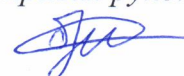


Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Химический факультет
Кафедра аналитической химии

На правах рукописи



Борисова Дина Рашидовна

**ПРОТОЧНОЕ СОРБЦИОННО-ЖИДКОСТНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛОВ И ФТАЛАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
УГЛЕРОДНОГО СОРБЕНТА И СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДЫ**

(02.00.02 – Аналитическая химия)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научные руководители:

д.х.н., проф. Цизин Г.И.

Москва-2017

Оглавление

| | |
|---|----|
| Введение | 5 |
| Глава 1. Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе (обзор литературы) | 11 |
| 1.1. Свойства субкритической воды | 11 |
| 1.2. Извлечение целевых компонентов из твердых объектов | 12 |
| 1.2.1. Температура | 19 |
| 1.2.2. Давление | 19 |
| 1.2.3. Продолжительность экстрагирования в статическом варианте | 19 |
| 1.2.4. Скорость пропускания субкритической воды | 20 |
| 1.2.5. Органические добавки к экстрагенту (модификаторы) | 20 |
| 1.3. Применение в качестве подвижной фазы в хроматографии | 23 |
| 1.3.1. Оборудование | 23 |
| 1.3.2. Новые возможности детектирования | 25 |
| 1.3.3. Возможность использования градиента температур вместо градиента состава подвижной фазы | 27 |
| 1.3.4. Сокращение времени анализа и увеличение эффективности хроматографического разделения при повышенных температурах | 28 |
| 1.4. Ограничения и технические проблемы, связанные с использованием субкритической воды в качестве растворителя | 30 |
| 1.4.1. Устойчивость разделяемых веществ при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы | 31 |
| 1.4.2. Устойчивость сорбентов (неподвижных фаз в ВЭЖХ) к действию субкритической воды | 33 |
| 1.5. Комбинированные методы с использованием субкритической воды | 37 |

| | |
|---|----|
| 1.6. Выводы к главе 1 | 40 |
| Глава 2. Экспериментальная часть | 41 |
| 2.1. Реагенты и сорбенты | 41 |
| 2.2.1. Фенолы и фталаты | 41 |
| 2.2.2. Сорбенты | 42 |
| 2.2. Аппаратура | 42 |
| 2.3. Программное обеспечение | 45 |
| 2.4. Методики проведения экспериментов и расчетов | 45 |
| 2.4.1. Построение кривых проскока | 45 |
| 2.4.2. Пределы обнаружения | 49 |
| Глава 3. Выбор условий концентрирования фенолов и фталатов с использованием субкритической воды | 48 |
| 3.1. Выбор сорбентов, устойчивых в среде субкритической воды | 50 |
| 3.2. Выбор условий концентрирования фенолов и фталатов | 54 |
| 3.2.1. Изучение стадии сорбции фенолов на углеродном сорбенте | 54 |
| 3.2.2. Разработка методики прямого ВЭЖХ определения фенолов | 58 |
| 3.2.3. Разработка методики хромато-масс-спектрометрического определения фталатов (без концентрирования) | 62 |
| 3.2.4. Разработка упрощенной ВЭЖХ-СФ методики определения фталатов, включающая разделение в изократическом режиме | 70 |
| 3.2.5. Выбор условий десорбции фенолов с углеродного сорбента с использованием субкритической воды в качестве десорбирующего раствора | 75 |

| | |
|--|-----|
| 3.2.6. Выбор условий десорбции фталатов с углеродного сорбента с использованием субкритической воды в качестве десорбирующего раствора | 82 |
| 3.3. Выводы к главе 3 | 98 |
| Глава 4. Возможность предсказания удерживания веществ в системе субкритическая вода – пористый графитированный углерод (Nupercarb) с использованием модели Абрахама | 99 |
| 4.1. Изучение системы субкритическая вода – пористый графитированный углерод | 100 |
| 4.2. Интерпретация фактора удерживания фенолов и фталатов и прогнозирование удерживания анилинов | 103 |
| 4.3. Выводы к главе 4 | 105 |
| Глава 5. Разработка способов проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов и фталатов с использованием субкритической воды | 109 |
| 5.1. Разработка способа проточного определения фенолов, включающего сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, фокусирование и ВЭЖХ разделение | 109 |
| 5.1.1. Проточное сорбционно-ВЭЖХ определение фенолов с использованием дозирующей петли | 110 |
| 5.1.2. Проточное сорбционно-ВЭЖХ определение фенолов с введением всего концентрата в ВЭЖХ колонку | 123 |
| 5.2. Возможность проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фталатов | 126 |
| 5.3. Выводы к главе 5 | 130 |
| ОБЩИЕ ВЫВОДЫ | 132 |
| Список литературы | 134 |

Введение

Актуальность темы. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – известный и широко применяемый метод анализа сложных смесей. Однако, несмотря на большое число предложенных решений в этой области, актуальна разработка способов анализа с улучшенными метрологическими характеристиками. Для этого варьируют и оптимизируют состав подвижной фазы, ведут поиск новых неподвижных фаз, разрабатывают все более совершенное оборудование и др. Одним из новых и относительно простых путей улучшения метрологических характеристик ВЭЖХ анализа является использование субкритической воды в качестве подвижной фазы. При повышении температуры снижаются вязкость и диэлектрическая проницаемость, улучшаются характеристики воды как элюента для обращено-фазной хроматографии. Возможна реализация температурного градиента, что технически проще проведения градиентного элюирования водно-органическими смесями.

Новые возможности могут быть реализованы и при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы в гибридных сорбционно-хроматографических методах. В таких системах для десорбции органических веществ с обращено-фазных сорбентов традиционно используют органические растворители, такие как метанол, ацетонитрил или водно-органические смеси, что приводит к уширению пиков при последующем хроматографическом разделении веществ, либо требует сложных процедур смены растворителя. Для преодоления данного недостатка перспективной видится замена органических растворителей на субкритическую воду, так как температурный градиент позволяет легко регулировать элюирующую силу подвижной фазы.

Фенол и его хлор- и нитропроизводные являются распространенными загрязнителями окружающей среды, поэтому их содержание строго нормируется. Диэфиры фталевой кислоты широко используют в промышленности в качестве пластификаторов, их влияние на здоровье человека и других живых организмов пока до конца не изучено. Чувствительность прямых методов анализа зачастую

недостаточна для определения содержания токсичных веществ на уровне ПДК, поэтому необходимо предварительное концентрирование.

Цель работы состояла в разработке способов проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов и фталатов, включающих сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой и хроматографическое разделение/определение.

Конкретные задачи исследования были следующими:

- исследование устойчивости различных сорбентов в среде субкритической воды;
- выбор условий сорбционного концентрирования фенолов и фталатов на углеродном сорбенте, включающего десорбцию аналитов субкритической водой;
- изучение сорбционных равновесий в системе Nupercarb-субкритическая вода с использованием модели сольватационных параметров;
- разработка способов проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов и фталатов в водах.

Научная новизна. Получены данные об устойчивости ряда сорбентов в среде субкритической воды, наиболее устойчивым показал себя пористый графитированный углерод (сорбент Nupercarb). Предложен способ определения фенолов и фталатов, включающий десорбцию субкритической водой, охлаждение и хроматографическое разделение с хроматофокусированием. Показано, что десорбцию аналитов с углеродного сорбента необходимо проводить в компромиссных условиях; для фенолов выбрана температура субкритической воды 175°C, а для фталатов 150°C. При более высоких температурах происходит деградация незамещенного фенола и гидролиз диэтилфталата, моноциклогексилфталата и монобутилфталата. Показано, что модель сольватационных параметров Абрахама может быть использована для прогноза факторов удерживания аналитов в системе углеродный сорбент Nupercarb-субкритическая вода.

Практическая значимость. Предложен способ проточного сорбционно-ВЭЖХ определения веществ, обеспечивающий повышение эффективности разделения аналитов, основанный на использовании субкритической воды.

Разработан способ проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов с пределами обнаружения 0,6 – 2 мкг/л при концентрировании аналитов из 10 мл (десорбция субкритической водой при 175°C). Разработан способ проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фталатов с пределами обнаружения 10 до 35 мг/л при концентрировании аналитов из 10 мл (десорбция субкритической водой с добавлением 5% ацетонитрила при 150°C).

На защиту выносятся следующие положения:

- способ проточного определения веществ, включающий концентрирование, десорбцию субкритической водой, хроматофокусирование и ВЭЖХ разделение/определение;

- результаты изучения влияния температуры субкритической воды на степень десорбции органических веществ;

- результаты изучения сорбционных равновесий системы субкритическая вода-углеродный сорбент Supercarb с использованием модели сольватационных параметров;

- способы проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов и фталатов в питьевой и природных водах, основанные на использовании субкритической воды.

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены на XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2012» (Москва, 2012), Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии (Краснодар, 2012), II Всероссийская конференция по аналитической хроматографии и капиллярному электрофорезу (Краснодар, 2013), Euroanalysis 2013 (Польша, 2013), 16th international symposium of advances in extraction technologies (Греция, 2014), IX Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика – 2014» (Калининград, 2014), IV Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2014), Всероссийской конференции по теории и практике хроматографии (Самара, 2015).

Вклад автора. Вклад автора в работы, выполненные в соавторстве и включенные в диссертацию, состоит в постановке задач, проведении

экспериментальных исследований, обсуждении и оформлении полученных результатов исследований.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ (3 статьи в журналах, соответствующих требованиям ВАК, и 9 тезисов докладов).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав экспериментальной части, выводов, списка литературы (124 наименования). Работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 53 рисунка и 38 таблиц.

Основные результаты диссертации изложены в следующих работах:

Статьи:

1. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А. Проточное сорбционно-жидкостно-хроматографическое определение фенолов, включающее концентрирование на углеродном сорбенте и десорбцию субкритической водой. // Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. № 3. С. 224-231.
2. Борисова Д.Р., Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И. Проточное сорбционно-жидкостно-хроматографическое определение моноэфиров фталевой кислоты, включающее десорбцию субкритической водой. // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. 2015. Т. 56. № 5. С. 42 – 47.
3. Borisova D.R., Statkus M.A., Tsysin G.I., Zolotov Yu.A. On-line coupling of solid-phase extraction of phenols on porous graphitic carbon and LC separation on C18 silica gel column via subcritical water desorption. // Sep. Sci. Techn. 2016. V. 51. № 12, P. 1979 – 1985.

Тезисы докладов:

1. Борисова Д.Р. Сорбционно-ВЭЖХ определение фенолов с использованием углеродных сорбентов и десорбции аналитов субкритической водой. Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2012» / Отв. ред.

- А.И. Андреев, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, К.К. Андреев, М.В. Чистякова. [Электронный ресурс] — М.: МАКС Пресс, 2012. Секция Химия. С.13.
2. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И. Проточное спектрофотометрическое детектирование фенолов после их концентрирования и разделения с использованием субкритической воды. / В кн. «Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием. Краснодар, Россия, 23 – 29 сентября 2012 г. Тезисы докладов». Краснодар: Издательство ООО «Альталюкс». С. 218.
 3. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И. Использование субкритической воды при сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов. / В кн. «II Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». Краснодар, Россия, 26 мая – 31 мая 2013 г. Тезисы докладов». Краснодар: Издательство ООО «Альталюкс». С. 18.
 4. Статкус М.А., Борисова Д.Р., Цизин Г.И., Большов М.А. Применение субкритической воды для хроматографического разделения и сорбционного концентрирования веществ. / В кн. «II Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». Краснодар, Россия, 26 мая – 31 мая 2013 г. Тезисы докладов». Краснодар: Издательство ООО «Альталюкс». С. 159.
 5. Statkus M.A., Borisova D.R., Tsysin G.I. On-line coupling of solid-phase extraction and HPLC separation via subcritical water desorption: application to the determination of phenols. / Euroanalysis 2013. Book of abstracts. Warzaw, Poland. P. 520.
 6. Statkus M.A., Borisova D.R., Tsysin G.I. Subcritical water desorption for on-line coupling of solid-phase extraction and HPLC separation: application to the determination of phenols. / 16th international symposium of advances in extraction technologies. Chania, Greece, 25 – 28 May 2014. Book of abstracts. P. 59.

7. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И. Автоматизированный проточный высокочувствительный метод определения фенолов в водах. / В кн. «IX Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014». Калининград, 22 июня – 28 июня 2014 г. Тезисы докладов». Калининград: Издательство БГАРФ. С. 2
8. Борисова Д.Р., Статкус М.А., Цизин Г.И. Сорбционное концентрирование фенолов в проточных системах анализа: моделирование процессов удерживания в среде субкритической воды. / В кн. «Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». Краснодар, Россия, 28 сентября – 04 октября 2014 г. Тезисы докладов». Краснодар: Издательство ООО «Альталюкс». С. 27.
9. Статкус М.А., Борисова Д.Р., Гончарова Е.Н., Васильева И.Д., Цизин Г.И. Применение субкритической воды для хроматографического разделения и сорбционного концентрирования веществ. / В кн. «Всероссийская конференция с международным участием «Теория и практика хроматографии». Самара, Россия, 25 мая – 29 мая 2015 г. Тезисы докладов». Издательство ООО «Порто-принт». С. 93.

Глава 1. Вода в субкритическом состоянии: применение в химическом анализе (обзор литературы)

Общеизвестно, что в химическом анализе существенную роль играют органические растворители; их используют для приготовления растворов реагентов, извлечения аналитов из твердых объектов, экстракции аналитов из жидких сред, они входят в состав подвижных фаз при хроматографическом разделении веществ и т.д. В основе столь широкого применения органических растворителей лежат их свойства, отличающиеся от свойств самого распространенного растворителя – воды, в первую очередь их полярность. Так, подавляющее большинство органических растворителей обладают меньшей полярностью и способностью к образованию водородных связей, чем вода. Именно поэтому они существенно лучше, чем вода, растворяют гидрофобные вещества, в первую очередь органические. К сожалению, большинство органических растворителей токсичны, поэтому целесообразен поиск путей их замены в схемах химического анализа. Один из таких путей – использование перегретой жидкой воды под давлением (так называемой «субкритической воды»). Работы в этом направлении быстро развиваются, опубликован ряд обзорных статей по использованию субкритической воды для экстрагирования ценных компонентов из лекарственных растений [1 – 4], а также в качестве элюента в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [5 – 8]. Как правило, эти обзорные статьи носят узконаправленный характер. В настоящем обзоре мы попытались представить более широкий взгляд на применение субкритической воды в химическом анализе различных объектов, обсудить достоинства и недостатки соответствующих решений.

1.1. Свойства субкритической воды

В ряде работ, опубликованных за последние 15 – 20 лет, предложена и развита идея использовать воду, нагретую до 100 – 300 °С под давлением в 30 – 50 атмосфер, в качестве элюента для разделения веществ в условиях ВЭЖХ, а также растворителя (экстрагента) для извлечения органических веществ из твердых объектов. Температура и давление при этом существенно ниже критических

параметров воды ($T_{\text{крит}} = 374 \text{ }^\circ\text{C}$, $P_{\text{крит}} = 218 \text{ атм.}$ [9], рис. 1), поэтому вода не переходит в состояние сверхкритического флюида, а остается жидкостью. Условия для получения субкритической воды могут быть относительно легко созданы с применением стандартных ВЭЖХ насосов и специальных, но достаточно простых устройств для нагрева подвижной фазы и хроматографической колонки (или экстрактора).

При повышенных температуре и давлении многие физико-химические свойства воды (вязкость, диэлектрическая проницаемость и т.д.) существенно отличаются от таковых при нормальных условиях [9, 10]. Так, например, диэлектрическая проницаемость (ϵ) воды при изменении температуры от $20 \text{ }^\circ\text{C}$ до $200 \text{ }^\circ\text{C}$ уменьшается от 80 до 35 [11]; для сравнения, ϵ ацетонитрила при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ равна 39 (рис. 2). Вязкость также постепенно снижается при повышении температуры (рис. 3). Изменяется также концентрация протонов и гидроксил-ионов, т.е. ионное произведение воды, что представлено на рис. 4.

Помимо существенного изменения физико-химических параметров воды при повышенных температурах, меняются и обобщенные характеристики воды как элюента для обращенно-фазной ВЭЖХ. Отмечено, что «хроматографические» свойства воды при температурах $150 - 250 \text{ }^\circ\text{C}$ сопоставимы со свойствами чистых ацетонитрила или метанола [9].

1.2. Извлечение целевых компонентов из твердых объектов

Важной задачей, определяющей приоритетное развитие многих методов химического анализа, является определение биологически активных веществ, в том числе токсичных, в объектах окружающей среды, пищевых продуктах, растительном сырье. Близкой задачей является извлечение заданных веществ из природных объектов с целью получения лекарственных препаратов. Традиционный подход к извлечению аналитов из твердых образцов как для целей анализа, так и для производства лекарств – это экстрагирование органическими растворителями (метанолом, этанолом, ацетонитрилом и др.). Однако эти растворители не всегда удобны для последующего определения аналитов, а при производстве медикаментов их остатки трудно удалить полностью, что создает опасность для

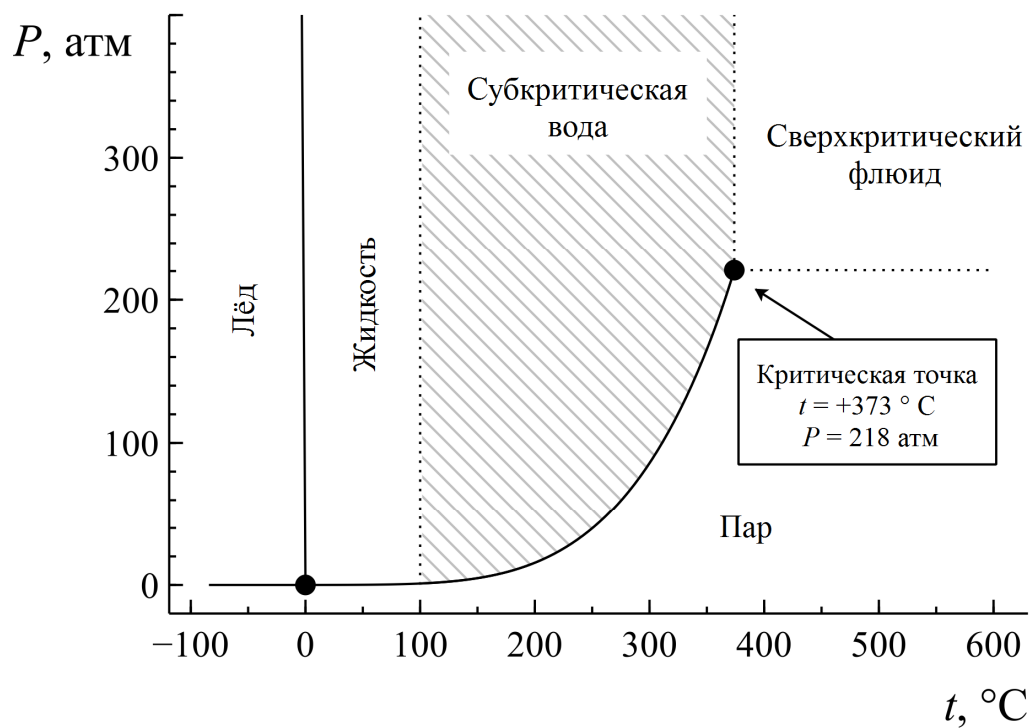


Рис. 1. Фазовая диаграмма воды [12].

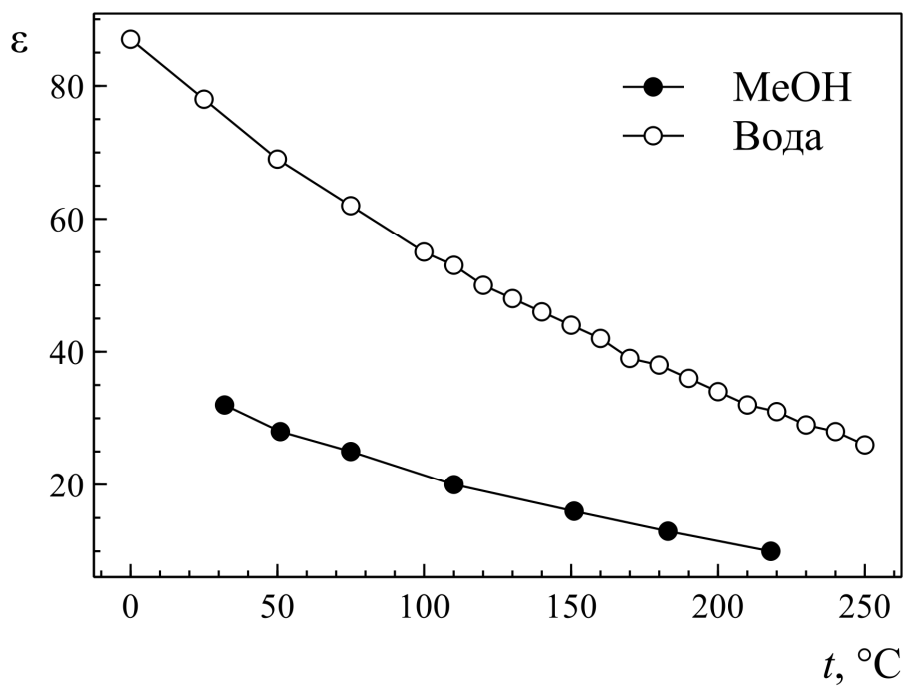


Рис. 2. Зависимость диэлектрической проницаемости воды от ее температуры [13,14].

