



УДК 543.544.32:543.544.054.9:543.51:547.562.33

Идентификация и определение хлорированных фенолов в воде после дериватизации ангидридом монохлоруксусной кислоты газохроматографическим методом

Андреев Ю.А.^{1,2}, Черновьянц М.С.², Морозова В.Е.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гидрохимический институт» (ФГБУ «ГХИ»), Ростов-на-Дону

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» (ФГАОУ ВПО «ЮФУ»), Ростов-на-Дону

Поступила в редакцию 28.04.2014 г.

Аннотация

Предложен газохроматографический метод определения полихлорированных производных фенола после дериватизации ангидридом монохлоруксусной кислоты. Рассмотрены факторы, увеличивающие надёжность идентификации аналитов в пробах реальных объектов: выбраны и обоснованы значения pH среды для экстракции и реэкстракции, проведено сопоставление результатов масс-спектрометрической идентификации дериватов с теоретическим расчётом соотношения интенсивностей линий в изотопном кластере молекулярного иона, подобран внутренний стандарт для газохроматографического разделения монохлорацетатов полихлорфенолов.

Ключевые слова: полихлорфенолы, дериватизация, газовая хроматография (ГХ), хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС)

A gas chromatographic method for determination of polychlorinated phenols after derivatization with monochloroacetic acid anhydride was proposed. The factors that increase the reliability of analytes identification in real samples were considered: pH values for extraction and re-extraction were selected and proved, a comparison of the results of mass-spectrometric identification of derivatives with the theoretical calculation of the intensities ratio of lines in the isotopic cluster of the molecular ion was carried out, internal standard for gas chromatographic separation monochloroacetates of polychlorophenols was selected.

Keywords: polychlorophenols, derivatization, gas chromatography (GC), gas chromatography with mass-spectrometry (GC-MS)

Введение

Фенол и его производные в природных, сточных и питьевых водах являются широко распространённым объектом изучения уже длительное время. В списке приоритетных загрязняющих веществ полихлорфенолы стоят на одном из первых мест, что объясняется большим объёмом их мирового производства. Главная опасность полихлорфенолов для окружающей среды и человека состоит в том, что при конденсации двух любых молекул полихлорфенолов возможно образование

чрезвычайно токсичных ксенобиотиков – полихлорированных дибензо-*n*-диоксинов и дибензофуранов, ПДК которых в 10^5 - 10^6 раз меньше, чем исходных веществ.

Анализ фенола и его производных представляет собой сложную аналитическую задачу. Это обусловлено чрезвычайно низкими значениями ПДК, требует применения высокочувствительных методов их определения на столь низком уровне концентраций, а также их высокой гидрофильностью и связанными с этим трудностями при концентрировании. Наиболее информативны при анализе многокомпонентных смесей хроматографические методы. Для достижения низких пределов определения хлорированных фенолов в воде требуется их предварительное концентрирование и химическая модификация – дериватизация. Наиболее распространённый вариант ацетилирования сильно ограничен в применении на практике по причине присутствия уксусного ангидрида в списке прекурсоров.

Цель данной работы была в проведении газохроматографического разделения полихлорфенолов после дериватизации ангидридом монохлоруксусной кислоты.

