [8–10]. При увеличении температуры элюирующая сила воды возрастает, что позволяет использовать ее для десорбции аналитов. При охлаждении вода вновь становится слабым элюентом. Таким образом, при подаче водного концентрата в хроматографическую колонку на начальном участке колонки будет происходить фокусирование, т.е. дополнительное концентрирование аналитов.

Ранее нами была разработана методика проточного сорбционно-ВЭЖХ-определения фенолов в водах [11], включающая сорбцию аналитов на пористом графитированном углеродном сорбенте Нурегсарб, десорбцию субкритической водой, фокусирование и хроматографическое определение; пределы обнаружения составили 0,6–2 мкг/л. Настоящая работа посвящена разработке аналогичного метода определения моноэфиров фталевой кислоты.

Экспериментальная часть

Реагенты и сорбенты. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду, которую получали на установке «Millipore Simplicity» («Millipore», США), удельное сопротивление воды составляло 18,2 МОм×см. Применяли ацетонитрил степени чистоты «Super Gradient» («Lab-Scan», Ирландия).

Исходные растворы фталевой кислоты, монометилфталата, моноэтилфталата, моно-изобутилфталата, монобензилфталата в концентрации 1 мг/мл готовили растворением навесок этих веществ (степень чистоты >98%, «Sigma-Aldrich») в ацетонитриле. Все растворы хранили в стеклянной посуде с притертыми пробками. Исходные растворы хранили в темноте при +4°C. Для предотвращения разложения веществ в среде субкритической воды анализируемые растворы и подвижную фазу продували азотом.

Для концентрирования аналитов использовали сорбент Нурегсарб – пористый графитированный углерод, размер частиц 30 мкм, средний диаметр пор 25 нм, удельная поверхность 120 м²/г («Thermo Electron Corp.», США). Сорбент помещали в колонку размером 30×2,1 мм.

Аппаратура. Использовали комплекс оборудования для проточного сорбционно-ВЭЖХ-анализа, состоящий из узлов серийно выпускаемого оборудования («Аквилон», Россия). Комплекс включал два насоса высокого давления, автоматический двухинжекторный блок, спектрофотометрический детектор с аналоговым выходом (SP8490). Сигнал детектора регистрировали с помощью внешнего аналого-цифрового преобразователя (E-18 AQU ADC). Управление узлами комплекса осуществляли с помощью персонального компьютера.

Для уменьшения сорбции концентрируемых веществ на магистралях капилляры, через которые прокачивали водные растворы микрокомпонентов, были сделаны из нержавеющей стали, остальные – из полиэфирэфиркетона ПEEK.

Для предварительного нагрева и охлаждения воды использовали отрезки капилляров из нержа-

вующей стали длиной 1,5 м и внутренним диаметром 0,25 мм.

Фталаты разделяли на колонке (150×4,6 мм) Luna C₁₈ («Phenomenex», США), размер частиц сорбента составлял 5 мкм.

Для нагрева подвижной фазы использовали корпус печи (внутренние размеры 22×25×17 см, объем 9 дм³) от газового хроматографа ЛХМ-80 (ЗАО «Хроматограф», Россия), в который нами был установлен трубчатый электронагреватель (ТЭН) мощностью 1800 Вт. Нагрев и термостабилизация осуществляли с помощью электронного термостата ТРМ 10 с термопарой ДТПК (ЗАО «ОВЕН», Россия), к которому было подключено твердотельное реле (PFE-240-D25, «Crydom», США) для управления подачей напряжения сети (220 В) на ТЭН. Собранный прибор (рис. 1) позволяет задавать и поддерживать температуру до 300°C с точностью не хуже 0,5°C. Время нагрева от 20 до 250°C составляло не более 5 мин.

Использовали ограничители давления Р-789 («Upchurch Scientific», США), номинальное создаваемое противодавление 35 атм (при пропускании воды со скоростью 1,0 мл/мин при температуре 20°C).

Результаты и их обсуждение

Прямое ВЭЖХ определение фталатов. На предварительном этапе было необходимо выбрать оптимальные условия прямого ВЭЖХ-определения фталатов. Для этого мы адаптировали описанную в литературе методику ВЭЖХ-определения фталатов [12–15] к имеющемуся в нашем распоряжении оборудованию и материалам. Для подавления диссоциации монофталатов в элюент вводили 0,1 об.% Н₃РО₄, инжестрировали 20 мкл раствора фталатов. Аналиты детектировали при длине волны 226 нм [12–15].