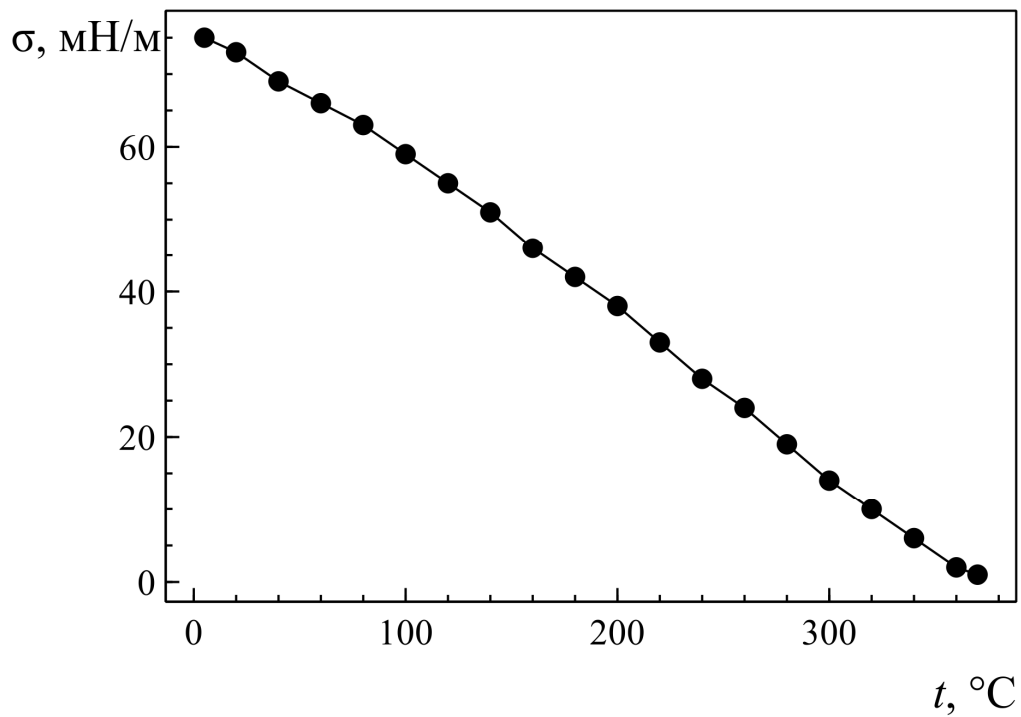


Рис. 3. Зависимость поверхностного натяжения воды от температуры [15].

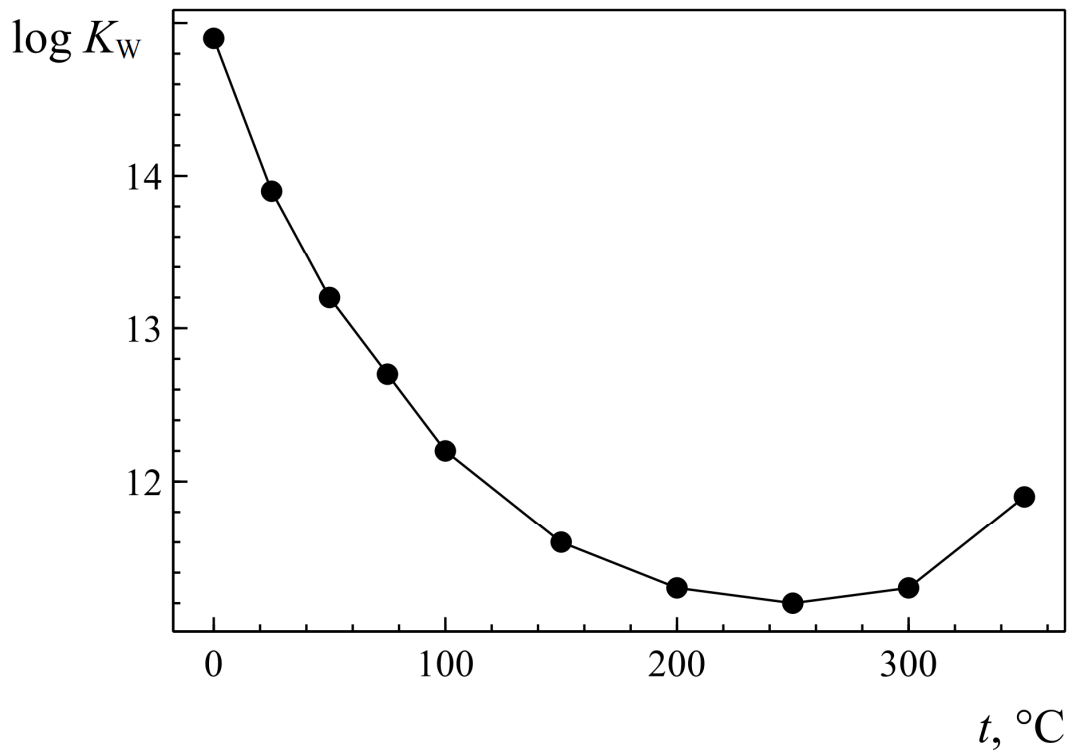


Рис. 4. Ионное произведение воды при различных температурах [15].

здоровья. Хорошими альтернативами является экстрагирование сверхкритическим диоксидом углерода, а также субкритической водой. Так, субкритическую воду применяли для экстрагирования полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), полихлорированных бифенилов (ПХБ), фенолов, пестицидов, и других токсичных веществ из осадочных пород, почв, взвесей [16 – 19], а также для экстрагирования гепатопротекторных биологически активных соединений и эфирных масел из растительного сырья [20 – 22]. С помощью регулировки температуры, изменяющей полярность субкритической воды, возможно извлечение не только неполярных, но и полярных компонентов [1, 23, 24].

Предполагают, что механизм экстрагирования включает несколько последовательных стадий [25]. Сначала микрокомпоненты диффундируют из центра частицы образца на ее поверхность, затем переносятся с поверхности матрицы образца в поток экстрагента [16, 25 – 27]. Скорость извлечения лимитируется самой медленной из этих стадий. Показано, что экстрагирование компонентов из многих природных объектов определяется в первую очередь десорбцией микрокомпонентов с поверхности твердой матрицы [25, 26].

Механизм экстрагирования в динамических условиях успешно описывали в рамках теории фронтальной хроматографии термодинамической моделью, включающей две стадии массопереноса: десорбцию микрокомпонента с поверхности матрицы и элюирование [28, 29]. На примере извлечения эфирного масла из чабера и ПАУ из почв показано, что поведение микрокомпонента определяется, в первую очередь, его коэффициентом распределения между матрицей образца и растворителем [28].

Компоненты экстрагируют в статическом и динамическом режимах: в статическом варианте использовали фиксированный объем растворителя; в динамическом – поток субкритической воды непрерывно пропускали через ячейку-колонку с образцом. Для статического варианта можно использовать серийное оборудование, например установку Dionex ASE 200 (рис. 5) [2, 3, 29, 30]. Эта установка предназначена для извлечения органических соединений из разнообразных твердых и полутвердых образцов. Для поддержания растворителя в

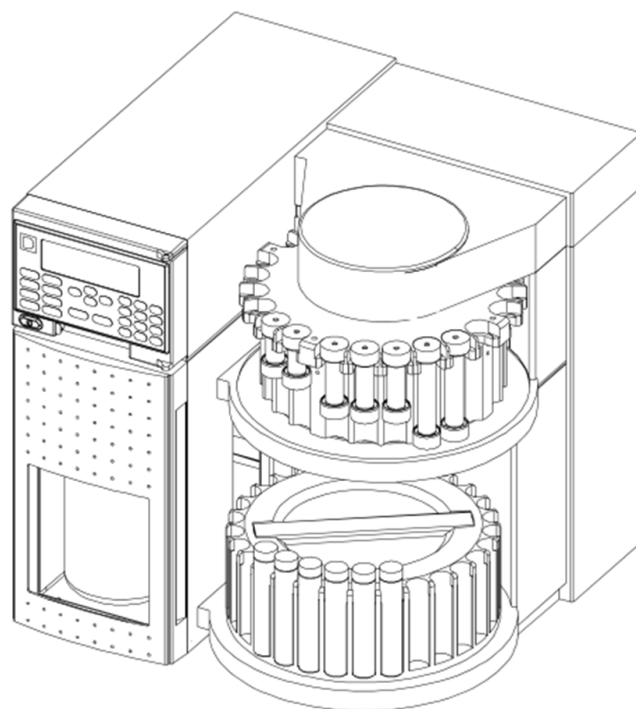


Рис. 5. Внешний вид установки Dionex ASE 200.

жидком состоянии при повышенной температуре в экстракционной ячейке поддерживали необходимое давление. Аналиты также экстрагировали при повышенной температуре с помощью установок серии Soxtherm (рис. 6), предназначенных для определения жира в продуктах питания и кормах, пестицидов и фенолов в почвах, минеральных масел или красителей в тканях.

Установки для динамического варианта обычно собирали самостоятельно из частей серийного хроматографического оборудования [1, 23, 24]. Для предотвращения коррозии использовали капилляры из нержавеющей стали и предварительно дегазировали воду. Нагреваемые элементы – экстракционную ячейку и входной капилляр (для прогрева воды до рабочей температуры его длина обычно составляет 1,5 м и более) – помещали в печь (обычно использовали печи, входящие в состав газового хроматографа). На выходе из ячейки, вне печи, устанавливали ограничитель давления, поддерживающий воду в жидком состоянии при температуре выше 100 °С (рис. 7). Для более эффективного охлаждения экстракта выходной капилляр помещали в емкость с холодной водой [17 – 19] или другое охлаждающее устройство.

При статическом экстрагировании обычно за время проведения эксперимента в системе «образец-растворитель» устанавливается равновесие. Таким образом, степень извлечения прежде всего зависит от коэффициента распределения микрокомпонента. В динамическом режиме постоянное поступление новых порций экстрагента обеспечивает более быстрое и полное извлечение аналитов, чем в статическом, ввиду высокого градиента концентраций. При этом, однако, расходуется и больший объем растворителя.

На степень извлечения влияют температура, давление, время обработки образца, скорость пропускания субкритической воды, концентрация возможных добавок-модификаторов экстрагента. На примере извлечения ПАУ из донных отложений показано, что геометрия экстракционной ячейки и направление потока оказывают незначительное влияние на степень извлечения [31].

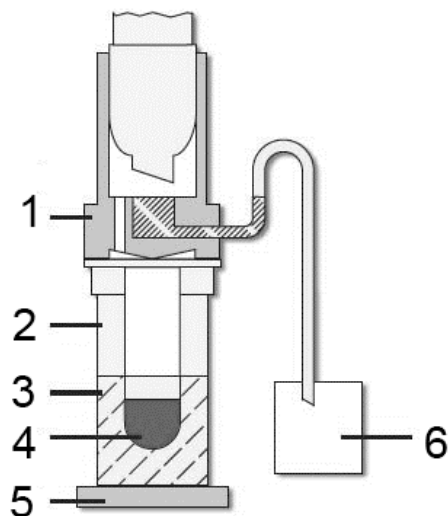


Рис. 6. Установка Soxhlet в разрезе.

1 – обратный холодильник, 2 – стеклянный сосуд для экстракции, 3 – растворитель, 4 – образец в пористой экстракционной ячейке, 5 – нагревательный элемент, 6 – емкость для сбора растворителя.

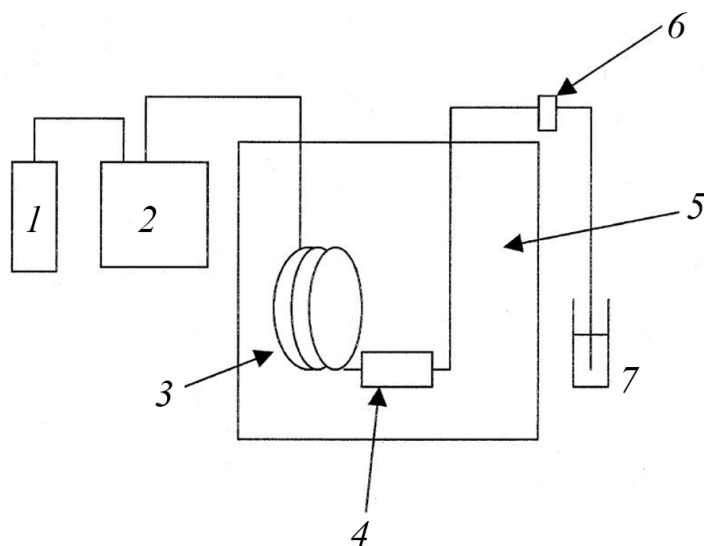


Рис. 7. Установка для проведения экстрагирования субкритической водой в динамическом режиме [1, 23, 24].

1 – проточный дегазатор растворителя, 2 – насос, 3 – капилляр для предварительного нагрева растворителя, 4 – экстракционная ячейка, 5 – печь-термостат, 6 – регулятор противодавления, 7 – емкость для сбора экстракта.

1.2.1. Температура

Температура субкритической воды существенно влияет на степень извлечения микрокомпонентов. Как уже обсуждалось, температура влияет на диэлектрическую проницаемость воды и, таким образом, на растворимость микрокомпонента и его коэффициент распределения. При повышении температуры также увеличивается скорость диффузии микрокомпонентов [32] и, соответственно, скорость массопереноса. Так, показано, что повышение температуры до 300 °С увеличивает растворимость и степень извлечения ПАУ, фенольных соединений и пестицидов [4, 16, 18, 19, 33, 34]. Однако некоторые соединения, например присутствующие в лекарственных растениях биологически активные вещества, могут быть термически неустойчивыми. Они могут окисляться и разлагаться в агрессивной среде субкритической воды, поэтому их извлечение целесообразно проводить при относительно невысоких температурах.

1.2.2. Давление

Для сохранения субкритической воды в жидком состоянии давление в экспериментах поддерживали в интервале 10 – 80 атм [16, 33 – 37]. Если давление достаточно для предотвращения закипания воды, то его дальнейшее повышение влияет на степень извлечения аналитов незначительно. С другой стороны, по сравнению с экстрагированием при атмосферном давлении, субкритическая вода под давлением проникает в более труднодоступные участки матрицы образца [32].

1.2.3. Продолжительность экстрагирования в статическом варианте

Как и температура, время, в течение которого образец подвергается воздействию субкритической воды, значительно влияет на степень извлечения аналитов. Продолжительность эксперимента зависит от температуры экстрагента, природы матрицы образца и извлекаемых микрокомпонентов. Показано, что время, необходимое для количественного извлечения аналитов, таких как эвгенол и его производные, из растительного сырья, можно сократить с 80 до 15 минут повышением температуры от 120 до 300 °С [38]. Установлено, что снижение температуры воды с 300 до 50 °С приводит к резкому уменьшению скорости

извлечения большинства ПАУ из почв, а некоторые из них в этих условиях вообще не извлекаются [16].

1.2.4. Скорость пропускания субкритической воды

При экстрагировании в динамическом режиме повышение скорости пропускания экстрагента часто увеличивает степень извлечения микрокомпонентов из-за поддержания высокого градиента концентраций. Так, скорость пропускания субкритической воды выбирали, исходя из заданной продолжительности обработки образца и желаемой концентрации аналитов в экстракте [39]. Показано, что увеличение скорости целесообразно, когда экстрагирование ограничено растворимостью извлекаемых веществ, диффузией экстрагента в матрицу образца и скоростью переноса аналита на поверхность матрицы.

1.2.5. Органические добавки к экстрагенту (модификаторы)

При неполном экстрагировании аналитов в воду вводят добавки органических растворителей – метанола, этанола и этилацетата [3, 40]. В качестве модификаторов также использовали поверхностно активные вещества (ПАВ) – додецилсульфат натрия и Triton X-100 [23]. Показано, что введение таких модификаторов способствует образованию мицелл, что облегчает экстрагирование ПАУ из растительного сырья [23]. Для эффективного экстрагирования аналитов в этом случае необходимо оптимизировать не только температуру и время контакта образца с субкритической водой, но и концентрацию ПАВ. Показано, что повышение концентрации Triton X-100 выше определенного значения не оказывает значительного влияния на степень извлечения [2, 23]. При введении ПАВ экстрагирование можно проводить при более низкой температуре для снижения вероятности термического разложения аналитов [2, 23]. Устойчивость аналитов в среде субкритической воды будет обсуждена ниже.

В табл. 1 приведены примеры экстрагирования аналитов субкритической водой из различных объектов.

Для количественного извлечения ПАУ из почв достаточно 250° С, дальнейшее повышение температуры не приводит к увеличению степени

извлечения [16, 17]. Разработан способ определения растворимости ПАУ и ПХБ в воде при повышенных температурах [17]. В печь газового хроматографа, нагретую до необходимой температуры, помещали ячейку с навеской песка, к которой добавили 10% по массе ПАУ. Через ячейку пропускали поток воды. В системе поддерживали давление, необходимое для сохранения воды в жидком состоянии. После установления равновесия отбирали несколько фракций, добавляли внутренний стандарт и анализировали посредством газовой хроматографии с ПИД- или МС-детектированием. Отмечали, что при использовании субкритической воды пределы обнаружения снижаются в 10 раз по сравнению с экстрагированием в аппарате Сокслета [33]. В некоторых случаях увеличение температуры не влияет на положения равновесия, а только на скорость его установления, что было выяснено при изучении зависимости степени извлечения эвгенола и его производных от объема экстрагента при различных температурах [38]. Изучали также зависимость эффективности экстрагирования от температуры субкритической воды и длительности процесса; показано, что увеличение температуры, как и продолжительности обработки образца увеличивает эффективность.

Изучали влияние скорости потока субкритической воды на коэффициент извлечения эфирных масел из растительного сырья: оказалось, что в общем случае увеличение скорости способствует росту извлечения [28, 39].

Добавка органических растворителей в субкритическую воду не всегда приводит к увеличению степени извлечения; лишь добавка ПАВ (Triton X-100 или додецилсульфат натрия) увеличила степень извлечения в три-четыре раза, что показано на примере извлечения гинзенозидов из женьшеня [2, 23].

Установлено, что при экстрагировании гербицидов из почвы субкритической водой степень извлечения аналитов сопоставима со степенью их извлечения органическими растворителями и водно-органическими смесями [1, 19]; извлечение таншинона I и II субкритической водой оказалось даже более эффективным [24]. Аналогичные результаты получены и при экстрагировании лактонов из корня кавы [35]. Показано, что экстрагирование эфирных масел из растений субкритической водой эффективнее, чем отгонка с паром [36].

Таблица 1. Примеры использования субкритической воды для извлечения химических соединений из твердых объектов

| Объекты | Извлекаемые вещества | Степень извлечения | Литература |
|--|--------------------------|--------------------|------------|
| Почвы и близкие к ним объектами | | | |
| Почвы | ПАУ | > 90 % | [16] |
| | | 60 – 100 % | [28] |
| | | -* | [31] |
| | | -* | [33] |
| Донные отложения | Гербициды | 81 – 93 % | [19] |
| Морской песок | Фенолы | > 90 % | [34] |
| Объекты растительного происхождения | | | |
| Корень шлемника (<i>Scutellaria radix</i>) | Байкалеин | -* | [1] |
| Корень солодки (<i>Radix glycyrrhizae</i>) | Глициризин | -* | [1] |
| Корневище коптиса (<i>Coptidis rhizoma</i>) | Берберин | -* | [1] |
| Корень кодонопсиса (<i>Radix Codonopsis</i>) | Непредельные спирты | -* | [20] |
| Шалфей многокорневищный (<i>Salvia miltiorrhiza</i>) | Таншинон I и II | -* | [21] |
| Американский женьшень (<i>American ginsene</i>) | Гинзенозиды | -* | [2] |
| Спирулина (<i>Spirulina platensis</i>) | Антиоксиданты | 26 – 51 % | [29] |
| Чайные листья | Катехолы | -* | [3] |
| Виноград | Пестициды | -* | [4] |
| | Фенольные соединения | 26 – 51 % | [40] |
| | Лактоны | -* | [35] |
| Корень кавы Аир Татаринова (<i>Acorus tatarinowii</i>) | Компоненты эфирных масел | -* | [36] |
| Гвоздика (<i>Syzygium aromaticum</i>) | Эвгенол и его аналоги | -* | [38] |

* не определяли

1.3. Применение в качестве подвижной фазы в хроматографии

Субкритическую воду применяли в качестве альтернативы водно-органическим элюентам на основе ацетонитрила и метанола при проведении разделения веществ в условиях ВЭЖХ на обращенно-фазных сорбентах [5 – 7, 10, 41 – 49]; далее этот способ анализа обозначен как **СВ-ВЭЖХ**. Температура субкритической воды влияет на время удерживания аналитов, на эффективность и селективность их разделения и определения. При повышении температуры снижается и вязкость элюента, что позволяет работать при более высоких скоростях потока и сократить время эксперимента. Простая возможность регулировки температуры и связанной с ней элюирующей способности субкритической воды несомненно перспективна для расширения возможностей ВЭЖХ.

Использование субкритической воды в качестве элюента вместо органических растворителей целесообразно и с точки зрения снижения токсичности.