Эксперимент

В работе применяли образцы веществ полихлорфенолов и монохлоруксусный ангидрид производства фирм Supelco, Aldrich, Sigma и Riedel-de Haen или государственные стандартные образцы (ГСО): 2,4-дихлорфенол (2,4-ДХФ), 99,0% (ГСО 7198-95); 2,5-дихлорфенол (2,5-ДХФ), 98,0%; 2,3-дихлорфенол (2,3-ДХФ), 98,0%; 2,6-дихлорфенол (2,6-ДХФ), 99,0%; 3,4-дихлорфенол (3,4-ДХФ), 99,0%; 3,5-дихлорфенол (3,5-ДХФ), 99,8%; 2,4,6-трихлорфенол (2,4,6-ТХФ), 98,0% (ГСО 7103-94); 2,4,5-трихлорфенол (2,4,5-ТХФ), 99,0%; 2,3,5-трихлорфенол (2,3,5-ТХФ), 97,9%; 2,3,6-трихлорфенол (2,3,6-ТХФ), 99,6%; 2,3,4-трихлорфенол (2,3,4-ТХФ), 99,0%; 3,4,5-трихлорфенол (3,4,5-ТХФ), 99,4%; 2,3,5,6-тетрахлорфенол (2,3,5,6-ТеХФ), 99,9%; 2,3,4,5-тетрахлорфенол (2,3,4,5-ТеХФ), 99,9%; 2,3,4,6-тетрахлорфенол (2,3,4,6-ТеХФ), 99,3%; пентахлорфенол (ПХФ), 98,0% (ГСО 7102-94) и ангидрид монохлоруксусной кислоты, 97,0 %. Использовали растворители и экстрагенты отечественного производства после очистки двукратной перегонкой.

Газохроматографический анализ выполняли на газовом хроматографе «Кристалл 2000М» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия) с электрозахватным детектором (ЭЗД) с кварцевой капиллярной колонкой HP-5 (Agilent Technologies, США) с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксаном длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной плёнки фазы 0,25 мкм. Режим хроматографа для анализа полихлорфенолов в виде монохлорацетатов был следующий: температура испарителя (инжектора) 260 °С; температура детектора 280 °С; газ-носитель водород со скоростью 2 см³/мин при делении потока 1:5. Для анализируемых монохлорацетатов полихлорфенолов наилучшее разделение было достигнуто при следующем программировании термостата колонки: начиная со 100 °С температуру увеличивали до 220 °С со скоростью 8 °С/мин. Общее время анализа составило 15 минут.

Хромато-масс-спектрометрический анализ выполняли на газовом хроматографе с масс-селективным детектором Agilent Technologies 6850/5975С с кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS (Agilent Technologies, США) с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксаном длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной плёнки фазы 0,25 мкм. Режим хроматографа для анализа полихлорфенолов в виде монохлорацетатов был следующий: температура переходной в детектор зоны (интерфейса) 280 °С;

температура испарителя (инжектора) 250 °С; в качестве газа-носителя использовался гелий со скоростью 1 см³/мин при делении потока 1:10. Температуру колонки программировали аналогичным выше приведённому образом. Масс-спектрометрическое детектирование выполняли в режиме сканирования (SCAN) диапазона масс 40-350 а.е.м. и регистрировали хроматограммы по полному ионному току (TIC). Для расшифровки и идентификации масс-спектров использовалась библиотека NIST 2008.

Градуировочные растворы полихлорфенолов готовили объёмно-весовым методом, а пробы воды с добавками – объёмным методом, относительные погрешности приготовления не превышали 4%. Извлечение и концентрирование хлорированных фенолов проводили экстракцией толуолом из пробы воды при pH 2. Проведение стадии дериватизации проводили согласно процедуре, описанной в [1] посредством ацилирования аналитов в толуоле ангидридом монохлоруксусной кислоты с добавлением триэтиламина (катализатор). Схема реакции ацилирования при дериватизации приведена на рисунке 1.

Сконцентрированный экстракт (объёмом 200 мм³) анализировали введением 1-2 мм³ в инжектор хроматографа. Обработку и количественные расчёты по хроматограммам проводили методом внутреннего стандарта.

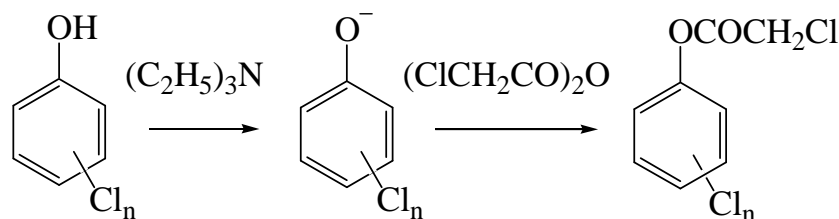


Рис. 1. Схема реакции дериватизации

Обсуждение результатов

Проведение анализа реальных образцов природных объектов, в том числе воды, представляет собой сложную задачу в связи с присутствующими и мешающими определению компонентами пробы (матрицей). Возможными вариантами повышения надёжности результатов анализа на уровне следовых концентраций при пробоподготовке служат селективная экстракция, дериватизация и применение внутреннего стандарта.

