

УДК 543.382:543.544:541.183

О.М. Иванова, В.А. Ракс, В.Н. Зайцев

**ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЕ ЖИДКОСТНОЕ
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
2,4,6-ТРИНИТРОФЕНОЛА В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДАХ
ПОСЛЕ ЕГО СЕЛЕКТИВНОЙ ТВЕРДОФАЗНОЙ
ЭКСТРАКЦИИ**

Национальный университет им. Тараса Шевченко,
г. Киев, Украина
khalaf@univ.kiev.ua

Предложен новый адсорбент для твердофазно-экстракционного концентрирования 2,4,6-тринитрофенола из водных объектов окружающей среды с последующим его определением в концентрате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве твердофазного экстрагента использовали кремнезем, модифицированный N-эпоксипропилкарбазолом, который в интервале pH $1,5 \pm 2,5$ извлекает до 98 % анализируемого вещества. Емкость сорбента по 2,4,6-тринитрофенолу в области Генри составляет 5,3 мг/г, коэффициенты распределения достигают значений $7,9 \cdot 10^4$ см³/г. Нитрофенолы количественно элюируются в диметилсульфоксид, что позволяет определять их методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором на уровне 18 мкг/дм³.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, комплексы с переносом заряда, кремнезем, 2,4,6-тринитрофенол, твердофазно-экстракционное концентрирование.

Введение. Нитропроизводные ароматической природы являются антропогенными загрязнителями окружающей среды. Они широко применяются в качестве пестицидов [1], пиротехнических средств [2], антисептических препаратов [3], а также являются прекурсорами в производстве некоторых отравляющих веществ [4]. Все нитроароматические соединения (НАС) – высокотоксичны, и, попадая в орга-

© О.М. Иванова, В.А. Ракс, В.Н. Зайцев, 2014

низм, поражают центральную и периферическую нервную систему, печень, мочевыводящие пути, вызывают раздражение кожных покровов и слизистых оболочек дыхательных путей [5]. Например, 2,4,6-тринитротолуол проявляет свою токсичность в питьевой воде уже при концентрации > 2 мкг/дм³ [6]. Масштабное использование НАС, необходимость проведения криминальных экспертиз, проектов по антитеррористической деятельности и разминированию, а также их высокая токсичность требуют разработки надежных и селективных методов определения этих соединений в водных объектах окружающей среды, уровня загрязнения территорий промышленными и военными объектами, заводами боеприпасов. Существующие фотометрические методы, основанные на реакции восстановления нитрофенолов (реакция Яновского [7]), образовании ацидо-солей [8] или комплексов с переносом заряда [9 – 11], часто не удовлетворяют современным требованиям анализа, особенно из-за своей низкой селективности. Поэтому в современной аналитической практике широко используют хроматографические методы [12 – 16], которые, однако, требуют проведения пробоподготовки образца для концентрирования анализируемого вещества и отделения его от основной матрицы. Для этой цели, при определении и идентификации следовых количеств НАС в окружающей среде, используют методы твердофазной экстракции (ТФЭ) [12] и микроэкстракции [17], жидкостной экстракции [14, 15] и микроэкстракции [16]. В качестве адсорбентов для патронов ТФЭ применяют модифицированные силикагели с привитыми октадецильными ($\text{SiO}_2 - \text{C}_{18}$) [16] и β -циклодекстриновыми [18] группами. Адсорбенты, используемые в настоящее время для ТФЭ НАС, не являются селективными и не могут обеспечить требуемое отделение анализируемого вещества от матрицы. В первую очередь это касается полярных НАС, например пикриновой кислоты (2,4,6-тринитрофенол, Pic). Кроме того, ни один из описанных методов ТФЭ, применяемых для концентрирования НАС, не позволяет проводить визуальный мониторинг уровня загрязнения изучаемого объекта или контролировать степень заполнения адсорбента анализируемым веществом.