1.3.1. Оборудование

Принципиальная схема оборудования для проведения СВ-ВЭЖХ разделения представлена на рис. 8 [10]. Хроматографическая колонка (5) помещена внутрь термостатируемой печи (6); в той же печи находится капилляр (4), соединяющий колонку и инжектор (3); этот капилляр необходим для предварительного прогрева элюента перед подачей в колонку. Капилляр (7), соединяющий колонку и детектор, служит для охлаждения элюента, что позволяет избежать повреждения детектора из-за перегрева. Для того чтобы вода внутри колонки при температурах 100 – 300 °С не переходила в состояние пара, достаточно поддерживать в системе давление в 30 – 50 бар. Как правило, капилляр (7) также используют в качестве ограничителя давления, либо после него устанавливают дополнительный регулятор давления (9). Отметим, что в большинстве случаев хроматографический детектор не рассчитан на работу при высоком давлении, поэтому ограничитель давления целесообразно устанавливать до детектора. В настоящее время коммерчески доступные системы для проведения ВЭЖХ разделения субкритической водой только начинают появляться на рынке, поэтому авторы большинства работ,

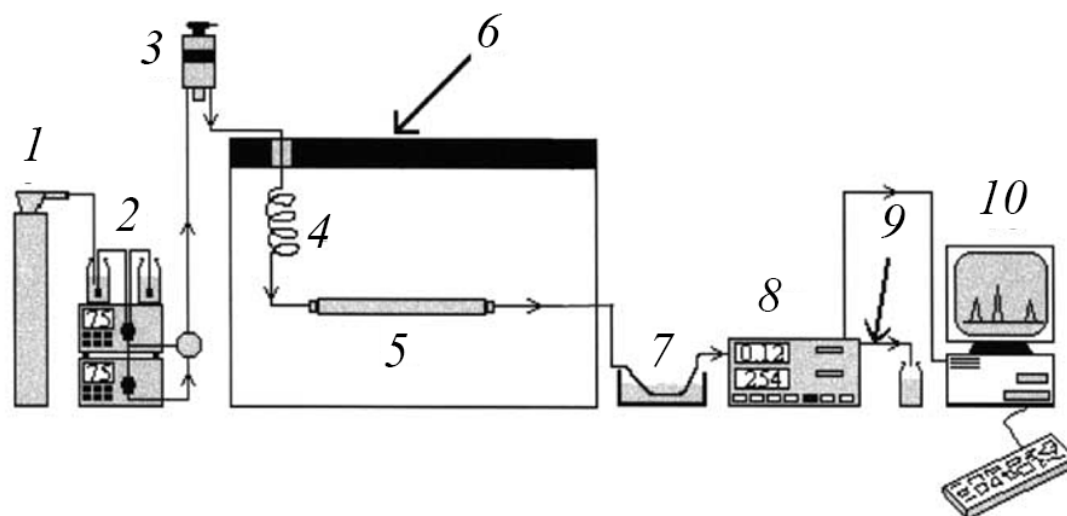


Рис. 8. Схема оборудования для проведения ВЭЖХ разделения с использованием субкритической воды [10].

1 – баллон с азотом, 2 – насос, 3 – инжектор, 4 – капилляр для предварительного нагрева, 5 – хроматографическая колонка, 6 – термостатируемая печь, 7 – капилляр для охлаждения, 8 – детектор, 9 – ограничитель давления, 10 – компьютер.

рассмотренных в настоящем обзоре, собирали подобные системы самостоятельно: из обычного ВЭЖХ хроматографа, печи – как правило, от газового хроматографа, и небольшого набора дополнительных элементов – капилляров и серийно выпускаемых ограничителей давления.

1.3.2. Новые возможности детектирования

Использование субкритической воды вместо водно-органических смесей, традиционно применяемых для разделения в обращенно-фазной ВЭЖХ, позволяет расширить круг детекторов для жидкостной хроматографии.

Например, пламенно-ионизационный детектор (ПИД), широко применяемый в газовой хроматографии, дает сигнал при попадании в пламя практически любых органических веществ, что делает невозможным его использование при разделении аналитов водно-органическими элюентами. В ряде работ (например, в [41, 50, 51]) предложено проводить разделение аналитов (спиртов, углеводов, карбоновых кислот и аминокислот) с использованием субкритической воды и детектированием с помощью ПИД: для этого поток подвижной фазы после выхода из ВЭЖХ колонки подавали в пламя детектора. Отметим, что при использовании ПИД отпадает необходимость охлаждать воду перед подачей в детектор, так как диапазон рабочих температур для ПИД составляет 200 – 400°C. В некоторых случаях ПИД помещали в тот же термостат, что и колонку для ВЭЖХ [50].

Для достижения максимальной чувствительности определения и долговременной стабильности работы ПИД в сочетании с СВ-ВЭЖХ необходима оптимизация параметров работы детектора. Так, при разделении спиртов, углеводов, карбоновых кислот и аминокислот [42, 50 – 52] установлено, что оптимальная температура детектора зависит от скорости потока подаваемой подвижной фазы: при более высокой скорости элюента требуются большая температура испарителя для эффективного испарения. В некоторых случаях такая оптимизация позволила снизить пределы обнаружения более чем в 10 раз [52].

Прямая стыковка высокотемпературной ВЭЖХ и ПИД не всегда возможна из-за несовпадения оптимальных скоростей подачи подвижной фазы на стадиях разделения и детектирования. Например, показано, что при анализе смесей спиртов

при использовании ПИД оптимальна скорость подачи раствора в детектор 20 – 50 мкл/мин, а типичные скорости пропускания ВЭЖХ элюента при использовании колонок внутренним диаметром 2 – 4 мм составляют 200 – 1000 мкл/мин [50]. Необходимо либо использовать капиллярные колонки для разделения при малых скоростях потока подвижной фазы (как поступали, например, авторы работ [50, 51]), либо устанавливать в качестве интерфейса между ВЭЖХ колонкой и ПИД специальный делитель потока (см., например, [42]).

Предложена оригинальная конструкция интерфейса между ВЭЖХ колонкой и ПИД для определения легколетучих аналитов (рис. 9) [53]. Элюент после охлаждения в виде отдельных капель поступал со скоростью 30 – 1000 мкл/мин в камеру интерфейса, куда подавали гелий со скоростью 100 – 120 мл/мин. При этом летучие аналиты частично переходили в газовую фазу и переносились потоком гелия в пламя детектора. При такой конструкции интерфейса аналитический сигнал формировали только летучие аналиты, что повышало селективность детектирования. При определении бутанола, толуола и других легколетучих веществ пределы обнаружения составили 1 – 10 мкг/л, диапазон линейности градуировочной зависимости – 6 порядков величины – от 1 до 10^5 мкг/л.

При использовании градиента температуры подвижной фазы (вместо градиента состава в классическом варианте ВЭЖХ) не наблюдали существенного дрейфа базовой линии ПИД при работе с силикагелем-С18, полимерными и углеродными сорбентами [6, 43]. Однако при разделении спиртов и альдегидов с использованием градиента температуры наблюдали существенное увеличение «шума» базовой линии ПИД по сравнению с изотермическим режимом [6]. Для снижения «шума» предложено поддерживать температуру ограничителя давления («рестриктора») на постоянном уровне, независимо от температуры колонки и подвижной фазы. Для этого использовали дополнительный термостат.

Спектрофотометрическое детектирование аналитов, как правило, требует использования дорогостоящих особо чистых органических растворителей, которые не обладают существенным оптическим поглощением в УФ области. Замена этих растворителей на субкритическую воду позволяет уменьшить затраты на проведение анализа. Так, отмечена возможность спектрофотометрически

детектировать альдегиды при длинах волн менее 200 нм при использовании субкритической воды в качестве элюента [54]. В отличие от органических растворителей, вода не обладает существенным оптическим поглощением при этих длинах волн, что позволяет повысить чувствительность определения. Однако данное преимущество сложно реализовать при анализе реальных объектов, содержащих большое число органических веществ, которые имеют полосы поглощения в этой области.

При разделении экистероидов и барбитуратов [44, 55] предложено использовать ЯМР в качестве детектора в ВЭЖХ при использовании дейтерированной субкритической воды в качестве элюента. Сочетание ВЭЖХ-ЯМР использовали и ранее, однако это предполагало использование больших количеств дорогостоящих дейтерированных органических растворителей (метанола, ацетонитрила и др.), чтобы устранить линии протонов растворителя в спектре ЯМР. Дейтерированная вода существенно дешевле, что позволяет расширить возможности такого способа анализа.

Для определения парацетамола, кофеина, фенаcetина в лекарственных препаратах [45], а также ряда биологически активных веществ в экстракте имбиря [49] использовали ВЭЖХ системы, включающие одновременно ЯМР и МС детекторы, что позволяло существенно увеличить информативность анализа. Возможность использования такого сочетания детекторов обеспечивало применение субкритической воды в качестве элюента.

Отмечено, что замена водно-органических элюентов на субкритическую воду снижает дрейф базовой линии при ВЭЖХ-МС определении алкилбензолов, фенолов, арилалкилкетонов, карбоновых и аминокислот, углеводов [56].

1.3.3. Возможность использования градиента температур вместо градиента состава подвижной фазы

К преимуществам субкритической воды по сравнению с органическими растворителями относится возможность изменения ее свойств непосредственно в процессе элюирования за счет изменения температуры воды и колонки – прием, альтернативный градиентному элюированию в жидкостной хроматографии.

Установлено, что повышение температуры воды на 4 °С эквивалентно увеличению содержания органического компонента на 1% в водно-спиртовой или водно-ацетонитрильной смеси [57, 58]. Такой вариант градиентного элюирования, при котором изменяется только температура системы, технически проще, чем при создании градиента состава подвижной фазы, т.к. для проведения разделения в этом случае требуется только устройство для регулировки температуры [59].

В режиме градиента температур достигнуто разделение веществ, пики которых не разрешены при элюировании при постоянной температуре [43, 45, 49, 50, 60]. СВ-ВЭЖХ в режиме программирования температуры использовали для разделения спиртов [40], биологически активных веществ [45], гербицидов [60]. Например, разделение компонентов экстракта имбиря проводили в режиме градиента температур в диапазоне от 50 до 130 °С [49].

Исследовали разделение карбоновых кислот, спиртов, гетероциклических соединений на хроматографическом сорбенте ВЕН С18 при использовании субкритической воды в качестве элюента в режиме программирования температуры [59]. Температуру элюента изменяли в диапазоне 60 – 180 °С двумя способами: в первом скорость потока элюента оставалась постоянной, во втором – постоянно увеличивали скорость при повышении температуры для поддержания постоянного давления в системе. Установлено, что полное разделение смеси веществ достигается только в изобарных условиях; при этом скорость потока за время анализа можно увеличить почти в 4 раза — от 0,3 мл/мин до 1,1 мл/мин.

1.3.4. Сокращение времени анализа и увеличение эффективности хроматографического разделения при повышенных температурах

Использование субкритической воды вместо водно-органических смесей, традиционно применяемых для разделения в обращенно-фазной ВЭЖХ, в некоторых случаях позволяет улучшить характеристики разделения. Так, при повышенной температуре времена удерживания аналитов обычно уменьшаются, что позволяет уменьшить время разделения. Снижение вязкости и поверхностного натяжения воды при повышенных температурах также увеличивает кинетическую эффективность системы. Далее рассмотрим два этих фактора подробнее.

Влияние температуры на коэффициент удерживания в общем случае описывается функцией изменения свободной энергии при взаимодействии между растворенным веществом и неподвижной фазой (уравнением Вант-Гоффа).

$$\log k = -\frac{\Delta H_0}{2.3RT} + \frac{\Delta S_0}{2.3R} + \log \Phi$$

где ΔH_0 и ΔS_0 – энтальпия и энтропия системы, T – абсолютная температура, R – универсальная газовая постоянная и Φ – фазовый коэффициент системы.

Линейность зависимости $\log k$ от $1/T$ в диапазоне температур от 25 до 180 °С проверяли экспериментально [10, 61, 62] при разделении ряда тестовых веществ, таких как алкилбензолы, на различных неподвижных фазах с использованием водно-органических элюентов. Установлено, что для большинства исследованных систем зависимость Вант-Гоффа сохраняет линейность во всем диапазоне изученных температур, но на диоксиде циркония, покрытом полибутадиеном, наблюдается излом на графике зависимости $\log k$ от $1/T$, что может указывать на частичную смену механизма удерживания. Однако общая тенденция к снижению коэффициентов удерживания сохраняется и в этом случае, следовательно, может быть достигнуто сокращение длительности хроматографического разделения за счет повышения температуры подвижной фазы.

Эффективность хроматографического разделения принято описывать с использованием понятия о теоретических тарелках. Высоту теоретической тарелки можно рассчитать по уравнению Ван-Деемтера:

$$H = A + B/v + Cv$$

где A – коэффициент вихревой диффузии (определяется геометрией частиц неподвижной фазы), B – коэффициент продольной диффузии, C – коэффициент сопротивления массопереносу, v – линейная скорость потока. Коэффициент C связан с затруднением массообмена в колонке и определяет поведение кривой Ван-Деемтера при высоких скоростях потока подвижной фазы. Для снижения коэффициента C и улучшения разделения необходимо снизить вязкость подвижной фазы [10]. В работе [10] приведены сведения о вязкости подвижных фаз, используемых в обращено-фазном варианте ВЭЖХ (табл. 2).

Таблица 2. Вязкость ВЭЖХ элюентов

| Подвижная фаза | Температура, °С | Вязкость, сПз |
|----------------|-----------------|---------------|
| Метанол | 25 | 0.56 |
| Ацетонитрил | 25 | 0.35 |
| Вода | 30 | 1 |
| | 100 | 0.3 |
| | 200 | 0.15 |

Как видно из таблицы, субкритическая вода при увеличении температуры становится менее вязкой по сравнению с органическими растворителями, что приводит к увеличению скорости диффузии в системе «раствор-растворенное вещество». За счет этого улучшается массоперенос и, соответственно, снижается коэффициент S уравнения Ван-Деемтера, минимум кривой смещается в сторону больших линейных скоростей потока. Таким образом, можно увеличить линейную скорость потока элюента без потери эффективности разделения [5, 63]. Например, повышение температуры подвижной фазы до 150° С позволило увеличить скорость потока подвижной фазы до 15 мл/мин и сократить время ВЭЖХ разделения смеси пяти алкилфенолов с 20 мин до 20 с [5].

Показано, что использование градиента температуры при постоянном составе элюента вместо классического градиентного элюирования сокращает время анализа, при этом разделение не ухудшается [59].

1.4. Ограничения и технические проблемы, связанные с использованием субкритической воды в качестве растворителя

При работе с субкритической водой возникает ряд сложностей, связанных с воздействием высоких температур на оборудование, аналиты и сорбент, на котором происходит извлечение или разделение компонентов. Эти сложности ограничивают круг веществ, которые можно извлекать и разделять с использованием субкритической воды, а также круг сорбентов, используемых в СВ-ВЭЖХ.

1.4.1. Устойчивость разделяемых веществ при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы

В связи с тем, что субкритическую воду в химическом анализе используют относительно недавно, сведения об устойчивости различных веществ в этой агрессивной среде относительно немногочисленны и постоянно пополняются.

Так, наблюдали за устойчивостью алкилбензолов, кофеина, анизола, метилбензоата при хроматографическом разделении при использовании субкритической воды [64]. Отмечают, что окисление разделяемых веществ может приводить к формированию расщепленных «двойных» пиков на хроматограмме. Степень искажения пика пропорциональна времени пребывания вещества в колонке (в зоне с повышенной температурой) и скорости протекания реакции. Однако, если скорость реакции достаточно высока и вещество полностью переходит в продукт реакции за короткое (малое по сравнению с общим временем пребывания в хроматографической колонке) время, на хроматограмме ему должен соответствовать один неискаженный пик. Проводили [64] экспериментальное изучение устойчивости ряда веществ (алкилбензолов и замещенных ароматических аминов, являющихся лекарственными препаратами) при повышенных температурах: инжескировали зону, содержащую вещество в колонку, нагретую до 100 – 190 °С. В качестве сорбента использовали диоксид циркония, покрытый полибутадиеном. Установили, что из всего ряда модельных веществ в колонке при повышенных температурах претерпевал химическое превращение только норпсевдоэфедрин. Для этого вещества с увеличением температуры на хроматограмме наблюдали искажение формы пика; однако даже с учетом этого не происходило значимого ухудшения чувствительности и воспроизводимости определения. Уменьшение времени пребывания разделяемых веществ в нагреваемой зоне в 5 раз привело к восстановлению формы пика норпсевдоэфедрина.

Субкритическую воду использовали для извлечения аминов и ПАУ из почв в статических условиях, после чего вещества извлекали из охлажденного водного экстракта с помощью твердофазной микроэкстракции и проводили газохроматографическое определение [65]. Столкнулись с разложением некоторых

извлекаемых веществ в ходе экстрагирования (60 мин, 250 °С), причем разлагались только дейтерированный антрацен (внутренний стандарт) и производное мочевины с образованием метиламина, что приводило к некорректному определению метиламина. Недейтерированные ПАУ показали себя устойчивыми в среде субкритической воды.

Пестициды карбофуран, карбосульфат и имидаклоприд экстрагировали из образцов пыли субкритической водой (30 мин, 250 °С) в динамических условиях [66]. Степень извлечения карбофурана составила 115%, а карбосульфат извлечь не удалось. Высказано предположение о том, что в ходе экстрагирования карбосульфат разлагается до карбофурана и тем самым завышает его степень извлечения. Эфиры экстрагировали из почвы субкритической водой при температуре 100 – 150 °С [67]. Отмечено, что в этих условиях эфиры гидролизуются, после чего их определяли в форме кислот; степень извлечения составила 80%.

Субкритическую воду использовали также для хроматографического разделения стероидов, противоопухолевых лекарств и антибиотиков на колонке ZirChrom-PDB [11]. При разделении смеси стероидов (эстриола, андростендиона, эстрона и дегидроэпиандростерона) температуру субкритической воды варьировали от 120 °С до 185 °С, при этом разложения веществ не наблюдали. Однако при разделении смеси лекарственных препаратов амоксициллина, цитарабина, хлорамфеникола и этопозида разложение амоксициллина наблюдали уже при температуре 40 °С.

На устойчивость веществ влияет не только температура субкритической воды, но и состав неподвижной фазы [68]. Для определения талидомида в одном случае в качестве сорбента использовали сополимер стирола и дивинилбензола, в другом – оксид циркония, покрытый углеродной пленкой, температуру субкритической воды изменяли в диапазоне 60 – 180 °С. При использовании органополимерного сорбента и увеличении температуры вплоть до 180 °С асимметрия пика снижалась при незначительном снижении его площади. Применение сорбента на основе оксида циркония приводило к противоположному эффекту: при повышении

температуры площадь пика снижалась, что говорит о разложении талидомида, при 180 °С разложение было полным.

1.4.2. Устойчивость сорбентов (неподвижных фаз в ВЭЖХ) к действию субкритической воды

В обзоре [69], посвященном устойчивости неподвижных фаз для ВЭЖХ при повышенных температурах, отмечено, что устойчивость сорбентов на основе силикагеля в таких условиях низкая – деградацию свойств сорбентов наблюдали уже при пропускании субкритической воды в количестве 300 – 500 объемов колонки. Максимальная температура элюента при этом не превышала 120 °С. Отмечена повышенная устойчивость силикагелей марки XTerra (Waters) к действию субкритической воды по сравнению с аналогичными силикагелями других марок и производителей, однако максимальная рекомендуемая температура для этих сорбентов также невелика и составляла 130 °С [49].

Исследовали устойчивость двух силикагелей XTerra и XBridge (Waters) с привитыми фенильными группами при повышенных температурах [7]. Эффективность разделения смеси тестовых соединений на колонке XTerra заметно ухудшилась после нескольких дней использования субкритической воды при 200 °С в качестве подвижной фазы; существенной деградации колонки XBridge в этих же условиях не отмечали. Сравнивали устойчивость «гибридных» (с этиленовыми мостиками между атомами кремния) силикагелей Gemini C18 и Gemini NX (Phenomenex) [70]. Деградация свойств Gemini C18 наступила гораздо быстрее, чем Gemini NX.

Колонки с сорбентами на основе диоксида циркония, модифицированного различными органическими соединениями, проявляют лучшую устойчивость при повышенных температурах [69]. Например, ZrO₂ с покрытием из полибутадиена устойчив при 200 °С при пропускании субкритической воды в количестве 1300 объемов колонки. Сорбент на основе диоксида циркония успешно применяли в ряде работ в качестве неподвижной фазы при хроматографическом разделении веществ в среде субкритической воды при температурах до 200 °С [5, 71]. Диоксид циркония с полибутадиеновым покрытием более гидрофобен по сравнению с

аналогами на основе силикагеля. С этой точки зрения сорбенты на основе модифицированного оксида циркония обладают большим преимуществом перед сорбентами на основе диоксида кремния, поскольку позволяют добиться эффективного разделения веществ при более низких температурах и меньшем содержании органического растворителя, что особенно важно при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы [72 – 74]. Известны и более гидрофобные сорбенты на основе оксида циркония, например с углеродным покрытием (ZirChrom-Carb) и с привитыми C₁₈-группами (ZirChrom-Diamond Bond). ZirChrom-Carb показал исключительную устойчивость в работе при температурах до 225 °С и при значительном изменении рН подвижной фазы [75].