Условия экстракции-реэкстракции

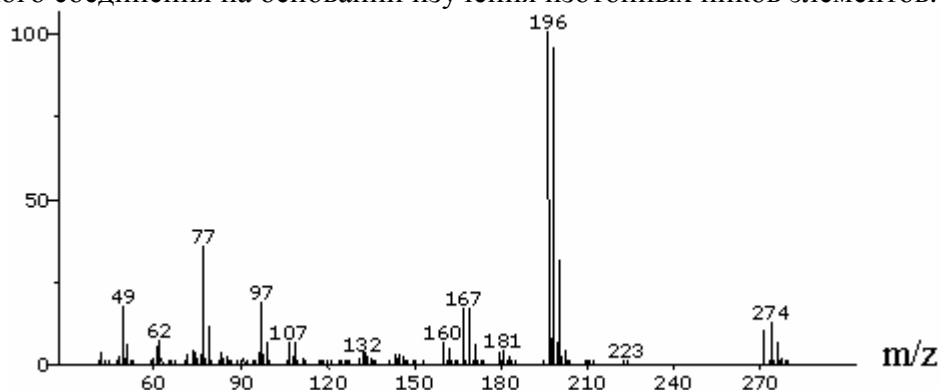
Исходя из значений констант протолитических равновесий pK_a полихлорфенолов, можно подобрать условия при аналитическом изучении сложных равновесных систем (например, экстракции и реэкстракции), а также обосновать выбор условий кислотности среды с целью регулирования pH при анализе. Весь систематический ряд полихлорфенолов охватывает диапазон pK_a от 4,60 до 8,68. Таким образом, зона максимальной экстракции слабой кислоты согласно [2] находится при $pH \leq pK_a - 2$, когда фенолы находятся полностью в молекулярной форме и способны к переходу в органическую фазу, что для всего ряда полихлорфенолов будет при $pH < 2,60$, и полностью депротонированы при $pH \geq pK_a + 2$ и выше (для реэкстракции в водную фазу) – при $pH > 10,68$.

Дериватизация

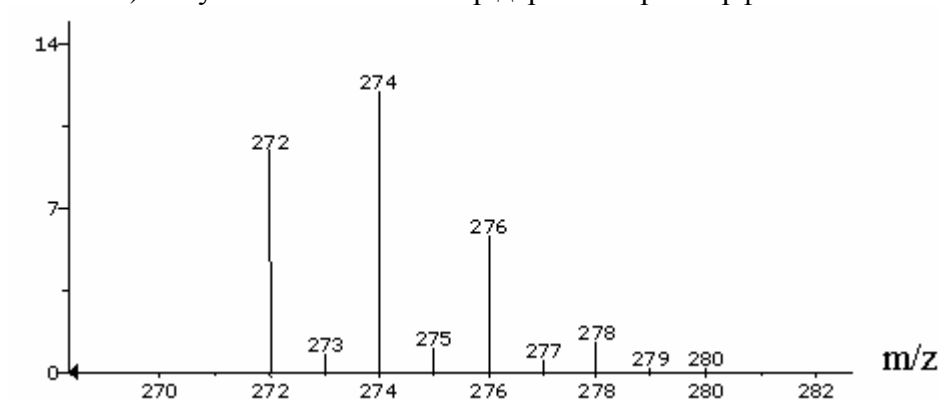
Получение при химическом модифицировании менее полярных дериватов полихлорфенолов приводит к улучшению формы их хроматографических пиков и

позволяет более однозначно проводить идентификацию анализов на хроматограмме реальных проб. Для изучения продуктов реакции дериватизации проводили хромато-масс-спектрометрический анализ после проведения ацилирования. Полученные масс-спектры соответствующих пиков сравнивали с библиотечными: идентифицированы монохлорацетаты дихлорфенолов и пентахлорфенола. Масс-спектры монохлорацетатов остальных полихлорфенолов в имеющейся библиотеке NIST 2008 отсутствовали и были зарегистрированы впервые. На рисунке 2а представлен полученный масс-спектр деривата трихлорфенола, а на рисунке 2б – увеличенный фрагмент масс-спектра в области оси масс молекулярного иона.