Типичная хроматограмма прямого определения фталатов представлена на рис. 2. Как видно из этого рисунка, пики хорошо разрешены даже в изократическом режиме. Порядок выхода аналитов соответствует их гидрофобности. По полученным хроматограммам рассчитывали параметры градуировочных зависимостей и пределы обнаружения аналитов по дисперсии параметров градуировочной зависимости [16] (табл. 1). В качестве аналитического сигнала использовали площади пиков. Интервал определяемого содержания фталатов составил от 0,1 до 1 мг/л. Относительное стандартное отклонение результатов прямого определения фталатов находится в интервале 0,01–0,13 (табл. 2).

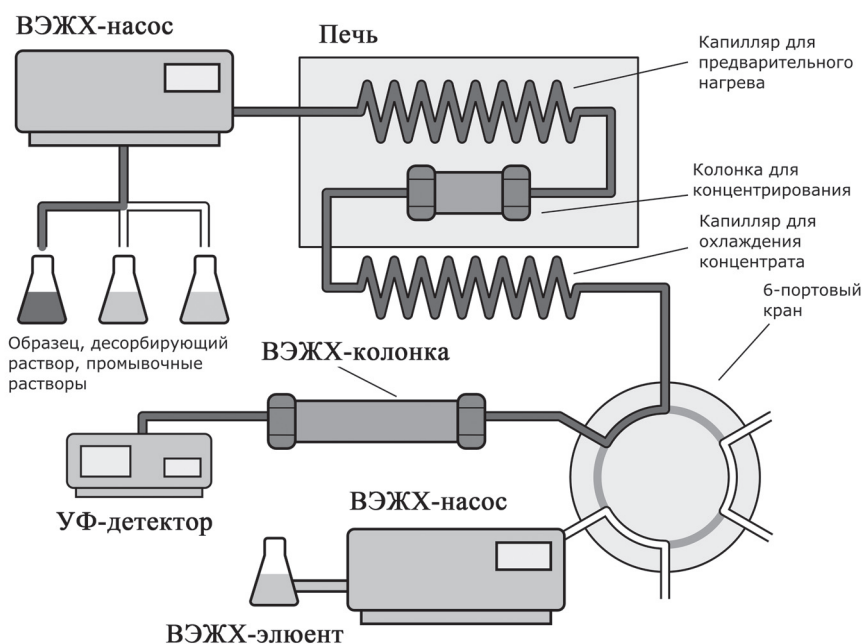


Рис. 1. Схема установки для проведения комбинированной процедуры анализа, включающей сорбцию фталатов, десорбцию в хроматографическую колонку и ВЭЖХ-разделение