В данной работе предложена ТФЭ, при помощи которой можно селективно извлекать из водных растворов в фазу адсорбента моно- и полинитрофенолы, независимо от их полярности. Эффективность и селективность извлечения обеспечиваются образованием в поверхностном слое комплексов с переносом заряда (КПЗ) между молекулами

анализируемого вещества и иммобилизованными лигандами. Образование таких комплексов приводит к заметному изменению оптических характеристик адсорбента (его цвета и интенсивности флуоресценции), что позволяет осуществлять предварительный визуальный мониторинг объекта на месте отбора пробы [19]. В данной работе в качестве селективного адсорбента для ТФЭ нитрофенолов из водных растворов использовали кремнезем с иммобилизованными на его поверхности группами N-эпоксипропилкарбазола (ЭПК), которые обладают π-донорными свойствами и могут образовывать КПЗ с π-акцеп-

торными НАС. Способность SiO_2 – ЭПК образовывать КПЗ в фазе адсорбента изучена на примере Рс, 4-нитрофенола и 2,4-динитрофенола (2,4 DNP), а для наиболее важного анализируемого вещества – Рс разработана методика его определения методом ВЭЖХ.

Методика эксперимента. В качестве носителя для синтеза сорбента использовали силикагель фирмы "Merck 60" ($S_{\text{пов}} = 490 \text{ м}^2/\text{г}$, $d_{\text{пор}} = 6 \text{ нм}$), на поверхности которого по методике [20] были ковалентно закреплены аминпропильные группы ($\text{SiO}_2 - \text{NH}_2$).

Раствор 2,4,6-тринитрофенола (перекристаллизованный из 50%-ного спиртового раствора) готовили путем растворения точных навесок в бидистиллированной воде. Для приготовления растворов 0,1 М HCl и NaOH использовали фиксаналы. Кроме того, в опытах использовали этиловый спирт, диметилсульфоксид ("х.ч."), ацетонитрил и метанол ("Merck") без дополнительной очистки.

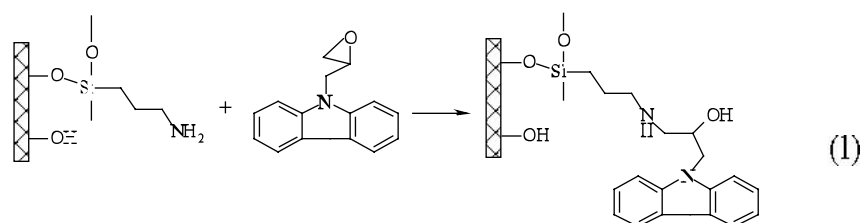
Кислотность растворов контролировали с помощью рН-метра рН-150 МИ. Оптическую плотность растворов измеряли на КФК-2-УХЛ 4.2. Спектры диффузного отражения окрашенных сорбентов записывали на Spexord M-40 ("Carl Zeiss", Германия); определение НАС методом ВЭЖХ проводили на хроматографе Agilent 1200 с диодно-матричным детектором (ДМД). ИК-спектры с Фурье-преобразованием записывали в таблетках без наполнителя на спектрометре Nicolet 4700/6700 FT-IR ("Thermo").

Методика приготовления адсорбента для патрона ТФЭ. К 1 г $\text{SiO}_2 - \text{NH}_2$ прибавляли раствор ЭПК (0,16 г) в толуоле. Смесь кипятили в течение 8 ч, после чего твердую фазу отделяли фильтрованием, переносили в аппарат Сокслета и промывали толуолом до отсутствия ЭПК в промывном растворе, затем ее высушивали при 120°C в течение 8 ч. Получали $\text{SiO}_2 - \text{ЭПК}$, который, по данным элементного анализа, содержал 460 мкмоль/г пропилкарбазольных групп.

При изучении сорбционных характеристик SiO_2 – ЭПК в статических условиях к навеске сорбента (0,1 г) приливали 15 см^3 водного раствора Рис, содержащего $0,03 \div 3 \text{ мг}$ анализируемого вещества, и перемешивали в течение времени, достаточного для установления адсорбционного равновесия. Степень извлечения (R , %) изучали в зависимости от pH раствора (для $C_{\text{pic}} = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ М}$), продолжительности контакта фаз, концентрации анализируемого вещества $C_{\text{pic}} = (0,4 \div 10,0) \cdot 10^{-5} \text{ М}$. Коэффициенты распределения пикриновой кислоты между сорбентом и раствором рассчитывали по ее остаточному количеству в растворе [8]. Элюирование анализируемого вещества в диметилсульфоксиде (ДМСО) проводили в динамических условиях, отбирая порции по 1 см^3 .