Для разделения веществ в условиях высокотемпературной ВЭЖХ применяли и сорбенты на основе диоксида титана, покрытого различными полимерами, например полиэтиленом. Как и диоксид циркония, диоксид титана модифицируют частицами углерода, причем сорбент с углеродным покрытием намного гидрофобнее аналога с полимерным слоем. При использовании в качестве подвижной фазы субкритической воды без добавок органических растворителей колонки на основе диоксида титана, покрытого полиэтиленом, показали высокую устойчивость. Однако применение в качестве элюентов водно-органических смесей при высокой температуре приводит к разрушению полимерного слоя и ухудшению свойств колонки. Так, отмечено значительное снижение величин удерживания *m*-крезола, нитробензола и этилбензола после использования элюента на основе смеси вода-тетрагидрофуран [76].

Сорбенты на основе сополимеров стирола и дивинилбензола и их аналоги обладают достаточно высокой устойчивостью к действию субкритической воды при температуре 100 – 200 °С. В качестве существенного недостатка таких сорбентов отмечена недостаточная механическая устойчивость в таких условиях. При изменении температуры подвижной фазы гранулы этих сорбентов меняют свой объем, что не позволяет их использовать при градиентном элюировании субкритической водой [41, 42, 69, 77]. Изучали долговременную устойчивость сорбента на основе сополимера стирола и дивинилбензола (PRP-1, Hamilton) при

использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы [41]. Через колонку непрерывно пропускали воду со скоростью 0,2 мл/мин при температурах 100 – 150 °С в течение 144 часов (6 суток). Через каждые 24 часа инжескировали раствор фенола и п-крезола и сравнивали параметры удерживания; за время всего эксперимента изменение времен удерживания составило не более 1%. Сравнивали долговременную устойчивость различных сорбентов (силикагелей с привитой алкильной фазой, диоксида циркония, покрытого полистиролом, сополимером стирола и дивинилбензола) при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы для ВЭЖХ разделения модельной смеси веществ [78]. Показано, что наиболее устойчив сорбент на основе стирола и дивинилбензола; деградации сорбента не наблюдали даже после пропускания 3 л подвижной фазы при температуре 150 °С.

Сорбенты на основе сополимеров стирола и винилпирролидона (например, Oasis, Waters) также проявляют высокую устойчивость к действию субкритической воды. Например, сорбент Oasis использовали при температурах 160 – 210 °С [79]. Однако обнаружено, что сорбент Oasis механически разрушается под действием высоких давлений, необходимых для десорбции субкритической водой [80].

Отмечена устойчивость сорбентов на основе пористого графитированного углерода (ПГУ) [62]. Механизм удерживания на этом сорбенте сильно отличается от механизма, известного для сорбентов на основе диоксида кремния [81, 82], потому эффективность и селективность при использовании этих сорбентов так же различны. ПГУ хорошо справляется с задачей разделения структурно схожих соединений, например стереоизомеров [10, 50, 75].

В табл. 3 приведены более подробные сведения о диапазонах температур, в которых устойчивы различные неподвижные фазы для ВЭЖХ.

Так как способ СВ-ВЭЖХ предложен недавно, большинство работ посвящено изучению возможностей и ограничений метода, однако опубликован и ряд статей, направленных на решение практических задач с помощью СВ-ВЭЖХ. Например, с использованием СВ-ВЭЖХ определяли биологически активные вещества в растительных экстрактах [44, 49], фенолы в водах [41], спирты в пищевых продуктах [43].

Таблица 3. Сорбенты и диапазоны температур, применяемые в ВЭЖХ при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы.

| Тип сорбента | Марка, изготовитель | Диапазон температур, °С | Литература |
|--|--------------------------------------|-------------------------------|------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Пористый графитированный углерод | Hypercarb , Thermo Scientific | 180 – 225 | [79] |
| Сополимер стирола и дивинилбензола | PLRP-S, Polymer Laboratories | 140 – 205 | [79] |
| | PRP-1, Hamilton | 100 – 150 | [78] |
| | То же | 100 – 200 | [78] |
| Сополимер стирола и винилпирролидона | Oasis, Waters | 165 – 210 | [79] |
| Поверхностно-модифицированный диоксид циркония | Zir-Chrom PDB, ZirChrom Separations | 100 – 130 | [79] |
| | То же | 50 – 130 | [49] |
| | Zir-Chrom CARB, ZirChrom Separations | 180 – 220 | [79] |
| | ZirChrom-PS, ZirChrom Separation | 100 | [79] |
| | XTerra RP18, Waters | 20 – 160 | [79] |
| | Тот же | C18 BDS, Hypersil | 20 – 160 |
| | Zorbax RX-C8, DuPont | 100 | [78] |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|--|----------|------|
| | Nucleosil C18 AB, Keystone Scientific | 100 | [78] |
| | Hypersil BDS C18, Keystone Scientific | 100 | [78] |
| | Xterra C18, Waters | 50 – 130 | [49] |
| | Chromatorex C-18, Fuji Silysia | 80 – 140 | [83] |
| | Zorbax RX-C-18, MAC-MAD Analytical | 60 – 140 | [83] |
| | XTerra C8 XTerra C18, Waters | 160 | [44] |

Более подробно информация по использованию СВ-ВЭЖХ представлена в табл. 4.

1.5. Комбинированные методы с использованием субкритической воды

Субкритическая вода может быть использована не только для реализации отдельных этапов анализа – экстрагирования или разделения, но и для реализации всего цикла анализа. Так, предложены способы анализа почв, включающие следующие стадии [60, 84 – 86]:

- 1) экстрагирование аналитов субкритической водой;
- 2) извлечение аналитов из экстракта после его охлаждения на колонке с обращенно-фазным сорбентом;
- 3) десорбцию аналитов с сорбента субкритической водой;
- 4) анализ полученного концентрата с помощью СВ-ВЭЖХ.

Весь цикл анализа, включающий экстрагирование, сорбцию, десорбцию и СВ-ВЭЖХ определение, был осуществлен в автоматическом on-line режиме без

Таблица 4. Методики ВЭЖХ разделения веществ, включающие использование субкритической воды в качестве элюента

| Объект анализа | Определяемые соединения | Неподвижная фаза | | Условия разделения | Детектор | Литература |
|------------------------|--|-----------------------------------|----------------------|--|----------------------------|------------|
| | | Тип | Марка | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Речная вода | Фенолы | Сверхсшитый полистирол | PS-DVB | 150 °С | СФ, 220 нм | [41] |
| Растительные экстракты | Стероиды | Силикагель | C18 XTerra | 160 °С | Н ¹ ЯМР, СФ, МС | [44] |
| | Ванилин, дигироферуловая кислота, цингерон | Тот же | XTerra RP C18 | 50 – 130 °С, программирование температуры | ЯМР | [49] |
| Пищевые продукты | Спирты | Сверхсшитый полистирол | PRP-1 | 120 – 150 °С, программирование температуры | ПИД | [43] |
| Модельные растворы | Алкилфенолы | Модифицированный диоксид циркония | ZrO ₂ -PS | 150 °С | СФ, 254 нм | [5] |
| | Карбоновые кислоты | Сверхсшитый полистирол | PRP-1 | 160 °С | ПИД | [42] |
| | Спирты | Тот же | PRP-1 | 125 °С | ПИД | [6] |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------------------|-------------------------|------------|------------------------|--|-------------------------------|------|
| Модельные растворы | Лекарственные препараты | >> | PS-DVB | 80 – 150 °С, программирование температуры | H ¹ ЯМР, МС | [45] |
| | Витамины | >> | PLRP-S | 200 °С | H ¹ ЯМР, МС, ФЛ | [47] |
| | Фенолы, ацетофеноны | Силикагель | XTerra MS C18, XBridge | 100 °С; 200 °С | СФ, 230 нм | [7] |
| | Стероиды | Тот же | XTerra MS C18 | 130 °С | СФ, 230 нм | [46] |
| | Антиоксиданты | >> | Kromasil C18 | 30 – 100 °С, программирование температуры | СФ, 280 нм | [48] |

Детекторы: СФ — спектрофотометрический, ПИД — пламенно-ионизационный, МС — масс-спектрометрический, ЯМР — спектрометр ядерного магнитного резонанса, ФЛ — флуориметрический.

использования органических растворителей — вместо них использовали субкритическую воду [60, 84, 86]. Извлекали биологически активные вещества [84, 87], гербициды [60] и ПХБ [86], температура при проведении экстрагирования составила 120 – 170°C, при десорбции 165 – 200°C, при СВ-ВЭЖХ разделении 75 – 250°C. Для определения анилинов и фенолов в песках, а также флавоноидов в апельсиновой кожуре предложена аналогичная схема, однако после проведения сорбции колонку с сорбентом вручную отсоединяли от системы и подключали к СВ-ВЭЖХ хроматографу для проведения десорбции (при 130°C) и разделения (при 80°C) [85]. Предложены способы сорбционно-СВ-ВЭЖХ определения некоторых фенолов, моно- и ди-замещенных фталатов [88, 89]. Аналиты извлекали на углеродном сорбенте Hupercarb, десорбировали субкритической водой, вырезали зону концентрата с помощью петли-дозатора, фокусировали аналиты на начальном участке ВЭЖХ колонки с октадецилсиликагелем, разделяли и определяли в изократическом режиме со спектрофотометрическим детектированием. Показано, что эффективность десорбции аналитов субкритической водой при температуре 175 – 200 °C при использовании сорбента Hupercarb сопоставима с эффективностью десорбции ацетонитрилом при комнатной температуре, а ширины пиков на хроматограмме, полученной при проведении концентрирования из 10 мл раствора в 1,5 – 2 раза ниже, чем при прямом ВЭЖХ анализе 20 мкл раствора.

1.6. Выводы к главе 1

Показана перспективность использования субкритической воды вместо органических растворителей и водно-органических смесей на различных стадиях анализа. Субкритическую воду применяли для извлечения целевых соединений из таких природных объектов, как почвы, пески, растительное сырье. Использование субкритической воды также дает новые возможности методу ВЭЖХ. Однако применение субкритической воды в качестве элюента в ВЭЖХ осложнено тем, что при повышенных температурах возможно разрушение сорбента и разложение определяемых веществ. В среде субкритической воды устойчивы сорбенты на основе оксидов циркония и титана, некоторые полимерные сорбенты и пористый графитированный углерод. Показано, что субкритическая вода может быть использована на нескольких стадиях анализа, например для экстрагирования и последующего хроматографического разделения аналитов.

Глава 2. Экспериментальная часть

2.1. Реагенты и сорбенты

Для приготовления растворов и элюентов использовали деионизованную воду, которую получали на установке Millipore Simplicity (Millipore, США), удельное сопротивление воды составляло 18,2 МОм·см. Использовали также ацетонитрил степени чистоты Super Gradient (Lab-Scan, Ирландия).

2.1.1. Фенолы и фталаты

Исходные растворы фенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2-нитрофенола; 2,4-диметилфенола; 4-хлор-3-метилфенола; 2,4-дихлорфенола, фталевой кислоты, моноэтилфталата, монометилфталата, монобутилфталата, монобензилфталата, моно-циклогексилфталата, дигептилфталата, диметилфталата, диэтилфталата, дифенилфталата, дибутилфталата, бис(2-этилгексил)фталата, ди-*n*-октилфталата, моно-*s*-октилфталата концентрацией 2,00 – 2,20 мг/л, а также 2-хлорфенола, 2-нитроанилина, 2-нитрофенола, 3-бромфенола, 4-хлоранилина, 4-хлорфенола, 4-метилфенола, 4-нитроанилина, ацетанилида, ацетофенона, анилина, анизола, бензамида, бензимидазола, бензотиазола, бромбензола, *o*-толуидина и фенола концентрацией 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 °С. Для предотвращения разложения веществ в среде субкритической воды анализируемые растворы и подвижную фазу продували азотом.

Объекты анализа – образцы водопроводной и минеральной воды фильтровали через мембранный фильтр (капрон 0,45 мкм, диаметр 50 мм) для удаления взвешенных частиц. Состав минеральной воды «BonAqua»: гидрокарбонаты (HCO_3^-) – менее 150 мг/л, SO_4^{2-} - менее 80 мг/л, кальций (Ca^{2+}) – менее 80 мг/л, магний (Mg^{2+}) – менее 50 мг/л, натрий (Na^+) – менее 20 мг/л, калий (K^+) – менее 10 мг/л.

2.1.2. Сорбенты

Для концентрирования использовали колонки размером 30×2,1 мм со следующими сорбентами. Hupercarb – пористый графитированный углерод, размер частиц 5 мкм, средний диаметр пор 25 нм, удельная поверхность 120 м²/г (Thermo Electron Corp., США). Strata-X – полимерный сорбент, размер частиц 33 мкм, средний диаметр пор 85 нм, удельная поверхность 800 м²/г (Phenomenex, США). MN-200 – сверхсшитый полистирол, размер частиц 300 мкм, средний диаметр пор 2 нм, удельная поверхность 1100 м²/г («БиоХимМак СТ», Россия).

При проточном сорбционно-ВЭЖХ определении аналиты разделяли на колонке (150×4,6 мм) Luna C₁₈ (Phenomenex, США), размер частиц сорбента 5 мкм.

2.2. 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 (UVV 104). Сигнал детектора регистрировали с помощью внешнего аналого-цифрового преобразователя (E-18 AQU ADC). Управление узлами комплекса осуществляли с помощью персонального компьютера (МультиХром для Windows). Для уменьшения сорбции концентрируемых веществ на магистралях те капилляры, через которые прокачивали водные растворы микрокомпонентов, были изготовлены из нержавеющей стали, остальные – из полиэфирэфиркетона (ПЕЕК).

Магистрали, предназначенные для нагрева и охлаждения воды, изготавливали из капилляров из нержавеющей стали длиной 1,5 м и внутренним диаметром 0,25 мм.

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 термостатирование 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 позволял задавать и поддерживать температуру до 300 °С с точностью не хуже 0,5 °С. Время нагрева от 20 °С до 250 °С составляло не более 5 минут.

Использовали ограничитель давления Р-455 (Upchurch Scientific, США), номинальное создаваемое противодавление 70 атм (при пропускании воды со скоростью 1,0 мл/мин при температуре 20 °С).

Для определения аналитов также использовали жидкостной хромато-масс-спектрометр Shimadzu (Япония), состоящий из следующих модулей:

- квадрупольный масс-спектрометр LCMS-2020 с ионизацией аналитов электрораспылением (ESI), химической ионизацией при атмосферном давлении (APCI) и приставкой DUIS для одновременной ионизации в режимах ESI и APCI;
- два ВЭЖХ насоса LC-20;
- спектрофотометрический детектор с диодной матрицей SPD-20;
- автосамплер SIL-20АС.

Качественное определение аналитов проводили с помощью МС-детектора, количественное – с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей. Детекторы были соединены последовательно.

При этом аналиты разделяли на колонке Luna C₁₈ 150×4.6 мм, диаметр частиц 5 мкм (Phenomenex, США). Для приготовления подвижной фазы использовали деионизованную воду, полученную на установке Milli-Q (Millipore, США); ацетонитрил степени чистоты «HPLC Super gradient» (Panreac, Испания), раствор муравьиной кислоты в воде (50% по массе), степень чистоты «for HPLC» (Sigma-Aldrich, США). Аналиты разделяли в градиентном режиме. В качестве компонента А подвижной фазы использовали 0,1%-ный раствор муравьиной кислоты в воде, в качестве компонента В – 0,1%-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока подвижной фазы составляла 0,8 мл/мин.

Для детектирования фталатов использовали следующие параметры МС-детектора и интерфейса:

Таблица 5. Параметры МС-детектора и интерфейса

| Параметр | Значение |
|--|-----------------|
| Время накопления сигнала на выбранной массе (SIM event time) | 0,2 с |
| Напряжение на детекторе (Detector Vtage) | 1,1 кВ |
| Напряжение на интерфейсе (Interface Vtage) | ±4,5 кВ |
| Напряжение на линии десольватации (DL Vtage) | 0 В |
| Температура интерфейса (Interface temperature) | 350 °С |
| Температура линии десольватации (DL temperature) | 250 °С |
| Поток газа-распылителя (Nebulizing gas flow) | 1,5 л/мин |
| Температура блока нагревателя (Heat Block) | 400 °С |
| Поток газа-осушителя (Drying gas flow) | 15 л/мин |
| Режим ионизации (Ionisation mode) | DUIS (ESI+APCI) |

Параметры МС-интерфейса и детектора не оптимизировали, использовали рекомендованные производителем оборудования значения.

Параметры регистрации ионов аналитов представлены в таблице 6. Величины m/z и режим регистрации ионов (положительный или отрицательный) выбирали, исходя из строения определяемых веществ. Для аналитов, содержащих подвижные протоны (фталева кислота и ее моноэфиры) выбирали режим регистрации отрицательных ионов после электрораспыления; для диэфиров – режим регистрации положительных ионов после химической ионизации при атмосферном давлении.

При использовании спектрофотометрического детектора первоначально регистрировали хроматограммы во всем доступном диапазоне длин волн (190 – 850 нм), затем для количественного анализа была выбрана длина волны 275 нм, при которой достигалась наибольшая чувствительность определения большинства фталатов.

Таблица 6. Параметры регистрации ионов

| Аналит | Время удерживания, мин* | m/z | Регистрируемый ион |
|-------------------------|----------------------------|-----|--------------------|
| Фталевая кислота | 2,85 | 165 | [M-H]- |
| Монометилфталат | 3,69 | 179 | [M-H]- |
| Моноэтилфталат | 4,57 | 193 | [M-H]- |
| Диметилфталат | 6,97 | 195 | [M+H]+ |
| Монобутилфталат | 8,33 | 221 | [M-H]- |
| Монобензилфталат | 8,74 | 255 | [M-H]- |
| Моно-циклогексилфталат | 10,28 | 247 | [M-H]- |
| Диэтилфталат | 11,29 | 223 | [M+H]+ |
| Моно-s-октилфталат | 14,09 | 277 | [M-H]- |
| Дифенилфталат | 14,56 | 319 | [M+H]+ |
| Дибутилфталат | 15,55 | 279 | [M+H]+ |
| Дигептилфталат | 18,68 | 363 | [M+H]+ |
| Ди-n-октилфталат | 19,69 | 391 | [M+H]+ |
| Бис(2-этилгексил)фталат | 20,07 | 391 | [M+H]+ |

* – при использовании окончательного варианта профиля градиентного разделения.

2.3. Программное обеспечение

Динамические выходные кривые, кривые дисперсии и десорбции, хроматограммы регистрировали с помощью программного обеспечения Мультихром 2.4 (Ampersand Ltd., Россия).

2.4. Методики проведения экспериментов и расчетов

2.4.1. Построение кривых проскока

На стадии кондиционирования пропускали 5 мл смеси изопропанол:ацетонитрил (75:25) и 5 мл ацетонитрила через колонку для концентрирования.

1. На стадии сорбции пропускали через колонку для концентрирования 10 – 50 мл раствора фенолов (фенол, 4-нитрофенол, 2-хлорфенол, 2,4-динитрофенол, 2-нитрофенол, 2,4-диметилфенол, 4-хлор-3-метилфенол, 2,4-дихлорфенол, 2-метил-4,6-динитрофенол). Содержание каждого фенола в этих растворах составляло 4 мкг. Растворы фенолов готовили в деионизованной воде с добавлением 0,1 об. % H_3PO_4 . Скорость пропускания раствора 1 мл/мин.
2. На стадии десорбции через колонку для концентрирования пропускали 5 мл ацетонитрила (скорость 0,5 мл/мин), раствор после десорбции собирали и анализировали.

2.4.2. Пределы обнаружения

Пределы обнаружения аналитов рассчитывали по дисперсии параметров градуировочной зависимости [88].

Пусть градуировочная зависимость имеет вид:

$$Y = A \cdot x + B ,$$

где Y — рассчитанное значение аналитического сигнала, x — концентрация вещества в градуировочном образце.

При этом дисперсия рассчитываемой по градуировочному уравнению величины Y_k имеет следующий вид:

$$s_{Y^2} = s_0^2 \left[\frac{1}{m} + \frac{(x_k - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \right], \quad (2)$$

где m — число экспериментальных измерений аналитического сигнала в ходе градуировки, а x_k — концентрация, соответствующая Y_k , s_0^2 — дисперсия разности между экспериментальными (y_k) и рассчитанными (Y_k) значениями аналитического сигнала.

Доверительный интервал величины Y_i рассчитывали по формуле:

$$\Delta Y_k = t(P, f) \sqrt{S_Y^2} ,$$

где $t(P, f)$ — коэффициент Стьюдента для вероятности P и числа степеней свободы $f = m - 2$. Вероятность принимали равной 0,95.