При интерпретации масс-спектров и рассмотрении кластера молекулярного иона согласно [3-5] возможно определение элементного состава предполагаемого органического соединения на основании изучения изотопных пиков элементов.



а) полученный масс-спектр деривата трихлорфенола



б) кластер молекулярного иона деривата трихлорфенола

Рис. 2. Масс-спектр, полученный для деривата трихлорфенола

Изотопный кластер, в рассматриваемом случае молекулярный ион, содержащий n атомов хлора, который относится к $(A+2)$ -элементам из-за наличия лишь двух изотопов с разницей в массовых числах 2 единицы ^{37}Cl и ^{35}Cl , будет состоять из $(n + 1)$ пиков. Распределение интенсивностей пиков в ионе можно рассчитать по формуле биномиального закона, зная природное соотношение изотопов элемента (a и b – природное содержание изотопов) и число атомов этого элемента в молекуле по упрощённой формуле разложения суммы

$$\left(1 + \frac{b}{a}\right)^n = 1 + n\left(\frac{b}{a}\right) + \frac{n(n-1)\left(\frac{b}{a}\right)^2}{2!} + \frac{n(n-1)(n-2)\left(\frac{b}{a}\right)^3}{3!} + \dots + \left(\frac{b}{a}\right)^n.$$

Второй член данного ряда соответствует максимальному по интенсивности изотопному пику, причём его интенсивность прямо пропорциональна числу атомов хлора в молекуле вещества [3].

Для атома хлора в литературе приводятся немного различающиеся данные по изотопному составу. Согласно [4] распространённость изотопов хлора составляет 75,40 % ^{35}Cl и 24,60 % ^{37}Cl (относительная распространённость 32,626 %); авторы [3] приводят 75,53 % ^{35}Cl и 24,47 % ^{37}Cl (относительная распространённость 32,398 %); в [5] приведены данные 75,77 % ^{35}Cl и 24,23 % ^{37}Cl (относительная распространённость 31,978 %). В [6, 7] приведены другие относительные распространённости ^{37}Cl к ^{35}Cl 32,5 и 32,399 % соответственно. В техническом отчёте ИЮПАК об изотопном составе элементов 1997 года, определённом масс-спектрометрически, для хлора приведены измеренные значения: 75,771 % ^{35}Cl и 24,229 % ^{37}Cl (относительная распространённость 32,977 %) [8]. В обзоре 2000 года имеются данные, принятые с 1999 года, для хлора 75,76 % ^{35}Cl и 24,24 % ^{37}Cl (относительная распространённость 31,996 %) [9]. В 2002 году уточняющий отчёт содержит очень близкие значения мольной доли изотопов: 75,779 % ^{35}Cl и 24,221 % ^{37}Cl [10] (относительная распространённость 31,963 %).

Учитывая, что программное обеспечение масс-спектрометрической библиотеки NIST 2008 года и официальные сведения по атому хлора в Основной базе данных по атомной спектроскопии NIST [11], а также автор учебника [12] приводят данные, которые практически равны между собой и содержат очень близкие значения к результатам измерений ИЮПАК 1997 года, а все последующие уточнения носят не столь значимые отклонения, нами принята для расчётов распространённость изотопов хлора, равная 75,77 % ^{35}Cl и 24,23 % ^{37}Cl .