Определение пикриновой кислоты проводили в режиме градиентного элюирования на хроматографе Agilent 1200 с ДМД. Использовали колонку Eclipse ($4,6 \times 250 \text{ мм}$), а также подвижные фазы: А – деионизованная вода (pH 7); Б – ацетонитрил. Программа градиента: 0 мин (А – 95, Б – 5 %); 1 мин (А – 80, Б – 20 %); 3 мин (А – 60, Б – 40 %); 5 мин (А – 25, Б – 75 %); 8 мин (А – 95, Б – 5 %).

Результаты и их обсуждение. Идея создания адсорбента для селективного извлечения НАС из раствора базируется на их способности образовывать КПЗ с некоторыми полиароматическими соединениями, в частности с производными карбазолов. Для получения адсорбента использовали способность ЭПК реагировать с алкиламинами. Если в качестве амина применять кремнезем с ковалентно-закрепленными на его поверхности аминопропильными группами ($\text{SiO}_2 - \text{NH}_2$), то его обработка ЭПК приведет к ковалентной иммобилизации этой молекулы на поверхности с образованием SiO_2 – ЭПК:



Иммобилизация ЭПК на кремнеземе подтверждается данными термогравиметрии, ИК-спектроскопии и люминесценции. Например, SiO_2 – ЭПК, в отличие от $\text{SiO}_2 - \text{NH}_2$, обладает интенсивной люминесценцией с максимумом при 406 нм. Показано, что выдерживание SiO_2 – ЭПК в водном растворе в интервале pH $1 \div 8$ не приводит к изменению его спектроскопических и адсорбционных характеристик, из чего сле-

лан вывод о гидролитической устойчивости полученного адсорбента в изученном интервале кислотности.

Методом электронной спектроскопии диффузного отражения (СДО) исследовано взаимодействие SiO_2 – ЭПК с водными растворами различных нитрофенолов. Установлено, что при погружении SiO_2 – ЭПК в разбавленный водный раствор нитрофенолов адсорбент окрашивается в оранжево-красный цвет, что проявляется в СДО в виде интенсивной полосы поглощения с максимумом при 480 – 500 нм (рис. 1).

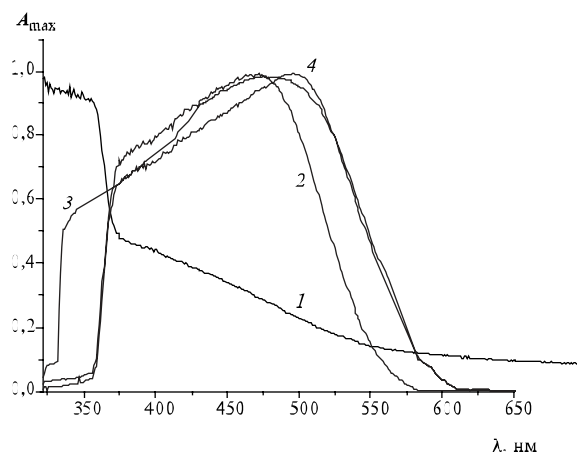
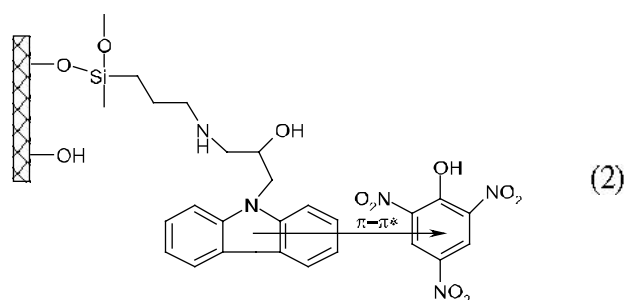


Рис. 1. Нормализованные спектры диффузного отражения SiO_2 – ЭПК до (1) и после его обработки растворами 4-нитрофенола (2), 2,4-динитрофенола (3) и 2,4,6-тринитрофенола (4) при pH 2.