Для каждого Y_k обозначили верхнюю и нижнюю границы доверительного интервала как $Y_k + \Delta Y_k = Y_k^{\text{верхн}}$, $Y_k - \Delta Y_k = Y_k^{\text{нижн}}$. Нашли $Y_k^{\text{верхн}}$ для $x_k = 0$ (то есть рассчитали максимальный аналитический сигнал, который возможно с заданной вероятностью P получить при отсутствии определяемого компонента в пробе):

$$Y_{\min} = B + t(P, f) \times \sqrt{s_Y^2} = B + t(P, f) \times s_0 \times \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{\bar{x}^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}. \quad (3)$$

Величина Y_{\min} является пороговым значением аналитического сигнала: если в результате анализа получен сигнал $Y_k < Y_{\min}$, то нельзя сделать вывод о наличии определяемого компонента в пробе, так как такой сигнал можно получить от пробы, не содержащей определяемого компонента. Пороговая величина концентрации, связанная с Y_{\min} градуировочным уравнением:

$$x_{\min} = \frac{1}{A} \times t(P, f) \times S_0 \times \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{\bar{x}^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}. \quad (4)$$

Если в результате анализа получен аналитический сигнал, меньший чем Y_{\min} (уравнение 3), то концентрация определяемого компонента в пробе с заданной вероятностью (P) не превышает x_{\min} (уравнение 4). Пределом обнаружения метода является x_{\min} , Y_{\min} – критической минимальной величиной аналитического сигнала, ниже которой количественная интерпретация результатов анализа невозможна.

Остальные методики, использованные в настоящей работе для экспериментального изучения сорбционных систем, предложены или модифицирована автором работы, поэтому описание этих методик будет представлено в гл. 3 и гл. 5 вместе с обсуждением полученных результатов.

Глава 3. Выбор условий концентрирования фенолов и фталатов с использованием субкритической воды

Чувствительности ВЭЖХ зачастую недостаточно для определения содержания веществ на уровне ПДК, поэтому необходимо предварительное концентрирование, чаще всего сорбционное. Комбинированные методы анализа, включающие концентрирование, могут проводиться двумя способами: в off-line или on-line режимах. Сочетание концентрирования в off-line режиме с хроматографическими методами анализа хорошо освещено в ряде обзоров и монографий [89].

Проточные методы анализа, включающие стадию on-line концентрирования, в том числе проточные сорбционно-ВЭЖХ методы, получили активное развитие в течение последних десятилетий. Основным отличием такого варианта комбинированной процедуры является то, что десорбция происходит в неравновесных условиях, а анализируемые вещества доставляются в хроматографическую колонку в потоке растворителя. Это ограничивает круг десорбируемых растворов, потому что макросостав концентрата после десорбции должен соответствовать составу элюента для хроматографического разделения веществ.

Отмечено [90, 91], что ширины пиков на хроматограммах при проведении on-line сочетания сорбционного концентрирования и последующего ВЭЖХ-определения выше, чем при прямом определении, где в хроматографическую колонку вводится 10 – 20 мкл образца. Это объясняется тем, что в первом случае в колонку поступает значительно больший объем концентрата, чем при прямом вводе. Авторы работы [92] продемонстрировали, что ширины пиков при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов в 10 раз больше, чем при прямом вводе 10 мкл образца. Для снижения этого негативного эффекта предложен ряд приемов: десорбция аналитов с обращением потока [93 – 98], вычленение зоны концентрата после десорбции с помощью петли-дозатора [98, 99], десорбция аналитов только органическим компонентом бинарного водно-органического элюента с последующим разбавлением до состава, необходимого для хроматографического

разделения [98, 100, 101]. Однако все эти приемы приводят лишь к небольшому снижению указанного негативного эффекта, свойственного проточным сорбционно-ВЭЖХ системам.

Кардинально ситуацию может изменить использование субкритической воды в гибридных системах анализа, так как ее свойства в качестве элюента в ОФ-ВЭЖХ легко варьируются в широких пределах при изменении температуры. На наш взгляд, такое изменение свойств воды позволяет использовать ее как десорбирующий раствор при повышенных температурах, а после охлаждения и как компонент бинарного водно-органического элюента в ОФ-ВЭЖХ, что должно приводить к снижению ширины пиков на хроматограмме без потери эффективности извлечения.

Общеизвестно, что токсичные вещества, такие как фенол и его производные, необходимо определять в водах, более того, они внесены в список приоритетных загрязнителей (согласно данным Агентства по охране окружающей среды США). Ввиду повсеместного использования пластиковых изделий моно- и диалкилфталаты (далее для краткости «фталаты»), как пластификаторы, попадают в пищевые продукты и питьевую воду и, следовательно, в организм человека. По недавно полученным данным [102 – 104] фталаты могут обладать канцерогенными свойствами и влиять на репродуктивную функцию у животных. Моноэфиры фталевой кислоты являются продуктами метаболизма диэфиров фталевой кислоты в организме, поэтому они могут выступать в качестве маркеров контакта человека с последними. Таким образом, разработка способов высокочувствительного определения фенолов, моно- и дифталатов в объектах окружающей среды также актуальна.

В ряде работ проводили хроматографическое разделение фенолов с использованием субкритической воды в качестве подвижной фазы, что свидетельствует об устойчивости этих веществ в такой агрессивной среде [43, 86, 105]. Эфиры фталевой кислоты (фталаты) могут гидролизироваться при повышенной температуре [106], поэтому важно внимательно наблюдать за их поведением в среде субкритической воды.

3.1. Выбор сорбентов, устойчивых в среде субкритической воды

Устойчивость различных сорбентов в субкритической воде исследовали в нескольких работах [7, 41, 42, 44, 45, 49, 71, 78, 79, 83], получены сходные выводы: наименее устойчивы сорбенты на основе силикагеля, более устойчивы различные органополимерные сорбенты и сорбенты на основе углерода. Изучали в основном изменение хроматографических параметров сорбентов, поэтому для решения поставленных в настоящей работе задач эти данные часто не давали исчерпывающей информации. Это связано с тем, что после десорбции аналитов субкритической водой в предлагаемой нами схеме происходит повторное концентрирование (фокусировка) аналитов и продуктов деградации сорбентов в начальной части хроматографической колонки, поэтому для выбранных нами целей нужны существенно более устойчивые сорбенты, чем для хроматографического разделения веществ (в последнем варианте нет концентрирования, поэтому деградация сорбентов часто приводит только к незначительному дрейфу базовой линии на хроматограмме).

Для проведения десорбции органических веществ субкритической водой с обращенно-фазных сорбентов мы собрали установку, представленную на рис. 9. Капилляры для предварительного нагрева и для охлаждения изготовлены из нержавеющей стали. Диаметр капилляров, размеры колонки и данные об ограничителе давления приведены в главе 2. Изучали устойчивость распространенных обращенно-фазных сорбентов к действию субкритической воды при различных температурах. На стадии сорбции аналиты в деионизованную воду не вводили, регистрировали хроматограммы т.н. «контрольного» опыта. На рис. 10 и 11 представлены результаты, полученные при 150 и 200 °С. Длина волны детектирования составила 275 нм, для каждой температуры было получено три хроматограммы. Как видно из представленных рисунков, при одинаковых условиях проведения десорбции наименьшее число пиков на хроматограммах контрольного опыта наблюдается при использовании углеродного сорбента. При температуре 150 °С сорбенты Hupercarb и MN-200 сопоставимы по устойчивости, Strata-X менее устойчив. Однако при 200 °С сорбент MN-200 показал себя менее устойчивым, чем Hupercarb.

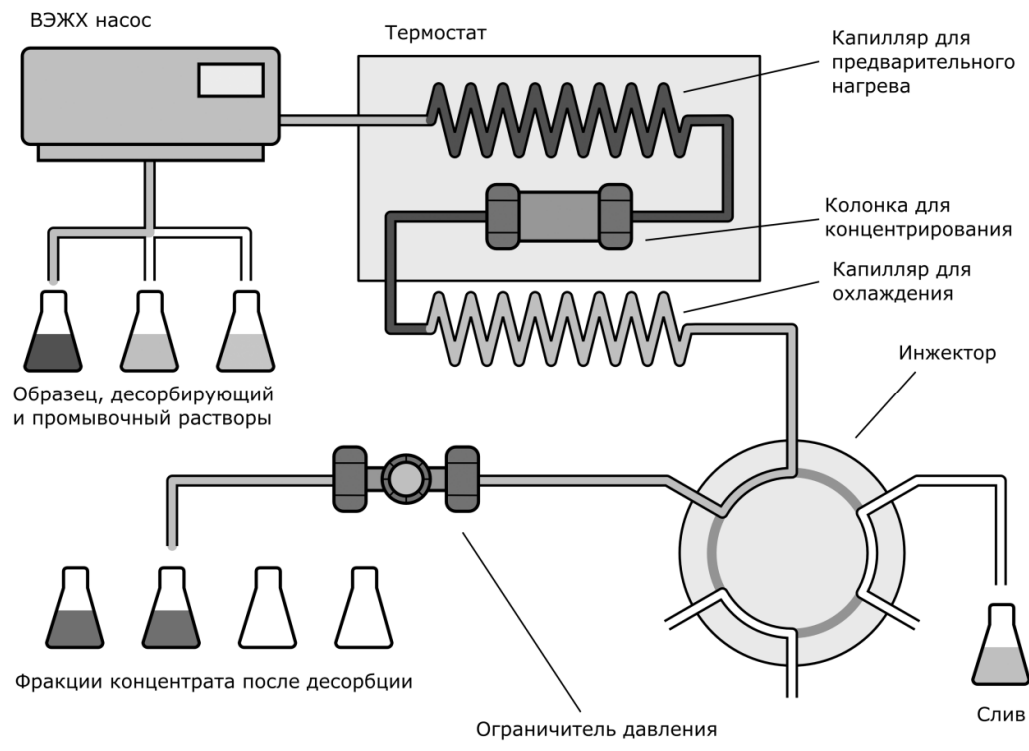


Рис. 9. Установка для проведения десорбции органических веществ субкритической водой с обращенно-фазных сорбентов.

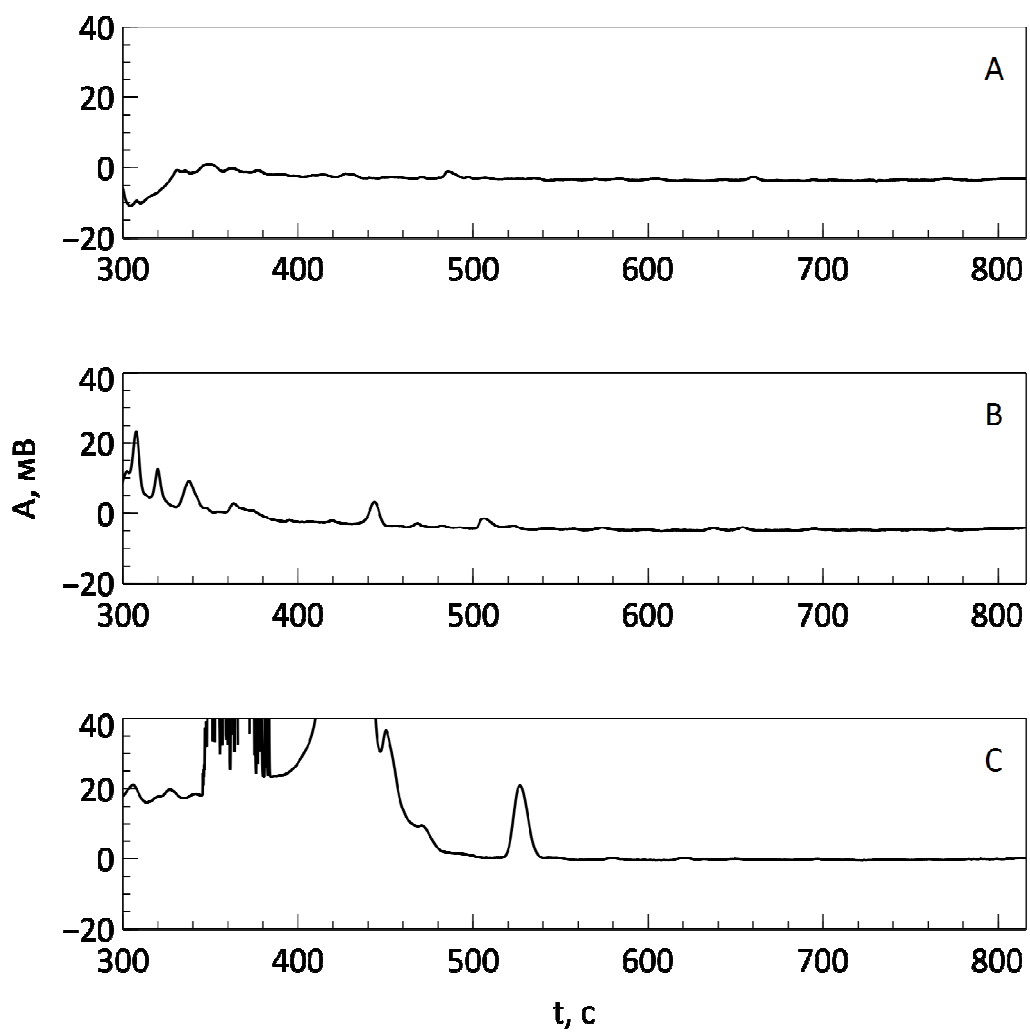


Рис. 10. Хроматограммы, полученные в ходе «контрольного» опыта при 150 °С для разных сорбентов: Нypercarb (А), MN-200 (В), Strata-X (С). УФ-детектирование, длина волны 275 нм.

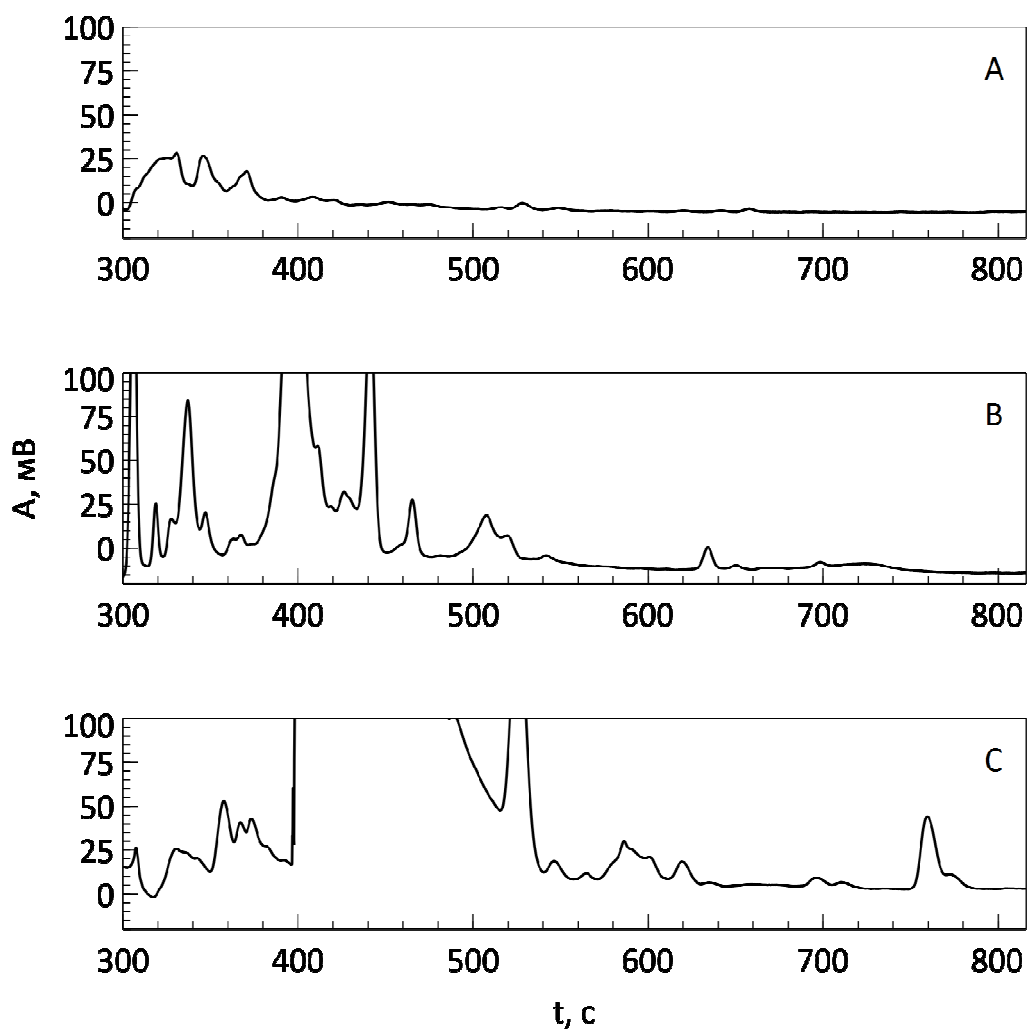


Рис. 11. Хроматограммы, полученные в ходе «контрольного» опыта при 200 °С для разных сорбентов: Нурсcarb (А), MN-200 (В), Strata-X (С). УФ-детектирование, длина волны 275 нм.

Таким образом, показано, что все исследованные сорбенты при температурах 150 – 200 °С частично разрушаются (по крайней мере, из них вымываются некие фрагменты), наиболее устойчив углеродный сорбент Hypercarb.

3.2. Выбор условий концентрирования фенолов и фталатов

3.2.1. Изучение стадии сорбции фенолов на углеродном сорбенте

Известны данные по извлечению и удерживанию фенолов на различных малополярных сорбентах [107, 108]. Обычно эти вещества извлекали в молекулярной форме при pH 1 – 3 [109]. Показано, что наилучшее извлечение достигается на полимерных сорбентах – полистиролах с высокой степенью сшивки. Повышенное сродство к фенолам объясняли наличием в структуре сорбента мелких пор диаметром ~ 1 нм [107]. Однако пористый графитированный углерод тоже может также быть весьма перспективен для извлечения, в первую очередь, наиболее полярных фенолов, так как механизм сорбции сильно отличается от такового на других сорбентах (обращено-фазного силикагеля, сверхсшитого полистирола). Так, считают, что полярные молекулы, находясь вблизи углеродной поверхности, поляризуют ее, после чего аналиты эффективно сорбируются [110]. Показана возможность извлечения фенолов на графитированном углероде из небольших объемов образца [110]. В связи с тем, что свойства графитированных углеродных сорбентов разных марок могут различаться, мы исследовали извлечение некоторых фенолов на обращенно-фазных сорбентах. Строили кривые протекания (методика в гл. 2), Проводили прямой ВЭЖХ анализ прошедшего через колонку раствора. Зависимости степени извлечения фенолов от объема пропускаемого образца представлены на рис. 12 – 14.

Извлекаемые фенолы количественно (R=80 – 100%) сорбируются при объеме пробы до 50 мл, за исключением незамещенного фенола (R=50% при V=15 мл) и динитропроизводных (R=71% при V=30 мл для 2,4-динитрофенола и R=54% при V=30 мл для 2-метил-4,6-динитрофенола). Для дальнейшей работы выбрали объем раствора образца, равный 10 мл. При необходимости дополнительного увеличения чувствительности определения фенолов, этот объем может быть увеличен до 50 мл, с учетом потерь фенола и динитропроизводных на стадии сорбции. Так, в

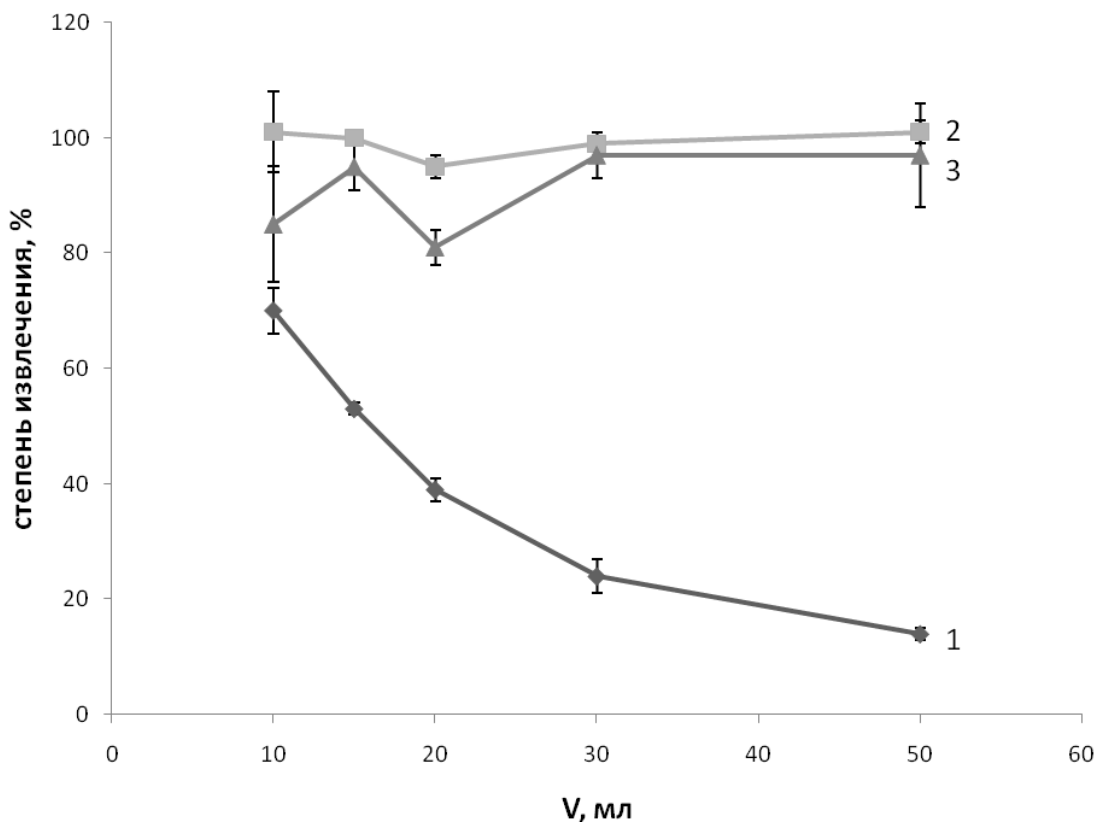


Рис. 12. Зависимость степени извлечения от объема пропускаемого образца. 1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол. Содержание каждого фенола в растворах составляло 4 мкг. Скорость пропускания раствора аналитов 1 мл/мин. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. После сорбции из указанного объема аналиты десорбировали ацетонитрилом при комнатной температуре в off-line режиме.