В случае образования трихлорфенилхлорацетата соединение должно иметь брутто-формулу $\text{C}_8\text{H}_4\text{Cl}_4\text{O}_2$ и относительную молекулярную массу $M_r = 274$ а.е.м. Таким образом, наиболее интенсивная детектируемая масса кластера иона в масс-спектре m/z 274 соответствует молекулярному иону предполагаемого соединения. При расчёте соотношения интенсивностей пиков в изотопном кластере с 4 атомами хлора и соотношением изотопов $a = 0,7577$ и $b = 0,2423$ получаем

$$(1 + 0,2423/0,7577)^4 = 0,7819 + 1 + 0,4797 + 0,1023 + 0,0082.$$

Расчёт свидетельствует об образовании квинтета с соотношением интенсивностей изотопных пиков в кластере (в %) 78 : 100 : 48 : 10 : 0,8. Такое же распределение интенсивностей, полученное при масс-спектрометрическом анализе, приведено на рисунке 3. Полученные результаты анализа согласуются и с данными [3] относительных интенсивностей сигналов в молекуле, содержащей 4 атома хлора 77 : 100 : 49 : 11 : 1 (разница обусловлена устаревшими данными по распространённости изотопов хлора). При расчёте с учётом инкрементов других элементов с помощью изотопного калькулятора (имеющегося в программном обеспечении масс-спектральной базы NIST) по брутто-формуле предполагаемого соединения получены практически совпадающие результаты, приведённые на рисунке 3. Из представленного сопоставления пиков в кластере видно абсолютное соответствие предполагаемого состава молекулы измеренному масс-спектру.

При дальнейшем рассмотрении масс-спектра полученного соединения (рисунок 2а) следует выделить кластеры наиболее интенсивных сигналов линий катионов трихлорфенольного остатка с m/z 196 и элиминируемого молекулой эфира ацильного остатка с m/z 77, образовавшихся за счёт разрыва сложноэфирной связи деривата. В случае группировки с одним атомом хлора в составе частицы имеется соотношение интенсивностей почти 100 : 30 между пиками в кластере с изотопами хлора ^{37}Cl и ^{35}Cl . При наличии трёх атомов хлора имеется следующее распределение

интенсивностей 100 : 96 : 31 : 3, что хорошо согласуется с кластером остатка трихлорфенола в рассматриваемом масс-спектре.

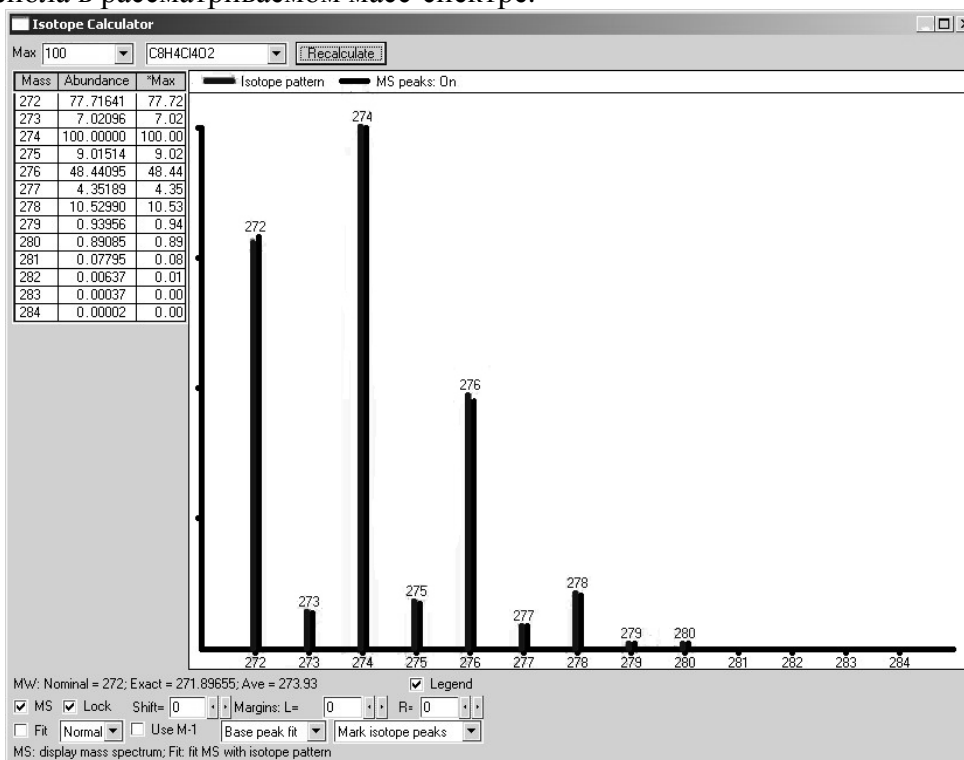


Рис. 3. Сравнение масс-спектров соединения с брутто-формулой $C_8H_4Cl_4O_2$ (линии слева – рассчитанная теоретически интенсивность, линии справа – измеренная практически)