Такое поглощение свидетельствует о специфической адсорбции нитрофенолов на SiO_2 – ЭПК за счет образования КПЗ иммобилизованными на поверхности SiO_2 – ЭПК группами карбазола:



Эффективность адсорбции нитрофенолов из водного раствора в статических условиях была исследована на примере наиболее полярного из

всех изученных НАС – пикриновой кислоты (рН 1 ÷ 8). Как видно из рис. 2, в диапазоне рН 1,5 ÷ 3,5 наблюдается интенсивное извлечение Ріс адсорбентом, которое при рН 2,1 ± 0,1 составляет 98 ± 1 %.

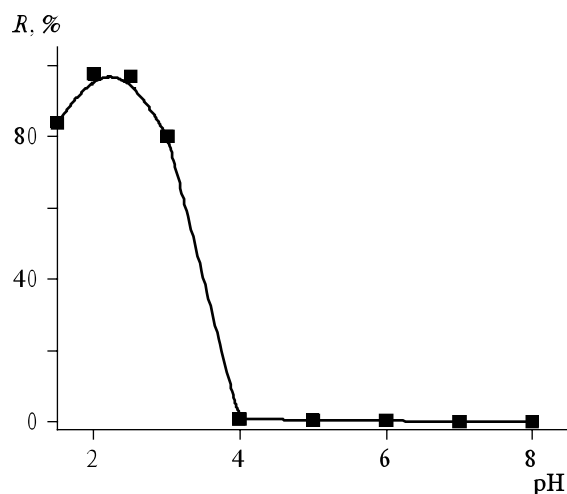


Рис. 2. Зависимость степени извлечения (R , %) 2,4,6-тринитрофенола на SiO_2 – ЭПК от рН раствора (m – 0,1 г, V – 15 см³, C_{pic} – $3,5 \cdot 10^{-4}$ М, τ – 60 мин).

В оптимальном диапазоне кислотности была изучена изотерма сорбции Ріс на SiO_2 – ЭПК (рис. 3). Показано, что Ріс интенсивно извлекается из водного раствора на SiO_2 – ЭПК вплоть до 5,1 мг/г сорбента.

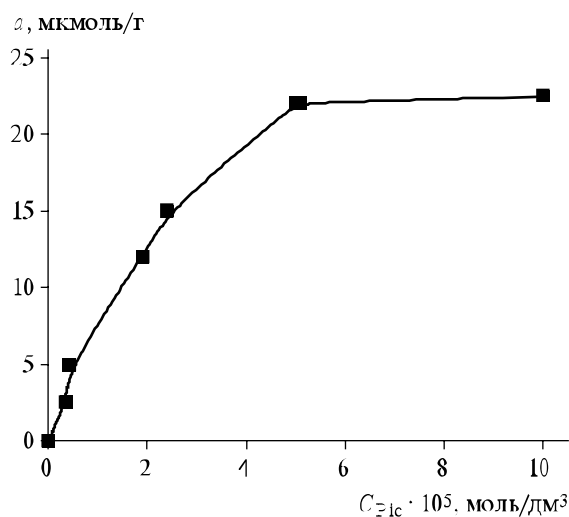


Рис. 3. Изотерма сорбции 2,4,6-тринитрофенола на SiO_2 – ЭПК (m – 0,1 г, V – 15 см³).

Изотерма адсорбции имеет выпуклый вид и линеаризуется в координатах Ленгмюра ($Q = 28,5$ мкмоль/г, $b = 0,05$). Коэффициенты распределения P_{1c} в области Генри достигают значений $7,9 \cdot 10^4$ см³/г, что дает возможность проводить 4700-кратное абсолютное концентрирование P_{1c} в фазе адсорбента из 0,5 дм³ раствора.

Высокое сродство адсорбента к нитрофенолам позволяет применить SiO_2 – ЭПК для извлечения нитрофенолов из разбавленных растворов в статическом режиме. Установлено, что при использовании 0,1 г SiO_2 – ЭПК достигается количественное извлечение пикриновой кислоты в интервале концентраций $(1,6 \div 30) \cdot 10^{-6}$ моль/дм³ (рис. 4, а).