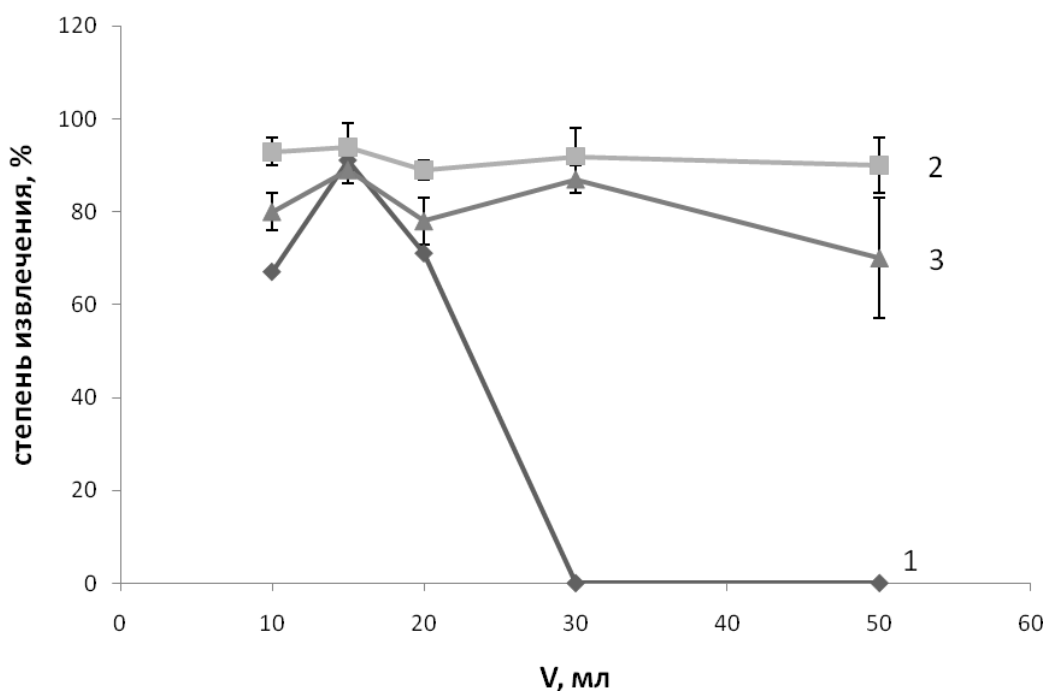


Рис. 13. Зависимость степени извлечения от объема пропускаемого образца. 1 – 2,4-динитрофенол, 2 – 2-нитрофенол, 3 – 2,4-диметилфенол. Содержание каждого фенола в растворах составляет 4 мкг. Скорость пропускания раствора аналитов 1 мл/мин. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресгарб. После сорбции из указанного объема аналиты десорбировали ацетонитрилом при комнатной температуре в off-line режиме.

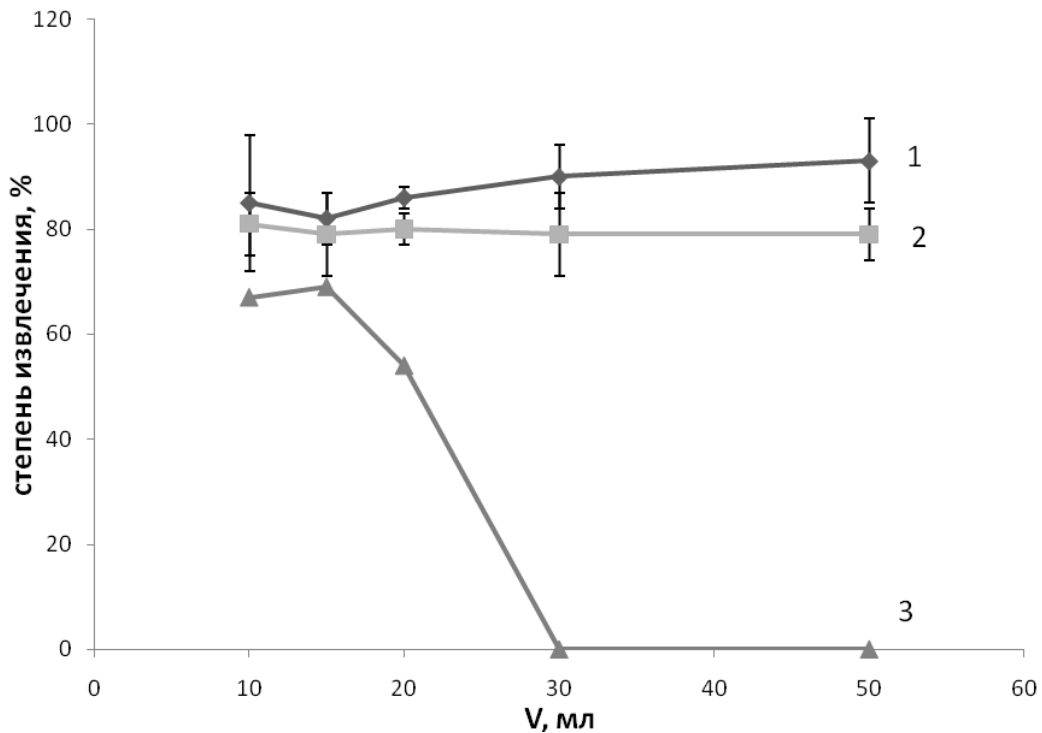


Рис. 14. Зависимость степени извлечения от объема пропускаемого образца. 1 – 4-хлор-3-метилфенол, 2 – 2,4-дихлорфенол, 3 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Содержание каждого фенола в растворах составляет 4 мкг. Скорость пропускания раствора аналитов 1 мл/мин. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. После сорбции из указанного объема аналиты десорбировали ацетонитрилом при комнатной температуре в off-line режиме.

проточных системах анализа часто используют системы концентрирования, не обеспечивающие количественного извлечения аналитов (например, системы диализа). Основным требованием является воспроизводимость степени их извлечения.

Зависимости степени извлечения фталатов от объема пропускаемого образца не изучали. Однако данные, приведенные в разделе 3.2.6. (по десорбции ацетонитрилом), подтверждает количественное извлечение выбранных фталатов на углеродном сорбенте из 10 мл водного образца.

3.2.2. Разработка методики прямого ВЭЖХ определения фенолов

В настоящей работе для проведения экспериментов использовали ВЭЖХ хроматограф с УФ-детектором (при этом была возможность проводить элюирование только в изократическом режиме, но и возможна реализация проточного сочетания концентрирования и хроматографического определения) и ВЭЖХ хроматограф с масс-спектрометрическим детектором (возможно разделение в градиентном режиме, но без возможности реализации комбинированной процедуры в режиме онлайн). После экспериментальной проверки обеих схем фенолы решили определять в онлайн режиме с УФ-детектором, а фталаты – с помощью ВЭЖХ-МС.

Условия ВЭЖХ определения выбирали, руководствуясь литературными данными. Известно [111], что для ВЭЖХ разделения на обращенно-фазных сорбентах одиннадцати производных фенола, внесенных в список ЕРА, как правило, применяют градиентное элюирование, так как среди разделяемых фенолов есть как весьма гидрофильные соединения (фенол, $\lg P = 1,5$), так и сильно гидрофобные (пентахлорфенол, $\lg P = 4,9$). Однако градиентное элюирование требует наличия дополнительного ВЭЖХ насоса и динамического смесителя. Более того, при проведении градиентного элюирования, как правило, усиливается дрейф базовой линии хроматограммы. Поэтому для упрощения схемы анализа нами выбран изократический способ разделения. В связи с этим из первоначального списка одиннадцати фенолов исключили два наиболее гидрофобных, а именно: 2,4,6-трихлорфенол и пентахлорфенол, для элюирования

которых требуется высокая концентрация органического компонента бинарного водно-органического элюента. Выбирали оптимальный состав водно-органической подвижной фазы. Для этого провели серию экспериментов по разделению фенола и восьми его производных (4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2,4-динитрофенола, 2-нитрофенола, 2,4-диметилфенола, 2,4-дихлорфенола, 4-хлор-3-метилфенола, 2-метил-4,6-динитрофенола) подвижными фазами с разным соотношением «ацетонитрил:вода». Для подавления диссоциации фенолов в растворы вводили 0,1 об. % H_3PO_4 . Вводили 20 мкл раствора фенолов в ацетонитриле. Использовали спектрофотометрический детектор (детектирование проводили при длине волны 275 нм [111, 112]). Образцы для анализа готовили разбавлением смеси фенолов. На рис. 15 представлены фрагменты хроматограмм. Установлено, что оптимальное содержание воды в элюенте составляет 60 об. %. При использовании элюента, содержащего 50 об. % воды пики недостаточно разрешены (см. пики 1,2 и 4,5 на рис. 15), а при содержании воды в 70 об. % значительно увеличивается время разделения смеси. Для разделения использовали колонку Luna C_{18} , размер 150×4,6 мм.

Типичная хроматограмма при прямом ВЭЖХ определении представлена на рис. 16. В результате оптимизации получены следующие характеристики хроматографического разделения: разрешение (R_s) составило 1,3 для пиков 4 и 5, для остальных значения выше. Число теоретических тарелок варьируется от 1500 для незамещенного фенола до 3000 для 2-метил-4,6-динитрофенола. Коэффициенты асимметрии составили от 0,76 до 1,21. По полученным хроматограммам рассчитывали параметры градуировочных зависимостей (табл. 7), интервал определяемых концентраций фенолов составил от 0,1 до 10 мг/л. В качестве аналитического сигнала использовали площади пиков. Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ определения фенолов находится в интервале 0,01 – 0,25 (табл. 8). Рассчитанные пределы обнаружения представлены в табл. 9.

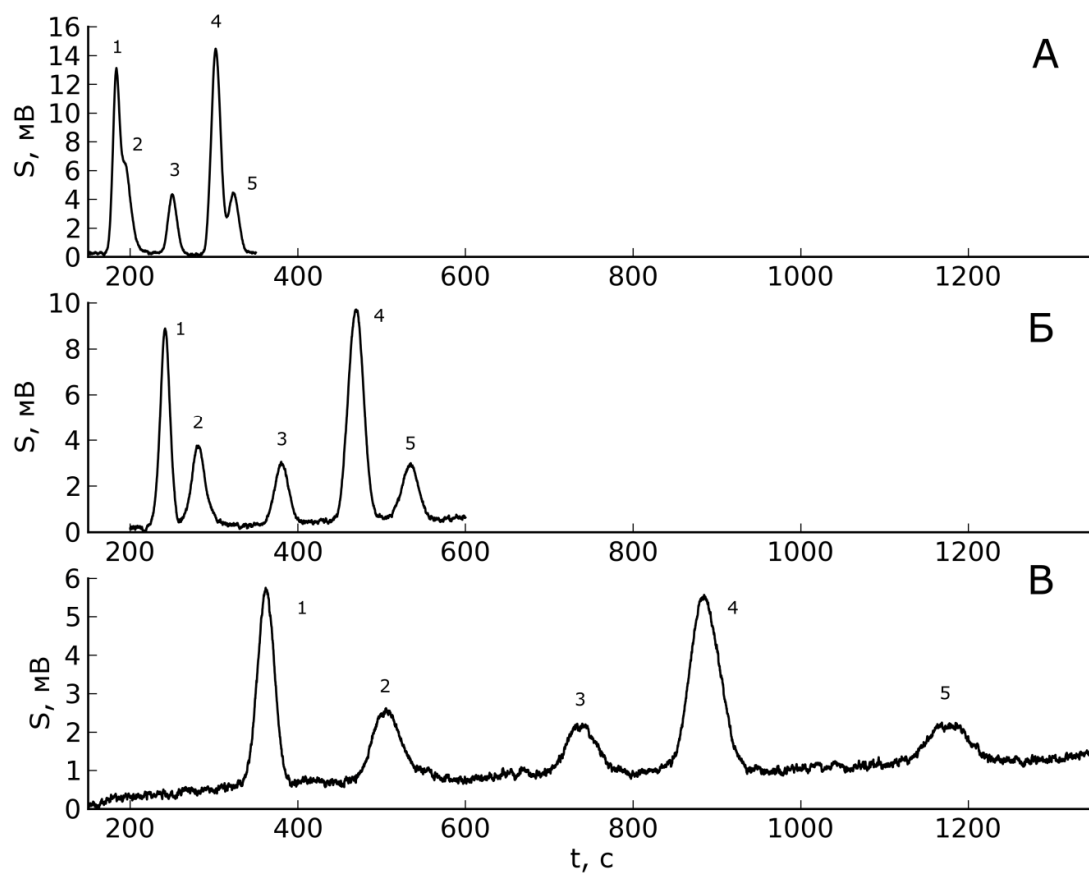


Рис. 15. Хроматограммы, полученные при прямом ВЭЖХ определении фенолов. 1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2-нитрофенол. Разделение проводили смесью «ацетонитрил:вода», содержание воды 50 (А), 60 (Б) и 70 (В) об. %. Вводили 20 мкл раствора, содержащего 0,02 мкг каждого аналита. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 275 нм.

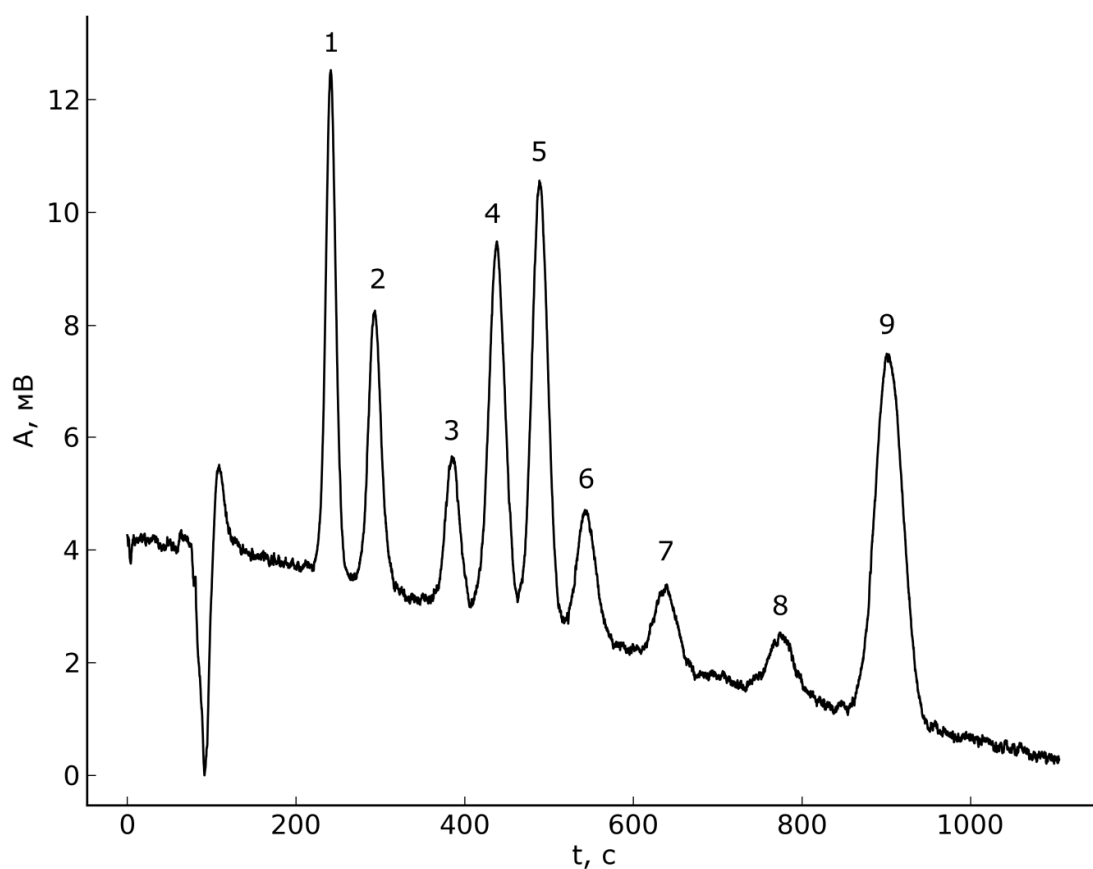


Рис. 16. Хроматограмма, полученная при прямом ВЭЖХ определении фенолов
 1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол,
 5 – 2-нитрофенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 4-хлор-3-метилфенол,
 8 – 2,4-дихлорметилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Концентрация каждого
 анализа 1 мкг/мл, подвижная фаза «ацетонитрил:вода», содержание воды 60 об. %.
 Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине
 волны 275 нм.

Таблица 7. Параметры градуировочных зависимостей при прямом ВЭЖХ определении фенолов (n = 3, P = 0,95)

Использовали уравнение вида: $S = A \times c + B$

| Определяемое вещество | A, мВ×схл/г | B, мВ×с | R ² |
|--------------------------|-------------|---------|----------------|
| Фенол | 53±5 | 5±3 | 0,98 |
| 4-Нитрофенол | 87±5 | 4±3 | 0,99 |
| 2-Хлорфенол | 60±7 | 4±4 | 0,96 |
| 2,4-Динитрофенол | 136±6 | 6±4 | 0,99 |
| 2-Нитрофенол | 172±8 | * | 0,99 |
| 2,4-Диметилфенол | 55±6 | * | 0,96 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | 37±7 | * | 0,92 |
| 2,4-Дихлорфенол | 36±7 | * | 0,91 |
| 2-Метил-4,6-динитрофенол | 230±10 | 15±7 | 0,99 |

* - коэффициент статистически незначим, использовали уравнение вида $S = A \times c$.

Таблица 8. Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ определения фенолов (n = 3, P = 0,95)

| Соединение | с, мг/л | | | | |
|--------------------------|---------|------|------|------|------|
| | 0,1 | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 1 |
| Фенол | 0,61 | 0,06 | 0,04 | 0,06 | 0,02 |
| 4-Нитрофенол | 0,06 | 0,12 | 0,02 | 0,06 | 0,04 |
| 2-Хлорфенол | 0,15 | 0,21 | 0,07 | 0,08 | 0,11 |
| 2,4-Динитрофенол | 0,12 | 0,11 | 0,02 | 0,03 | 0,04 |
| 2-Нитрофенол | 0,21 | 0,01 | 0,04 | 0,02 | 0,03 |
| 2,4-Диметилфенол | 0,26 | 0,09 | 0,05 | 0,1 | 0,05 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | -* | 0,15 | 0,14 | 0,19 | 0,02 |
| 2,4-Дихлорфенол | -* | 0,26 | 0,18 | 0,05 | 0,16 |
| 2-Метил-4,6-динитрофенол | 0,3 | 0,09 | 0,05 | 0,03 | 0,01 |

* - ниже предела обнаружения.

3.2.3. Разработка методики хромато-масс-спектрометрического определения фталатов (без концентрирования)

В работах [113, 114] монофталаты и дифталаты экстрагировали гексаном из косметических средств и разделяли на колонке с силикагелем-С18 с последующим УФ-детектированием. В работе [115] сравнивали результаты определения ряда

Таблица 9. Пределы обнаружения фенолов при прямом ВЭЖХ определении

| Определяемое вещество | c_{\min} , мг/л |
|--------------------------|-------------------|
| Фенол | 0,06 |
| 4-Нитрофенол | 0,04 |
| 2-Хлорфенол | 0,07 |
| 2,4-Динитрофенол | 0,03 |
| 2-Нитрофенол | 0,03 |
| 2,4-Диметилфенол | 0,07 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | 0,1 |
| 2,4-Дихлорфенол | 0,1 |
| 2-Метил-4,6-динитрофенол | 0,03 |

дифталатов методами ВЭЖХ и ультра-ВЭЖХ. ВЭЖХ-разделение проводили на колонке Zorbax SB-phenyl, ультра-ВЭЖХ – на колонке Acquity UPLC BEH phenyl, в обоих случаях использовали водно-метанольные смеси в качестве подвижной фазы. Оказалось, что применение ультра-ВЭЖХ позволяет сократить время анализа и повысить чувствительность за счет снижения ширины пиков по сравнению с ВЭЖХ. С помощью ВЭЖХ определяли содержание дифталатов в бутилированной воде на колонке LaChrom ODS2 C8, используя водно-ацетонитрильную смесь с добавкой метанола в качестве подвижной фазы [116]. В работе [117] исследовали фталаты, содержащиеся в бумажных упаковках. Разделение проводили на колонке Eclipse XDB-C18 водно-ацетонитрильной смесью. Данные по хроматографическому определению фталатов на силикагеле-С18 и последующем МС-определении в литературе не представлены, поэтому требовалась разработка соответствующей методики.