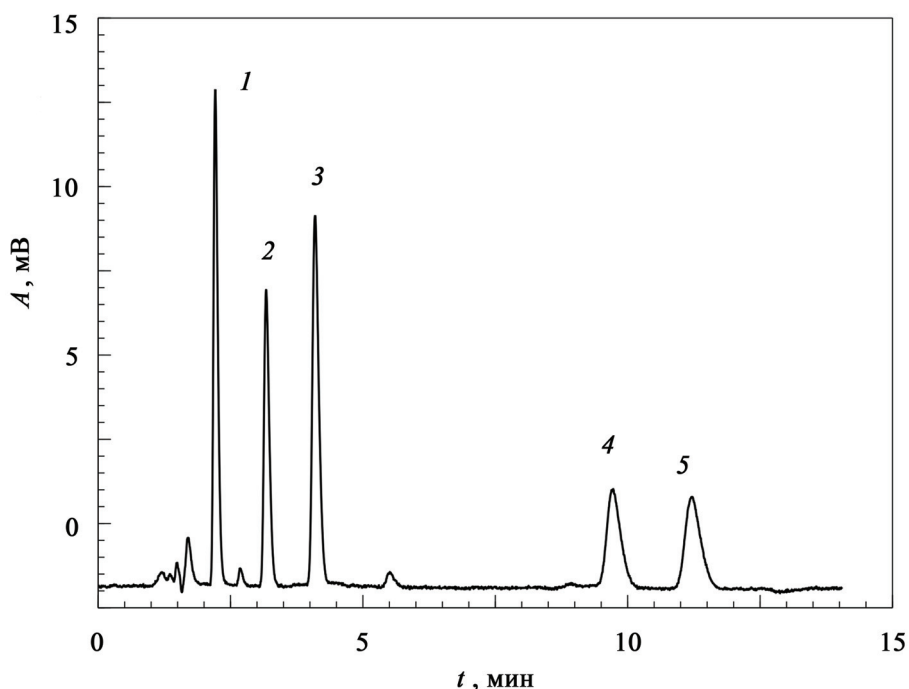


Рис. 2. Хроматограмма, полученная при прямом ВЭЖХ-определении фталатов: 1 – фталевая кислота, 2 – монометилфталат, 3 – моноэтилфталат, 4 – моно-изобутилфталат, 5 – моно-бензилфталат (концентрация каждого аналита 1 мг/л, подвижная фаза – ацетонитрил:вода, содержание воды 60 об. %)

Проточное определение фталатов, включающее сорбцию, десорбцию субкритической водой, фокусирование и ВЭЖХ разделение. При разработке методики определения фенолов [11] на стадии десорбции варьировали температуру суб-

критической воды от 150 до 200°C, в качестве оптимальной была выбрана температура 175°C. При повышении температуры >175°C удалось добиться повышения степени десорбции фенолов, однако некоторые из них подвергались разложению. При

Т а б л и ц а 1

Параметры градуировочных зависимостей и пределы обнаружения при прямом ВЭЖХ определении фталатов Использовали уравнение вида: $S = A \times c + B$

Определяемое вещество	A , мВ \times с \times л/г	B , мВ \times с	R^2	$c_{\text{мин}}$, мг/л
Фталевая кислота	82,52	1,8555	0,99	0,1
Монометилфталат	63,872	-0,4752	0,99	0,1
Моноэтилфталат	95,35	-0,1273	0,99	0,1
Моно-изобутилфталат	56,532	-1,5742	0,99	0,2
Монобензилфталат	58,513	0,6071	0,99	0,2

Т а б л и ц а 2

Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ определения фталатов (c , мг/л, $n = 3 - 4$)

Определяемое вещество	0,10	0,25	0,50	0,75	1,00
Фталевая кислота	0,07	0,02	0,01	0,01	0,01
Монометилфталат	0,06	0,04	0,02	0,01	0,01
Моноэтилфталат	0,11	0,05	0,02	0,01	0,01
Моно-изобутилфталат	—*	0,13	0,03	0,01	0,02
Монобензилфталат	—*	0,05	0,03	0,02	0,01

*Ниже предела обнаружения.

работе с фталатами для предотвращения возможного гидролиза в настоящей работе не проводили экспериментов при температуре выше 150°C. Схема установки для проточного сорбционно-ВЭЖХ-определения фталатов с использованием субкритической воды на стадии десорбции приведена на рис. 1.

При десорбции фталатов раствором ацетонитрил–вода (объемное соотношение 40:60) (пункт 2.1, см. ниже) или субкритической водой при 150°C (п. 2.2) эксперимент включал следующие стадии:

1. На стадии сорбции пропускали через колонку для концентрирования 10 мл раствора фталатов в деионизованной воде с добавлением 0,1 об.% H_3PO_4 со скоростью 1 мл/мин.

2. На стадии десорбции:

2.1. Пропускали через колонку для концентрирования 5 мл подвижной фазы при скорости потока 0,5 мл/мин, раствор после десорбции подавали в ВЭЖХ-колонку.

2.2. Включали нагрев печи, проводили предварительный прогрев в течение 10 мин, после чего включали поток воды через колонку для концентрирования, пропускали 5 мл воды при скорости потока 0,5 мл/мин. Раствор после десорбции охлаждали и подавали в ВЭЖХ-колонку, при этом

происходило фокусирование аналитов в виде узкой зоны в начале ВЭЖХ-колонки.

3. Проводили ВЭЖХ-разделение аналитов смесью ацетонитрил–вода с добавлением 0,1 об.% H_3PO_4 при комнатной температуре.

Хроматограммы, полученные при проведении комбинированной процедуры, представлены на рис. 3. Время удерживания аналитов представлено в табл. 3. При десорбции субкритической водой время удерживания меньше, чем при десорбции водно-ацетонитрильной смесью, так как в первом случае аналиты удерживаются только на хроматографической колонке, в которой разделяются вещества, сконцентрированные на ее начальном участке. При десорбции водно-ацетонитрильной смесью аналиты удерживаются на двух последовательно соединенных колонках. Время удерживания при прямом вводе и в схеме, включающей использование субкритической воды, сравнимо в пределах погрешности измерений.