С целью хроматографического определения НАС в концентрате необходимо было оптимизировать условия элюирования адсорбатов с SiO_2 – ЭПК. С учетом выбранного метода анализа, в качестве элюентов исследован целый ряд растворителей, совместимых с ВЭЖХ-определением. Установлено, что обычные растворители не приводят к десорбции P_{1c} и только при использовании диметилсульфоксида (ДМСО) удалось достичь более чем 90 %-ного элюирования P_{1c} в концентрат (см. рис. 4, б). При использовании 8 см³ этого элюента и SiO_2 – ЭПК в качестве ТФЭ может быть достигнуто более чем 100-кратное абсолютное концентрирование P_{1c} при общем выходе не менее 79 %.

В оптимальных условиях проведено аналитическое концентрирование P_{1c} и 2,4-динитрофенола из их водных растворов и определены аналитические характеристики методики их ВЭЖХ-определения с применением диодно-матричного детектирования. Для расчета предела обнаружения (ПО) и количественного определения (ПКО) пикриновой кислоты и 2,4-DNP использовали 3S и 10S-критерии. Линейное увеличение площади хроматографического пика анализируемого вещества при повышении его концентрации в растворе наблюдалось при длине волны детектирования $\lambda = 360$ нм, которую и выбрали в качестве рабочей. Результаты расчета аналитических параметров представлены в табл. 1.

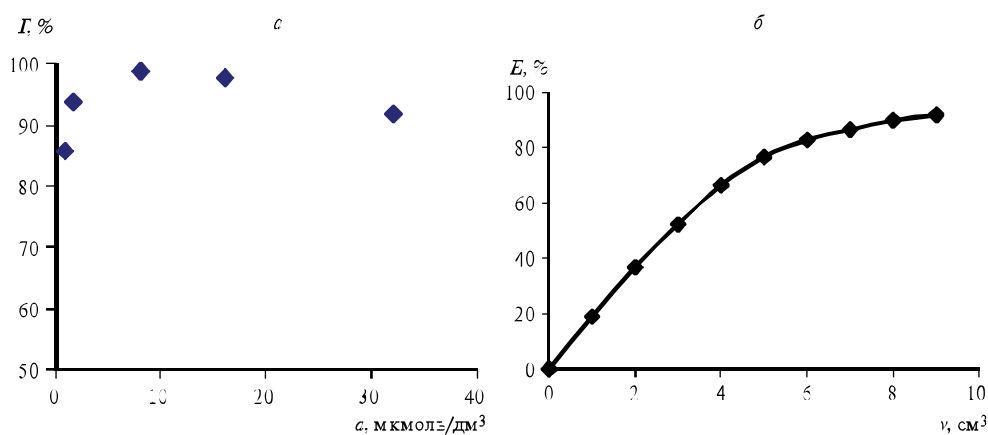


Рис. 4. Зависимость степени извлечения 2,4,6-тринитрофенола в фазы адсорбента (а) и элюента (б) от его концентрации в водном растворе (а) и объема диметилсульфоксида (б). ($m(\text{SiO}_2 - \text{ЭПК}) = 0,1 \text{ г}$, $\text{pH } 2$)

Таблица 1. Параметры уравнений градуировочного графика и значения пределов обнаружения и количественного определения пикриновой кислоты и 2,4-DNP

| Вещество, мг/дм³ | λ , нм | a | b | ПО | ПКО | ПО* | ПКО* |
|------------------|----------------|-----------------|-----------------|--------|-----|---------|------|
| | | | | мг/дм³ | | мкг/дм³ | |
| Рис | 360 | $0,24 \pm 1,5$ | $12 \pm 0,2$ | 0,4 | 1,3 | 5 | 18 |
| 2,4-DNP | 360 | $0,24 \pm 0,26$ | $1,56 \pm 0,01$ | 0,5 | 1,7 | 7 | 24 |

*ПО и ПКО – пределы обнаружения и количественного определения анализируемых веществ с учетом их концентрирования из 500 см³ раствора и элюирования 4 см³ ДМСО.

Влияние основных солевых компонентов воды на правильность определения Рис в водных матрицах показаны в табл. 2, из которой видно, что при концентрациях анализируемого вещества, близких к ПКО, катионы изученных металлов, скорее всего, не оказывают влияние на качество анализа, тогда как присутствие хлорид-анионов снижает общий выход Рис. Это свидетельствует о необходимости использования подхода "введено – найдено" при анализе вод с неизвестным минеральным составом.