Схема распада трихлорфенилхлорацетата с разрывом эфирной связи представлена на рис. 4.

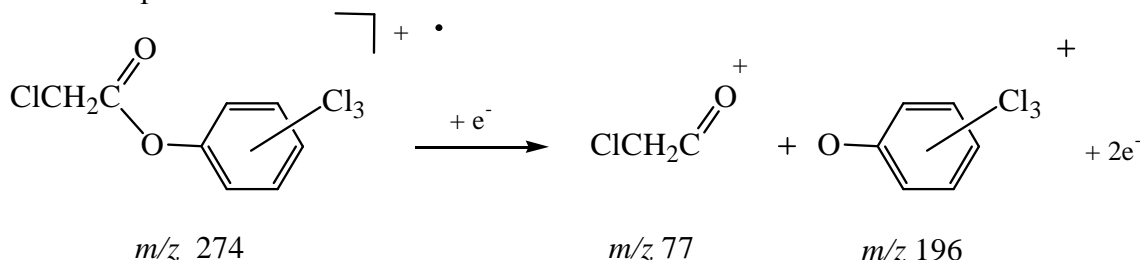


Рис. 4. Схема распада эфира при ионизации электронным ударом

Полученные нами масс-спектры позволяют проводить однозначную идентификацию полихлорфенолов в пробах сложного состава (загрязнённых водах, экстрактах из донных отложений).

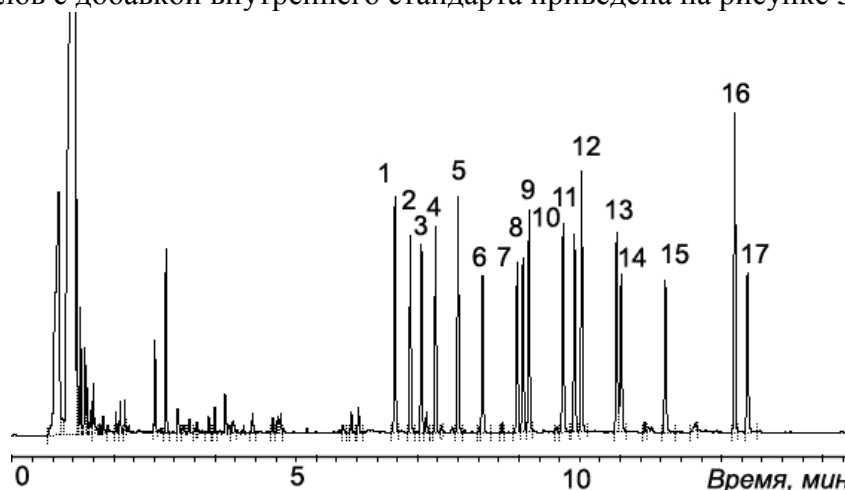
Внутренний стандарт

В качестве внутреннего стандарта в газовой хроматографии использовали вещества, инертные по отношению к пробе, а также имеющие времена удерживания, близкие к определяемым веществам, но хорошо разделяемые с ними. Количество (концентрацию) подбирали таким образом, чтобы площадь пика (или высота) внутреннего стандарта была соизмерима с пиками аналитов [13, 14].