Степень извлечения аналитов при десорбции смесью ацетонитрил:вода (40:60) составила 91–100%. При десорбции субкритической водой при температуре 150°C степень извлечения ниже, что свидетельствует о незначительной десорбции. После каждого эксперимента колонку для концентрирования промывали смесью

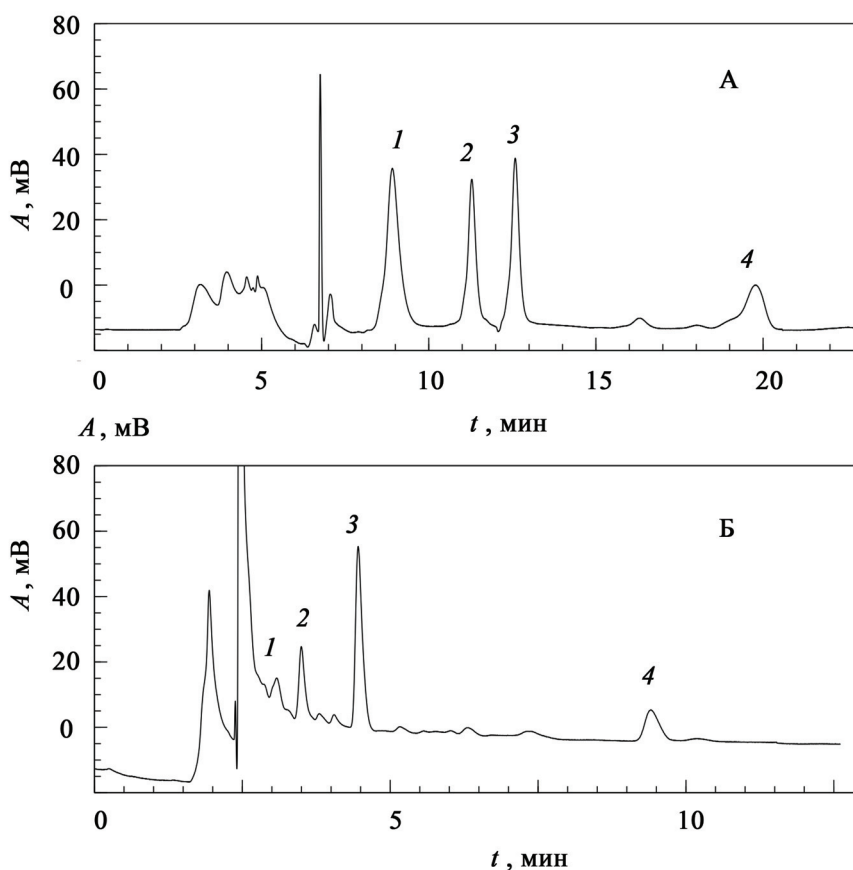


Рис. 3. Хроматограммы, полученные при on-line сорбционно-ВЭЖХ-определении смеси фталатов: *A* – десорбция хроматографическим элюентом ($C = 20$ мкг/л, комнатная температура); *B* – десорбция субкритической водой ($C = 20$ мкг/л, $T = 150^\circ\text{C}$): 1 – фталевая кислота, 2 – монометилфталат, 3 – моноэтилфталат, 4 – моно-изобутилфталат

Т а б л и ц а 3

Время удерживания веществ (мин)

Определяемое вещество	При десорбции подвижной фазой	При десорбции субкритической водой, температура 150°C	При прямом определении
Фталевая кислота	8,9	3	2,2
Монометилфталат	11,3	3,5	3,2
Моноэтилфталат	12,6	4,4	4,1
Моно-изобутилфталат	19,7	9,4	9,7

изопропанол:ацетонитрил (75:25) для удаления оставшихся аналитов. Для решения этой проблемы в дальнейшей работе мы предполагаем повысить температуру до $175\text{--}200^\circ\text{C}$. Ширина пиков при прямом определении и при десорбции субкритической водой практически не различается. Ширина пиков при десорбции субкритической водой в 2–3 раза меньше, чем при десорбции водно-ацетонитрильной подвижной фазой, что объясняется фокусированием на начальном участке хроматографической колонки при подаче водного концентрата (табл. 4). Это демонстрирует потенциальную возможность использования субкритической воды

для анализа сложных смесей с близкими индексами удерживания, где требуются концентрирование и высокая эффективность хроматографического разделения.