Оптимизировали профиль градиента состава подвижной фазы для ВЭЖХ-МС разделения аналитов. Для разделения слабо- и среднеудерживаемых монофталатов и дифталатов с небольшими заместителями требуется средний по силе элюент (40 – 70% раствор ацетонитрила в воде), для элюирования сильноудерживаемых дифталатов с крупными заместителями (диоктил-, дигептил- и т.п.) необходим сильный элюент (100% ацетонитрил). Первоначально выбрали градиентную программу, в ходе которой доля ацетонитрила увеличивалась линейно с 70% до 100% за 5 мин, затем проводили изократическое элюирование

при 100% концентрации ацетонитрила в течение 5 мин (профиль №1). Профиль градиента и полученная хроматограмма представлены на рис. 17.

В этих условиях не удалось достичь разделения монобензилфталата, монобутилфталата, диметилфталата и фталевой кислоты – время выхода этих веществ около 3 мин. Для улучшения разделения этой группы аналитов уменьшили начальную концентрацию ацетонитрила до 60% (профиль №2). Результаты разделения приведены на рис. 18.

Этот профиль градиента не позволил достичь разделения диметилфталата, монобензилфталата и монобутилфталата, время выхода которых составило 3,45 мин. Следующая модификация профиля градиента включала линейное возрастание концентрации ацетонитрила с 50% до 100% за 10 минут и изократическое элюирование в течение 5 минут, см. рис. 19.

При этом по-прежнему не удалось разделить пару монобутилфталат-монобензилфталат (время выхода 4,46 мин); также возникли проблемы с разделением монометилфталата и фталевой кислоты (время выхода 2,675 мин).

Следующий вариант профиля градиента (№4) включал начальный изократический участок (50% ацетонитрила в течение 5 минут), линейное возрастание концентрации ацетонитрила до 100% в течение следующих 5 минут и еще один изократический участок (100% ACN) в течение 5 минут. Результаты разделения представлены на рис. 20.

Принципиальных улучшений по сравнению с профилем №3 достичь не удалось. Было принято решение уменьшить концентрацию ACN на начальном изократическом участке с 50% до 20% (профиль №5), см. рис. 21. Продолжительность этого изократического участка уменьшили с 5 мин до 3 мин.

Удалось разделить пару фталевая кислота - монометилфталат, однако монобутилфталат и монобензилфталат по-прежнему не разделились. При этом вид хроматограммы указывает на то, что начальная концентрация ACN в 20% слишком мала для элюирования среднеудерживаемых аналитов. Поэтому, начальную концентрацию ACN увеличили с 20% до 40%. Следующий вариант (№6) профиля градиента включал два линейных участка: с нулевой по 7-ю минуту возрастание концентрации ACN с 40% до 50%, затем с 7-ой по 14 минуту – возрастание

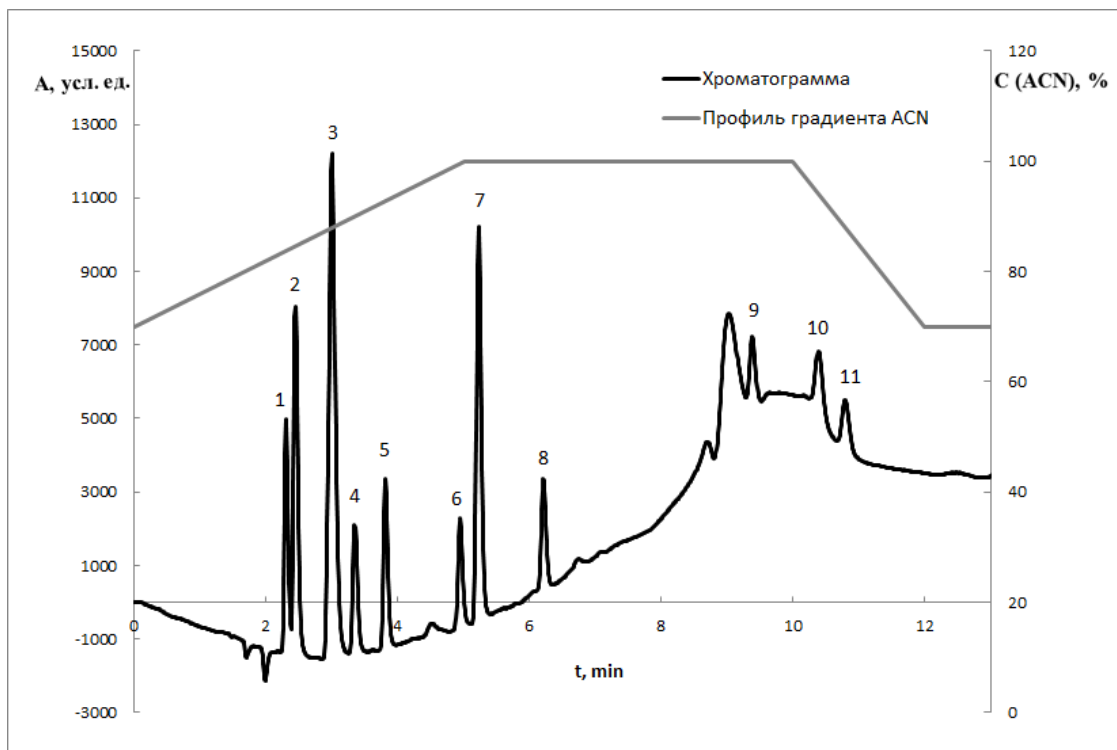


Рис. 17. Профиль градиента №1 и полученная хроматограмма.

1 – метилфталат; 2 – этилфталат; 3 – бензилфталат, фталевая кислота, бутилфталат, диметилфталат; 4 – циклогексилфталат; 5 – диэтилфталат; 6 – *s*-октилфталат; 7 – дифенилфталат; 8 – дибутилфталат; 9 – дигептилфталат; 10 – бис(2-этилгексил)фталат; 11 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

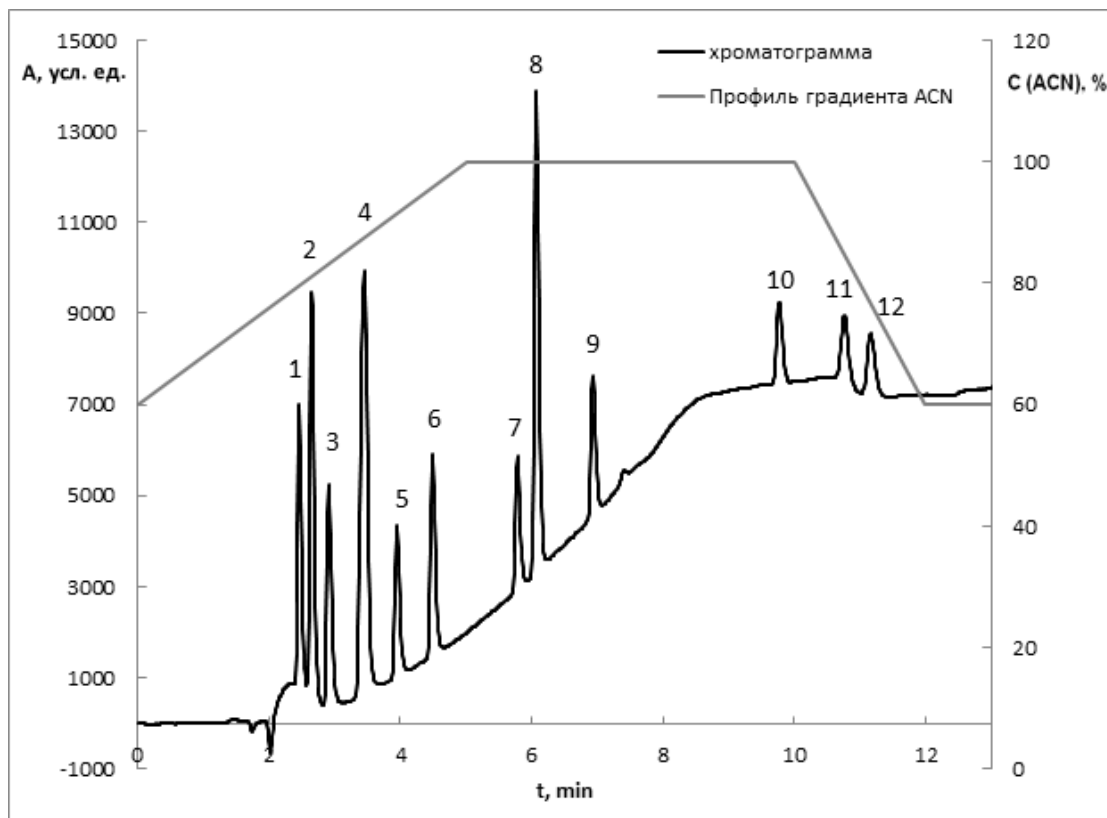


Рис. 18. Профиль градиента №2 и полученная хроматограмма.

1 – метилфталат; 2 - этилфталат; 3 – фталевая кислота;
 4 – бензилфталат, бутилфталат, диметилфталат;
 5 – моно-циклогексилфталат; 6 – диэтилфталат; 7 – моно-*s*-октилфталат;
 8 – дифенилфталат; 9 – дибутилфталат; 10 – дигептилфталат;
 11 – бис(2-этилгексил)фталат; 12 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

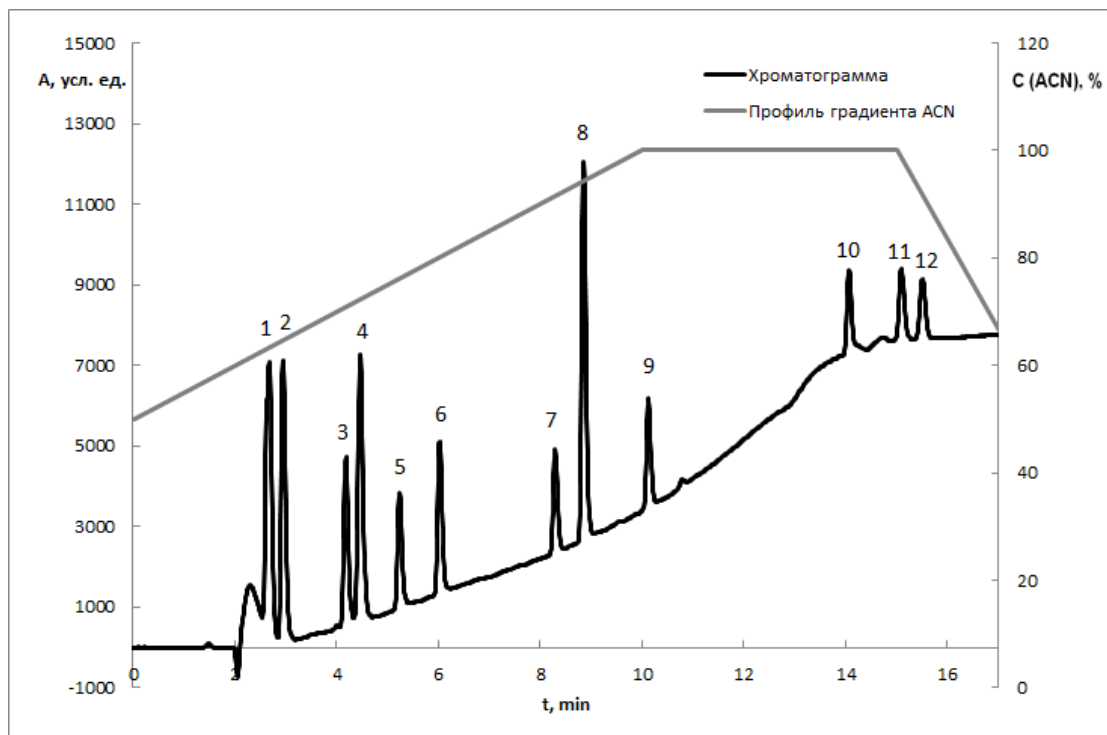


Рис. 19. Профиль градиента №3 и полученная хроматограмма.

1 – метилфталат, фталевая кислота; 2 – этилфталат;
 3 – диметилфталат; 4 – бензилфталат, бутилфталат;
 5 – циклогексилфталат; 6 – диэтилфталат; 7 – s-октилфталат;
 8 – дифенилфталат; 9 – дибутилфталат; 10 – дигептилфталат;
 11 – бис(2-этилгексил)фталат; 12 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

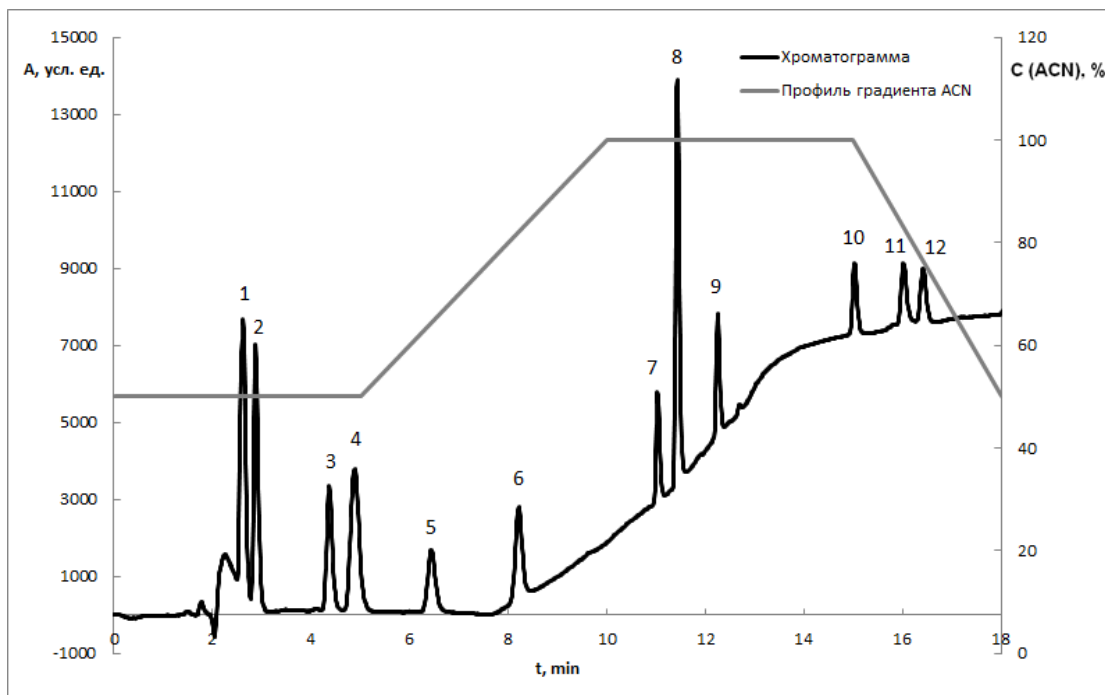


Рис. 20. Профиль градиента №4 и полученная хроматограмма.

1 – метилфталат, фталевая кислота; 2 – моноэтилфталат;
 3 – диметилфталат; 4 – монобензилфталат, монобутилфталат,
 5 – моно-циклогексилфталат; 6 – диэтилфталат; 7 – моно-*s*-октилфталат;
 8 – дифенилфталат; 9 – дибутилфталат; 10 – дигептилфталат;
 11 – бис(2-этилгексил)фталат; 12 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

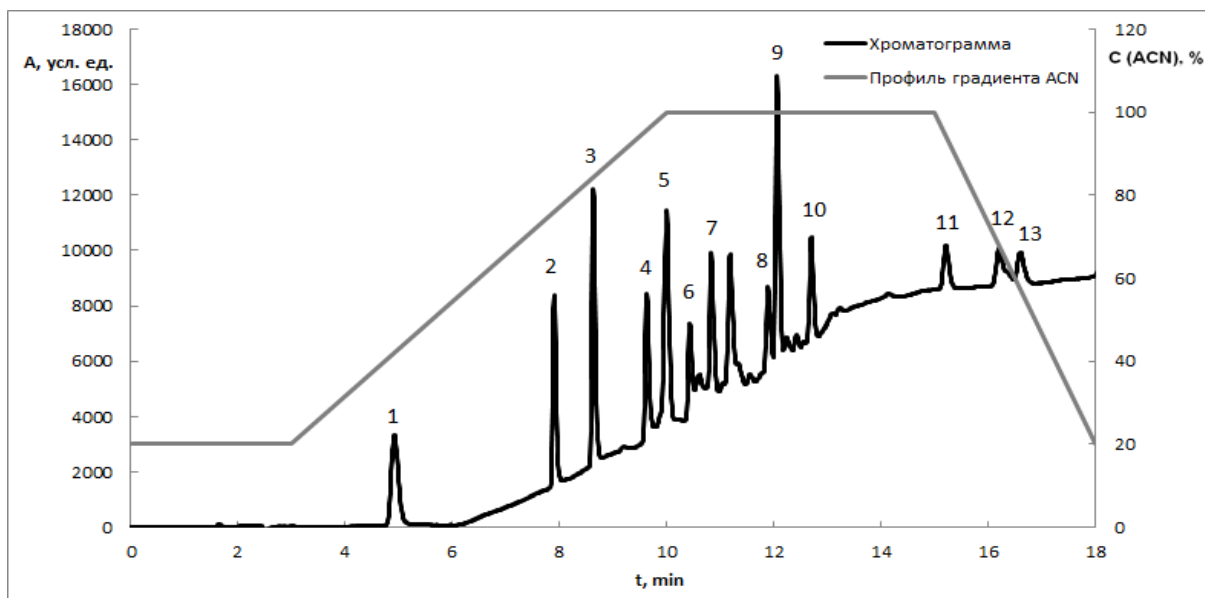


Рис. 21. Профиль градиента №5 и полученная хроматограмма.

1 – фталевая кислота; 2 – метилфталат; 3 – этилфталат;
 4 – диметилфталат; 5 – бензилфталат, бутилфталат; 6 – моно-
 циклогексилфталат; 7 – диэтилфталат; 8 – моно-*s*-октилфталат; 9 – дифенилфталат;
 10 – дибутилфталат; 11 – дигептилфталат; 12 – бис(2-этилгексил)фталат;
 13 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

концентрации с 50% до 100% и изократический участок (100% АСН) длительностью 7 минут, см. рис. 22. В этом случае удалось достигнуть полного разделения всех аналитов, включая пару монобутилфталат и монобензилфталат. Для качественного анализа использовали МС детектирование. В результате оптимизации получены следующие характеристики хроматографического разделения: разрешение (R_s) составило 1,8 для пиков 5 и 6, для остальных значения выше. Число теоретических тарелок варьируется от 5000 для фталевой кислоты до 163000 для дигептилфталата. Коэффициенты асимметрии составили от 1,3 до 1,6.

По полученным хроматограммам рассчитывали параметры градуировочных зависимостей (табл. 10). Интервал определяемых концентраций составил от 0,5 до 50 мг/л. В качестве аналитического сигнала использовали площади пиков. Пределы обнаружения фталатов составили от 0,25 до 1,6 мг/л (табл. 10). Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ определения находится в интервале 0,001 – 0,1 (табл. 11).

3.2.4. Разработка упрощенной ВЭЖХ-СФ методики определения фталатов, включающая разделение в изократическом режиме.

У нас не было технической возможности использовать установку для десорбции субкритической водой в on-line сочетании с ВЭЖХ-МС определением. Поэтому для разработки on-line методики использовали более простой хроматограф с изократической системой элюирования и спектрофотометрическим детектором.

Отсутствие возможности проводить градиентное разделение привело к тому, что из первоначального набора аналитов пришлось оставить только следующие: фталевую кислоту, монометилфталат, моноэтилфталат, монобутилфталат, монобензилфталат. Для элюирования этих веществ не требуется высокая концентрация органического компонента бинарного водно-органического элюента.

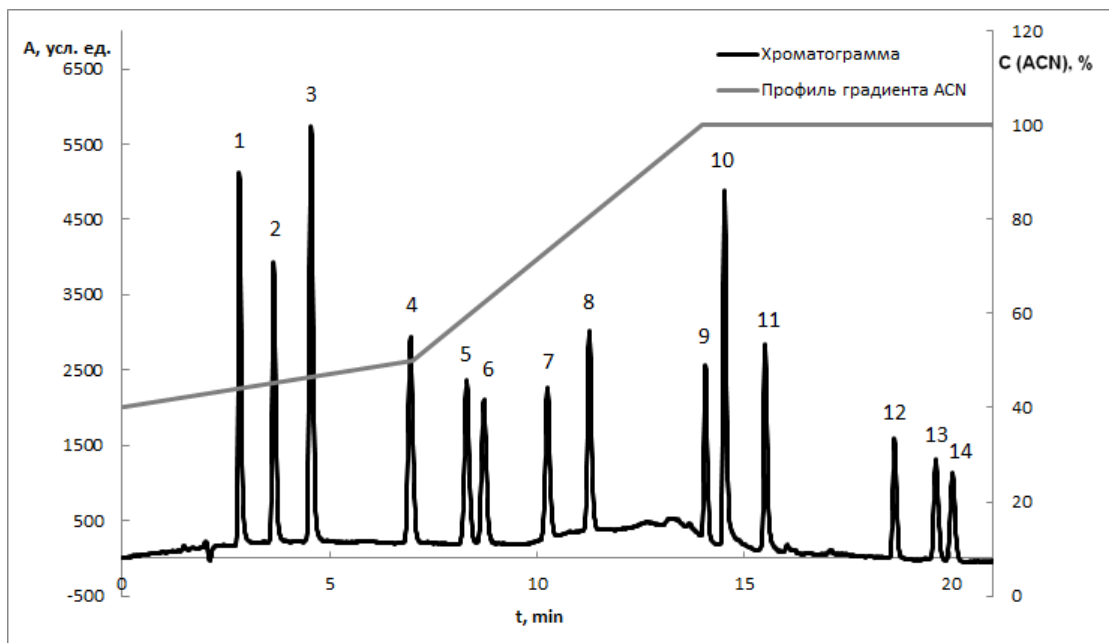


Рис. 22. Профиль градиента №6 и полученная хроматограмма.