Были апробированы 3,4-дифторфенол, *n*-дибромбензол, тетрахлорбензол, пентахлорнитробензол, гексахлор-*n*-ксилон и *n*-йодбифенил. 3,4-Дифторфенол имел

время выхода (10,828 мин), схожее с 2,3,4,6-тетрахлорфенолом; пик гексахлор-*n*-ксилола (8,460 мин) совпадал с пиком постороннего вещества, не мешающего определению полихлорфенолов; тетрахлорбензол (3,740 мин) выходил очень рано по сравнению с определяемыми веществами; *n*-дибромбензол имел пик несимметричной формы; пентахлорнитробензол (8,315 мин) выходил в то же время, что и 2,4,6-трихлорфенол; *n*-йодбифенил имел время выхода 8,686 мин, а после изменения температурной программы хроматографирования 10,080 мин.

Наиболее подходящим для нашего исследования оказался раствор *n*-йодбифенила с содержанием 0,2 мкг. Типичная хроматограмма смеси полихлорфенолов с добавкой внутреннего стандарта приведена на рисунке 5.



- 1 – 2,6-дихлорфенол; 2 – 2,5-дихлорфенол; 3 – 3,5-дихлорфенол; 4 – 2,3-дихлорфенол;
 5 – 3,4-дихлорфенол; 6 – 2,4,6-трихлорфенол; 7 – 2,3,6-трихлорфенол; 8 – 2,3,5-трихлорфенол;
 9 – 2,4,5-трихлорфенол; 10 – 2,3,4-трихлорфенол; 11 – 3,4,5-трихлорфенол;
 12 – *n*-йодбифенил (внутренний стандарт); 13 – 2,3,5,6-тетрахлорфенол; 14 – 2,3,4,6-тетрахлорфенол;
 15 – 2,3,4,5-тетрахлорфенол; 16 – дибутилфталат; 17 – пентахлорфенол

Рис. 5. Хроматограмма градуировочного образца смеси полихлорфенолов с внутренним стандартом на капиллярной колонке НР-5

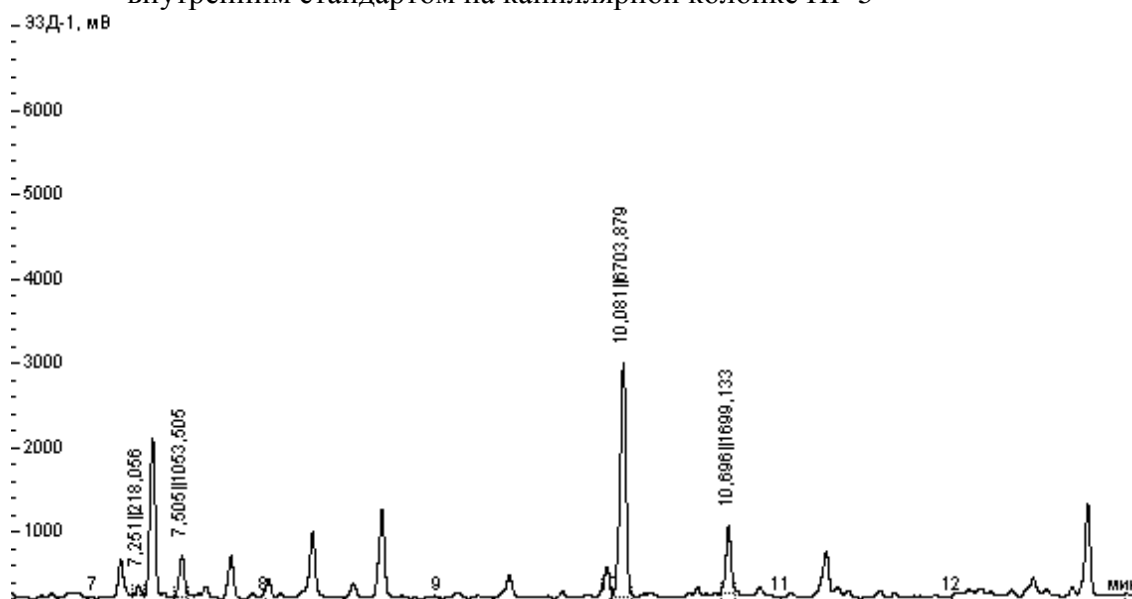


Рис. 6. Хроматограмма пробы придонной воды р. Северная Двина (обозначены пики только идентифицированных полихлорфенолов и внутреннего стандарта)

Разработана и аттестована методика определения полихлорфенолов после дериватизации ангидридом монохлоруксусной кислоты [15], которая апробирована на реальных объектах.