Апробацию предложенного способа ТФЭ концентрирования пикриновой кислоты проводили на поверхностных водах методом

"введено – найдено". Для исследования использовали речную, озерную и грунтовую воды (табл. 3).

Таблица 2. Влияние посторонних веществ на правильность определения пикриновой кислоты методом ВЭЖХ после ее сорбционного концентрирования на SiO_2 – ЭПК ($n = 3$; $P = 0,95$)

| Соединение | Соотношение концентраций | Найдено Pис, мкг | S_p , % |
|---------------------------------|--------------------------|------------------|-----------|
| – | – | 19,3 | 2 |
| NaCl | 1:100 | 15,8 | 21 |
| NaNO ₃ | 1:100 | 19,7 | 2 |
| Na ₂ SO ₄ | 1:100 | 18,4 | 1 |
| FeCl ₃ | 1:100 | 14,6 | 27 |
| CaCl ₂ | 1:100 | 15,3 | 24 |

Примечание. Введено Pис – 22,3 мкг; m – 0,1 г; V_1 (объем пробы природной воды) – 100 см³; V_2 (объем элюата) – 4 см³; ν – 1 см³/мин.

Таблица 3. Результаты определения пикриновой кислоты в природных водах методом "введено–найдено" на SiO_2 – ЭПК ($n = 3$; $P = 0,95$)

| Вода | Введено | Найдено | S_p , % |
|-----------------------------|---------|----------|-----------|
| | мкг | | |
| Речная, (г. Горловка) | 0 | 0,0±0,01 | – |
| | 20,1 | 20,0±0,2 | 1,1 |
| Грунтовая, (г. Горловка) | 0 | 2,6±0,8 | – |
| | 20,1 | 22,8±0,2 | 0,92 |
| Озерная (г. Киев) | 0 | 0,0±0,02 | – |
| | 20,1 | 19,9±0,3 | 1,3 |

Примечание. m – 0,1 г; V_1 – 100, V_2 – 4 см³; ν – 1 см³/мин.

Методика определения содержания пикриновой кислоты. Отбирали 0,1 ÷ 0,5 дм³ озерной или речной воды, содержащей до 2,3 мг Pис, фильтровали, доводили до pH 2,1 ± 0,1 и пропускали через колонку ТФЭ, заполненную SiO_2 – ЭПК (m – 0,1 г, d – 5 мм, h – 10 мм) со скоростью 1,0 см³/мин. Изменение окраски адсорбента в колонке свидетель-

ствовало о наличии нитрофенолов в воде. После прохождения всего объема пробы колонку промывали водой (10 см³), высушивали, пропуская воздух сквозь патрон, и элюировали анализируемое вещество 4 ÷ 6 см³ ДМСО со скоростью 1,0 см³/мин. При определении содержания пикриновой кислоты в концентрате отбирали аликвоту 1 мм³ и анализировали методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с ДМД. При этом использовали колонку Eclipse (4,6 x 250 мм, размер частиц – 5 мкм); подвижные фазы: А – деионизированная вода при рН 7; Б – ацетонитрил. Программа градиента: 0 мин (А – 95 %, Б – 5 %); 1 мин (А – 80, Б – 20 %); 3 мин (А – 60, Б – 40 %); 5 мин (А – 25, Б – 75 %); 8 мин (А – 95, Б – 5 %); скорость потока подвижной фазы – 1,0 см³мин⁻¹; λ = 360 нм. Концентрацию пикриновой кислоты определяли методом "введено – найдено" из зависимости площади пика этой кислоты от содержания последней.

Выводы. Как видно из приведенных данных, предложенный подход позволяет селективно концентрировать из поверхностных вод как хорошо (Рис), так и плохо водорастворимые нитрофенолы на уровне ПДК. Изменение окраски адсорбента в патроне для ТФЭ свидетельствует о возможном загрязнении воды нитрофенолами. Степень загрязнения воды определяют методом ВЭЖХ после элюирования анализируемых веществ в ДМСО.