По полученным хроматограммам рассчитывали пределы обнаружения аналитов, которые составили $0,17\text{--}0,26$ мкг/л при десорбции субкритической водой. В качестве аналитического сигнала использовали площадь пиков. Относительное стандартное отклонение результатов определения фталатов находится в интервале $0,02\text{--}0,19$ при десорбции водно-ацетонитрильной смесью и $0,02\text{--}0,24$ при десорбции субкритической водой.

Т а б л и ц а 4

Ширина пиков при десорбции подвижной фазой, при десорбции субкритической водой и при прямом определении ($w_{1/2}$, с)

Определяемое вещество	При десорбции подвижной фазой	При десорбции субкритической водой, температура 150°C	При прямом определении
Фталевая кислота	24	8	5
Монометилфталат	15	6	7
Моноэтилфталат	14	7	8
Моно-изобутилфталат	37	16	17

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-23-00012).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koch H.M., Gonzalez-Reche L.M., Angerer J. // J. Chromatogr. B. 2003. Vol. 748. P.169.
2. Milgram K.E., Silva M.J., Malek N.A., Reidy J.A., Needham L.L., Brock J.W. // Anal. Chem. 2000. Vol. 72. P. 4127.
3. Itoh H., Yoshida K., Masunaga S. // Environ. Sci. Technol. 2007. Vol. 41. P. 4542.
4. Hauser R., Calafat A.M. // Occup Environ Med. 2005. Vol. 62. P. 806.
5. Brouwer E.R., Kofman S., Brinkman U.A.T. // J. Chromatogr. A. 1995. Vol. 703. P. 167.
6. Kataoka H., Lord H., Yamamoto S. // J. Microcol. Sep. 2000. Vol. 12. P. 493.
7. Statkus M.A., Sokhranyaeva A.S., Tsylin G.I., Zolotov Yu.A. // Mendeleev Commun. 2011. Vol. 21. P. 270.
8. Pawlowski T. M., Poole C. F. // Anal. Commun. 1999. Vol. 36. P. 71.
9. Guillarme D., Heinisch S., Rocca J. L. // J. Chromatogr. A. 2004. Vol. 1052. P. 39.
10. Teutenberg T., Goetze H.-J., Tuerk J., Ploeger J., Kiffmeyer T.K., Schmidt K.G., Kohorst W., Rohe T., Jansen H.-D., Weber H. // J. Chromatogr. A. 2006. Vol. 1114. P. 89.
11. Борисова Д.П., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. // Аналитика и контроль. 2012. Vol. 16. С. 224.
12. Li J., Cai Y., Shi Y., Mou S., Jiang G. // Talanta, 2008. Vol. 74. P. 498.
13. Niu H., Cai Y., Shi Y., Wei F., Mou S., Jiang G. // J. Chromatogr. A. 2007. Vol. 1172. P. 113.
14. Zhang S., Niu H., Cai Y., Shi Y. // Anal. Chim. Acta. 2010. Vol. 665. P. 167.
15. Zhao R., Wang X., Yuan J., Lin J. // J. Chromatogr. A. 2008. Vol. 1183. P. 15.
16. Hubaux A., Vos G. // Anal. Chem. 1970. Vol. 42. P. 849.

Поступила в редакцию 12.03.15

ON-LINE SOLID PHASE EXTRACTION AND HPLC DETERMINATION OF PHTHALIC ACID MONOESTERS BY DESORPTION WITH SUBCRITICAL WATER

D.R. Borisova, E.N. Goncharova, M.A. Statkus, G.I. Tsinin

(Division of Analytical Chemistry)

The possibility of on-line solid phase extraction and HPLC determination of phthalic acid monoesters is demonstrated. Hybrid procedure includes solid phase extraction of phthalates from 10 ml of water sample on porous graphitic sorbent Hypercarb, desorption with subcritical water at 150°C, focusing of the analytes at the initial part of the HPLC column and separation with water-acetonitrile mixture.

Key words: phthalates, solid phase extraction, subcritical water, on-line coupling.

Сведения об авторах: Борисова Дина Рашидовна – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (mordinka@gmail.com); Гончарова Елизавета Николаевна – студентка МГУ имени М.В. Ломоносова (goncharovae.n@mail.ru); Статкус Михаил Александрович – ст. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (mstatkus@gmail.com); Цизин Григорий Ильич – глав. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, профессор, докт. хим. наук (tsinin@analyt.chem.msu.ru).