Методика многократно апробирована на реальных пробах природных вод (рек Дон, Темерник, Сочи, Туапсе, Мзымта и др.). На рисунке 6 приведена хроматограмма пробы придонной воды р. Северная Двина с обнаруженными 3,5-, 2,3-дихлор- и 2,3,5,6-тетрахлорфенолами в концентрациях ниже предела определения.

Заключение

Результаты работы свидетельствуют, что надёжность идентификации и определения полихлорфенолов в воде при концентрациях ниже установленных ПДК газохроматографическим методом может быть повышена применением обоснованных условий экстракционного концентрирования, дериватизацией и использованием для расчёта метода внутреннего стандарта.

Список литературы

1. Андреев Ю.А., Черновьянц М.С. Газохроматографическое определение полихлорфенолов с дериватизацией ангидридом монохлоруксусной кислоты // Журнал аналитической химии. 2010. Т. 65. № 10. С. 1046-1052.
2. Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. М.: Химия, 1977. 200 с.
3. Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В. Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986. 176 с.
4. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. 493 с.
5. Вульфсон Н.С., Заикин В.Г., Микая А.И. Масс-спектрометрия органических соединений. М.: Химия, 1986. 312 с.
6. Кельнер Р., Мерме Ж.-М., Отто М., Видмер Г.М. Аналитическая химия. Проблемы и подходы. Том 2. М.: Мир, 2004. 728 с.
7. Отто М. Современные методы аналитической химии. 2-е изд. испр. М.: Техносфера, 2006. 416 с.
8. Isotopic compositions of the elements 1997 (Technical report) // Pure Appl. Chem. 1998. Vol. 70. № 1. P. 217-235.
9. Atomic weights of the elements: review 2000 (IUPAC Technical report) // Pure Appl. Chem. 2003. Vol. 75. № 6. P. 683-800.
10. Isotope-abundance variations of selected elements (IUPAC Technical report) // Pure Appl. Chem. 2002. Vol. 74. № 10. P. 1987-2017.
11. Basic atomic spectroscopic data [Электронный ресурс] // National institute of standards and technology (NIST) [Официальный сайт] URL: <http://physics.nist.gov/PhysRefData/Handbook/Tables/chlorinetable1.htm> (дата обращения: 25.04.2014).
12. Кристиан Г. Аналитическая химия: в 2 томах; пер. с англ. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. 623 с.
13. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. – Воронеж : Водолей, 2004.— 526 с.

14. Рудаков О.Б., Селеменев В.Ф.. Физико-химические системы сорбат-сорбент-элюент в жидкостной хроматографии : К 100-летию хроматографии. — Воронеж, 2003.— 300 с.

15. Андреев Ю.А., Морозова В.Е. Методика определения полихлорфенолов в воде газохроматографическим методом с дериватизацией // Вода: химия и экология. № 6. 2013. С. 94-99.

Андреев Юрий Александрович – старший научный сотрудник, федеральное государственное бюджетное учреждение «Гидрохимический институт»; ассистент, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, тел.: (863) 222-66-68

Черновьянц Маргарита Сергеевна – профессор, заведующая кафедрой аналитической химии, д.х.н., Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Морозова Валентина Евгеньевна – магистрант, Южный федеральный университет; лаборант-исследователь, федеральное государственное бюджетное учреждение «Гидрохимический институт», Ростов-на-Дону

Andreev Yury A. – research associate, Federal state budget institution «Hydrochemical institute», Rostov-on-Don; assistant, Southern Federal University, Rostov-on-Don, e-mail: y.a.andreev@gmail.com; andreev@sfnu.ru

Chernov'yants Margarita S. – professor, head of analytical chemistry department, doctor of chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don

Morozova Valentina E. – master, Southern Federal University, Rostov-on-Don; researcher, Federal state budget institution «Hydrochemical institute», Rostov-on-Don