Резюме. Запропоновано новий адсорбент для твердофазно-екстракційного концентрування 2,4,6-тринітрофенолу з водних об'єктів навколишнього середовища з наступним визначенням в концентраті методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Як твердофазний екстрагент використовували кремнезем, модифікований N-епоксипропілкарбазолом, який в інтервалі рН 1,5 ÷ 2,5 вилучає до 98 % речовини, що аналізується. Ємність сорбенту за 2,4,6-тринітрофенолом в області Генрі становить 5,3 мг/г, коефіцієнти розподілу досягають значень 7,9·10⁴ см³/г. Нітрофеноли кількісно елююються в диметилсульфоксид, що дозволяє визначати їх методом ВЕРХ з діодно-матричним детектором на рівні 18 мкг/дм³.

HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF 2,4,6-TRINITROPHENOL IN SURFACE WATERS AFTER ITS SELECTIVE SOLID-PHASE EXTRACTION

Summary

A new adsorbent was proposed for solid-phase extraction of 2,4,6-trinitrophenol from surface waters with further determination of analyte by high-performance liquid chromatography (HPLC). To this purpose, silica gel with covalently immobilized N-epoxypropylcarbazole was proposed. The adsorbent extracts up to 98% of the analyte at pH 1,5 ÷ 2,5. The adsorbent capacity to 2,4,6-trinitrophenols is up to 5.3 mg/g with the distribution coefficients about $7,9 \cdot 10^4$ cm³/g. Nitrophenols quantitatively eluted in dimethyl sulfoxide, which allows them to be determined by HPLC method with diode array detector at level of 18 µg·L⁻¹.

Список использованной литературы

- [1] Мельников Н.Н. Пестициды: Химия, технология и применение. – М.: Химия, 1987. – 712 с.
- [2] Орлова Е.Ю. Химия и технология бризантных взрывчатых веществ. – [3-е. изд.]. – Л.: Химия, 1981. – 312 с.
- [3] Красильников А.П. Справочник по антисептике. – Минск: Высш. шк., 1995. – 367 с.
- [4] Мальшева А.Г., Сотников Е.Е., Московкин А.С. и др. // Гигиена и санитария. – 2004. – № 2. – С. 71–73.
- [5] Schummer C., Groff C., Mille M. // J. Sci. Total. Environ. – 2009. – 407, N 21. – P. 5637–5643.
- [6] EPA. United States Environmental Protection Agency. List of the 129 priority pollutants. – <http://www.epa.gov/wastes/hazard/wastemin/priority.htm>.
- [7] Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 359 с.
- [8] Shormanov V.K., Fursova I.A. // J. Anal. Chem. – 1997. – 52, N 3. – P. 283–87.
- [9] Uzer A., Ergaq E., Apak R. // Anal. Chim. Acta. – 2004. – 505, N 1. – P. 83–93.

- [10] *El-Mossalamy E.H.* //Spectr. Acta, A. – 2004. – **60**, N 5. – P. 1161–67.
- [11] *Elmosallamy M.A.F.* //Anal. Sci. – 2004. – **20**, N2. – P. 285–90.
- [12] *Padilla-Sanchez J.A., Plaza-Bolanos P., Romero-Gonzalez R. et al.* // Talanta. – 2011. – **85**, N5. – P. 2397–404.
- [13] *Cortada C., Vidal L., Canals A.* // Ibid. – 2011. – **85**, N5. – P. 2546–2552.
- [14] *Alcudia-Leon M.C., Lucena R., Cardenas S. et al.* // J. Chromatogr., A. – 2011. – **1218**, N16. – P. 2176–2181.
- [15] *Villar-Navarro M., Ramos-Payan M., Luis Perez-Bernal J. et al.*// Talanta. – 2012.– **99**, – P. 55–61.
- [16] *Pamme N., Steinbach K., Ensinger W.J. u др.*// J. Chromatogr., A. – 2002. – **943**, № 1. – P. 47–54.
- [17] *Lokhnauth J.K., Snow N.H.* //Ibid. – 2006.– **1105**, N1/2. – P. 33–38.
- [18] *Fan Y., Feng Y.Q., Da S.L. et al.* //Anal. Sci. – 2003. – 19, N5. – P. 709–714.
- [19] *Зайцев В.Н., Халаф В.А.* // Вісн. Харків нац. ун-ту. – 2005. – Вип.13(36), №669. – С. 19 – 24.
- [20] *Kholin Y., Zaitsev V.* // Pure and Appl. Chem. – 2008. – **80**, N 7. – P. 1561–1592.

Поступила в редакцию 17.06.2013 г.