1 – фталевая кислота; 2 – метилфталат; 3 – моноэтилфталат;
 4 – диметилфталат; 5 – монобутилфталат; 6 – монобензилфталат,
 7 – моно-циклогексилфталат; 8 – диэтилфталат; 9 – моно-*s*-октилфталат;
 10 – дифенилфталат; 11 – дибутилфталат; 12 – дигептилфталат;
 13 – бис(2-этилгексил)фталат; 14 – диоктилфталат.

Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈. Проводили одновременно МС- и УФ-детектирование, на рисунке приведена хроматограмма при длине волны 275 нм.

Таблица 10. Параметры градуировочных зависимостей при прямом хромато-масс-спектрометрическом определении фталатов и их пределы обнаружения

| Определяемое вещество | A | B | R ² | C min, мг/л |
|-------------------------|------|------|----------------|-------------|
| Фталевая кислота | 2651 | -706 | 0,99 | 1,75 |
| Монометилфталат | 2170 | -158 | 0,99 | 0,47 |
| Моноэтилфталат | 3514 | -203 | 0,99 | 0,31 |
| Диметилфталат | 2140 | -168 | 0,99 | 0,57 |
| Монобутилфталат | 1764 | 5 | 0,99 | 0,25 |
| Монобензилфталат | 1565 | -27 | 0,99 | 0,37 |
| Моно-циклогексилфталат | 1532 | -93 | 0,99 | 0,36 |
| Диэтилфталат | 1770 | 1 | 0,99 | 0,25 |
| Моно-s-октилфталат | 1553 | -244 | 0,99 | 0,33 |
| Дифенилфталат | 2453 | 2570 | 0,99 | 1,33 |
| Дибутилфталат | 1339 | 3278 | 0,99 | 1,6 |
| Дигептилфталат | 990 | 13 | 0,99 | 0,44 |
| Ди-n-октилфталат | 932 | 35 | 0,99 | 0,44 |
| Бис(2-этилгексил)фталат | 937 | 789 | 0,99 | 1,05 |

Для разделения фталатов использовали водно-ацетонитрильную фазу в соотношении 60:40 об. %. Для подавления диссоциации фталатов в растворы вводили 0,1 об. % H₃PO₄. Вводили 20 мкл раствора фталатов в ацетонитриле. Использовали спектрофотометрический детектор, детектирование проводили при длине волны 226 нм). Образцы для анализа готовили разбавлением смеси фталатов. Типичная хроматограмма при прямом ВЭЖХ определении представлена на рис. 23. В результате оптимизации получены следующие характеристики хроматографического разделения: разрешение (R_s) составило 2,2 для пиков 2 и 3, для остальных значения выше. Число теоретических тарелок варьируется от 3000 для фталевой кислоты до 15000 для моноэтилфталата. Коэффициенты асимметрии

Таблица 11. Относительные стандартные отклонения результатов прямого ВЭЖХ определения фталатов (n = 3, P = 0,95)

| Определяемое вещество | С, мг/л | | | | | | |
|-------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 | 10 | 25 | 50 |
| Фталевая кислота | 0,07 | 0,001 | 0,003 | 0,02 | 0,006 | 0,006 | 0,001 |
| Монометилфталат | 0,1 | 0,01 | 0,005 | 0,003 | 0,003 | 0,003 | 0,003 |
| Моноэтилфталат | 0,04 | 0,006 | 0,003 | 0,002 | 0,001 | 0,005 | 0,001 |
| Диметилфталат | 0,06 | 0,06 | 0,001 | 0,004 | 0,001 | 0,001 | 0,003 |
| Монобутилфталат | 0,06 | 0,08 | 0,005 | 0,02 | 0,001 | 0,004 | 0,001 |
| Монобензилфталат | 0,1 | 0,009 | 0,004 | 0,01 | 0,002 | 0,003 | 0,001 |
| Моно-циклогексилфталат | 0,03 | 0,1 | 0,02 | 0,001 | 0,01 | 0,001 | 0,001 |
| Диэтилфталат | 0,07 | 0,001 | 0,006 | 0,03 | 0,002 | 0,003 | 0,001 |
| Моно-s-октилфталат | 0,08 | 0,02 | 0,005 | 0,004 | 0,001 | 0,002 | 0,001 |
| Дифенилфталат | -* | 0,06 | 0,009 | 0,002 | 0,001 | 0,001 | 0,002 |
| Дибутилфталат | -* | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,003 | 0,003 | 0,006 |
| Дигептилфталат | 0,08 | 0,008 | 0,02 | 0,012 | 0,002 | 0,001 | 0,003 |
| Ди-n-октилфталат | 0,09 | 0,005 | 0,04 | 0,013 | 0,004 | 0,001 | 0,004 |
| Бис(2-этилгексил)фталат | -* | 0,05 | 0,003 | 0,005 | 0,010 | 0,001 | 0,001 |

* – ниже предела обнаружения.

пиков составили от 0,9 до 1,1. По полученным хроматограммам рассчитывали параметры градуировочных зависимостей и пределы обнаружения фталатов (табл. 12). Пределы обнаружения рассчитывали по дисперсии параметров градуировочной зависимости [110]. Интервал определяемых концентраций фталатов составил от 0,1 до 1 мг/л. В качестве аналитического сигнала использовали площади пиков. Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ определения фталатов находится в интервале 0,01 – 0,13 (табл. 13).

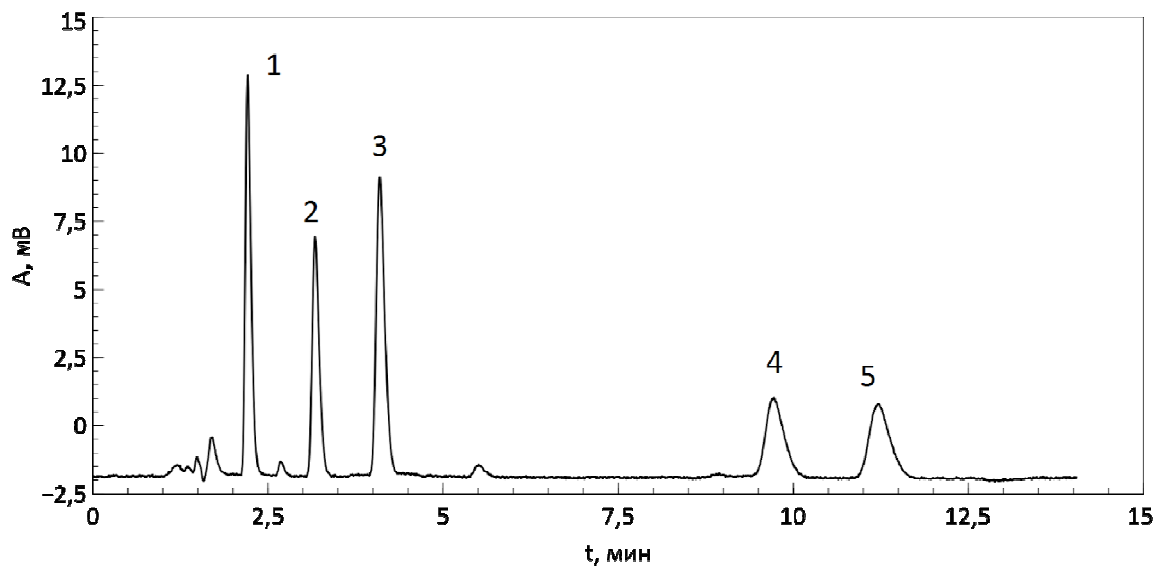


Рис. 23. Хроматограмма, полученная при прямом ВЭЖХ определении фталатов. 1 – фталевая кислота, 2 – метилфталат, 3 – этилфталат, 4 – моно-изобутилфталат, 5 – монобензилфталат. Концентрация каждого аналита 1 мг/л, подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 226 нм.

Таблица 12. Параметры градуировочных зависимостей и пределы обнаружения при прямом ВЭЖХ определении фталатов (n = 3, P = 0,95)

Использовали уравнение вида: $S = Ax + B$

| Определяемое вещество | A | B | R ² | S _{min} , 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 |

Таблица 13. Относительное стандартное отклонение результатов прямого ВЭЖХ-СФ определения фталатов (n = 3, P = 0,95)

| Определяемое вещество | с, мг/л | | | | |
|-----------------------|---------|------|------|------|------|
| | 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.

3.2.5. Выбор условий десорбции фенолов с углеродного сорбента с использованием субкритической воды в качестве десорбирующего раствора

Следующим этапом разработки процедуры концентрирования является выбор условий десорбции. Необходимо выбрать такие условия, которые обеспечат количественную десорбцию аналитов минимальным объемом десорбирующего раствора. При проведении десорбции субкритической водой основными параметрами, определяющими эффективность десорбции, являются [118]: температура субкритической воды, скорость ее пропускания, объем

десорбирующего раствора, а также время выдерживания системы при заданной температуре до начала пропускания десорбирующего раствора.

Наиболее важным параметром, который определяет поведение микрокомпонента при десорбции субкритической водой, является температура проведения десорбции. Из литературных данных известно [41, 119], что фенолы экстрагировали субкритической водой из почв и других объектов при температурах 100 – 200 °С. Мы провели серию экспериментов по десорбции фенолов при температурах 150 – 200 °С.

Согласно литературным данным [5, 120], на скорость массопереноса в сорбционных системах при использовании субкритической воды в качестве подвижной фазы помимо температуры печи существенным образом влияет скорость потока подвижной фазы и эффективность теплообмена между термостатируемой средой (как правило, это воздух) и подвижной фазой. Ранее в работе нашей группы [118] было изучено влияние скорости потока десорбирующего раствора и времени прогрева печи на вид кривой десорбции. Показано, что оптимальная скорость пропускания десорбирующего раствора – 0,5 мл/мин, время предварительного прогрева печи – 10 мин. В настоящей работе также использовали эти параметры.

Для изучения влияния температуры субкритической воды на эффективность десорбции строили зависимость: собирали фракции десорбирующего раствора на выходе из колонки и анализировали каждую фракцию отдельно. Схема установки представлена на рис. 9.

Использовали следующую процедуру для получения зависимости десорбции от объема пропущенного десорбирующего раствора:

1. На стадии сорбции пропускали через колонку для концентрирования 10 мл раствора фенолов (концентрация каждого аналита 0,4 мг/л) в деионизованной воде с добавлением 0,1 об. % H_3PO_4 .
2. После 10-минутного прогрева печи включали поток воды через колонку для концентрирования, раствор после десорбции собирали аликвотами по 0,5 мл.

3. После десорбции колонку промывали 5 мл смеси изопропанол-ацетонитрил (75:25% об. /об.) в течение 10 минут, затем 5 мл ацетонитрила также в течение 10 минут.

В каждой аликвоте проводили прямое ВЭЖХ определение смеси фенолов. Строили зависимость количества фенолов в аликвоте от объема пропущенного десорбирующего раствора. Рассчитывали полную степень десорбции как отношение суммарного количества каждого фенола во всех аликвотах после десорбции к исходному сорбированному количеству.

Сравнивали эффективность процедуры десорбции с использованием субкритической воды, и традиционной процедуры десорбции с использованием в качестве десорбирующего раствора ацетонитрила при комнатной температуре. Для этого аналогичным образом (но без нагревания) получали данные по десорбции фенолов ацетонитрилом.

Результаты приведены на рис. 24 – 27. Рассчитанные суммарные степени десорбции приведены в табл. 14.

Как видно из рисунков, в выбранных условиях ширина зоны концентрата при десорбции фенолов субкритической водой и ацетонитрилом отличается незначительно. Десорбция большинства фенолов (фенол, 4-нитрофенол, 2-хлорфенол, 2-нитрофенол, 2,4-диметилфенол) субкритической водой при 175°C требует такого же или меньшего объема десорбирующего раствора, как и десорбция ацетонитрилом при комнатной температуре. При повышении температуры субкритической воды снижается степень десорбции незамещенного фенола, что говорит о его частичном разложении. Для эффективной десорбции 4-хлор-3-метилфенола и 2,4-дихлорфенола субкритической водой требуется температура 200°C. Максимальный объем десорбирующего раствора составил 2,5 мл.

Данные, полученные в настоящем разделе работы, позволили нам выбрать следующие условия десорбции фенолов с сорбента Нуресcarb:

- температура печи 175 °С;
- скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин;
- объем десорбирующего раствора – 3 мл;

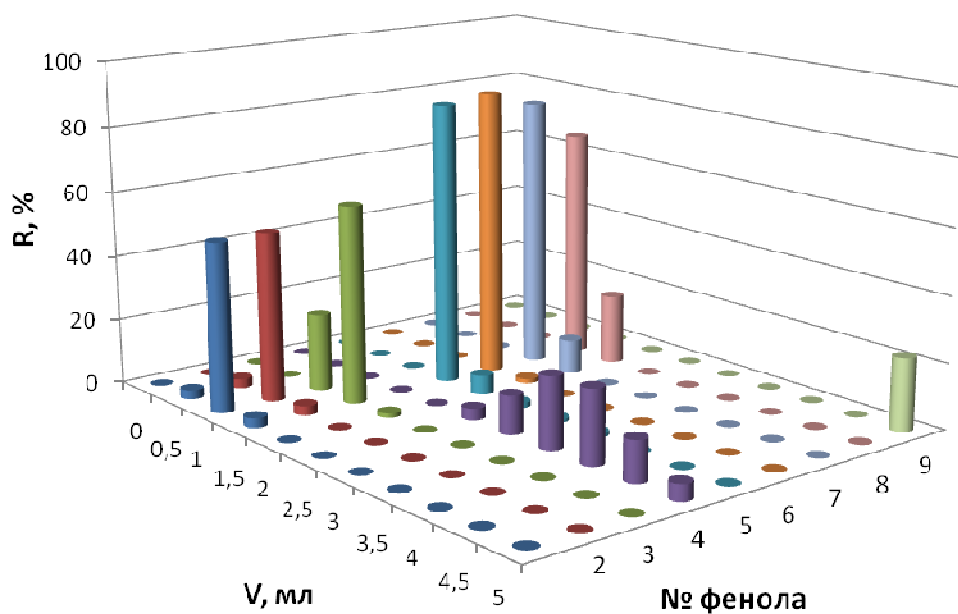


Рис. 24. Десорбция фенолов ацетонитрилом при 25 °С.

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2-нитрофенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 4-хлор-3-метилфенол, 8 – 2,4-дихлорметилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Фенолы концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фенолов}} = 0,4$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

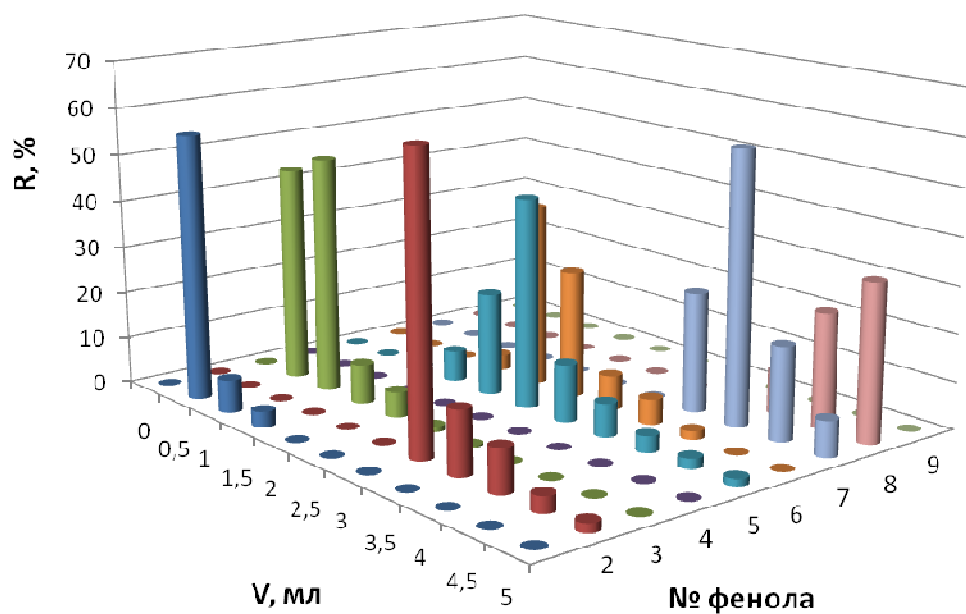


Рис. 25. Десорбция фенолов субкритической водой при 150 °С.

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2-нитрофенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 4-хлор-3-метилфенол, 8 – 2,4-дихлорметилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Фенолы концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фенолов}} = 0,4$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нурегсарб. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

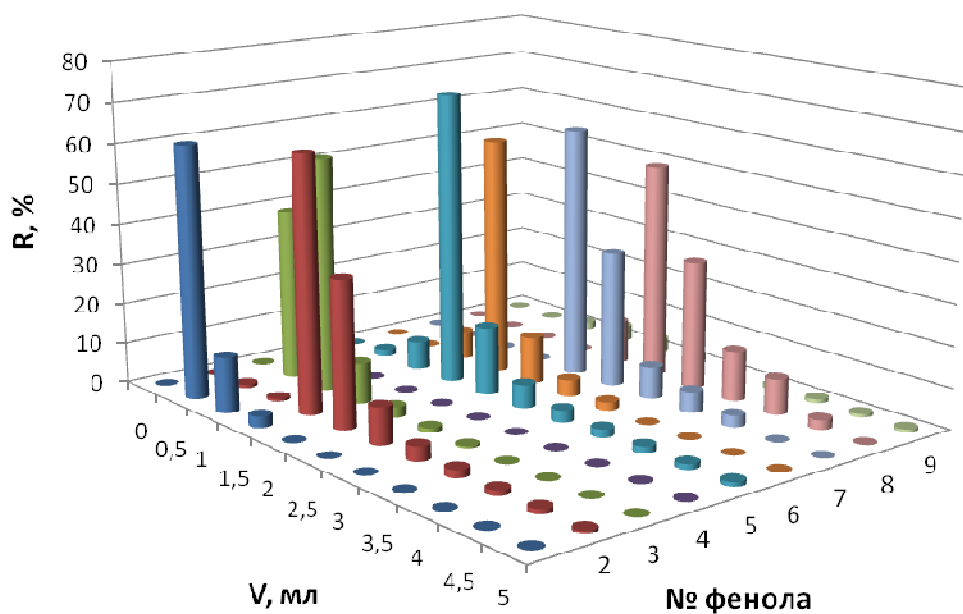


Рис. 26. Десорбция фенолов субкритической водой при 175 °С.

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2-нитрофенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 4-хлор-3-метилфенол, 8 – 2,4-дихлорметилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Фенолы концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фенолов}} = 0,4$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

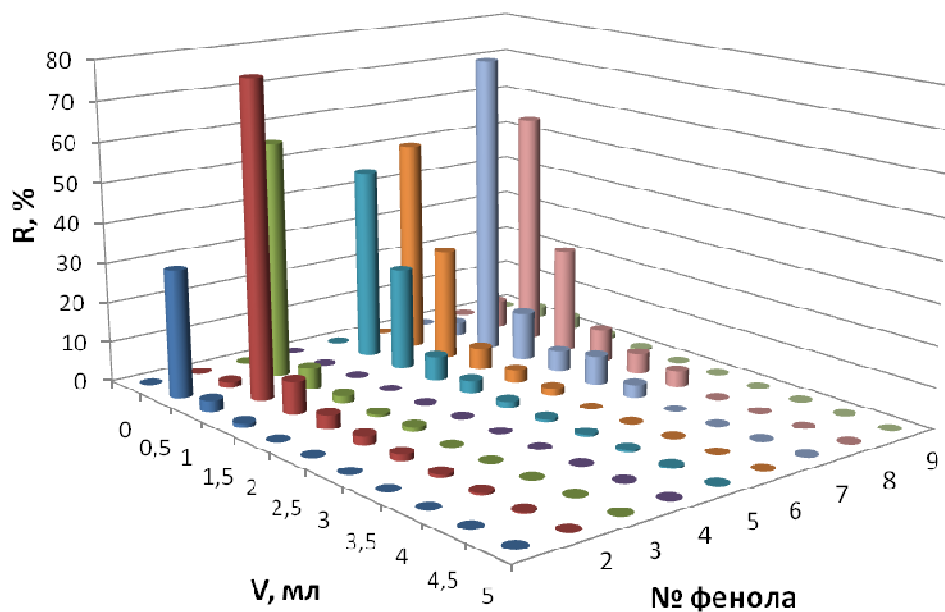


Рис. 27. Десорбция фенолов субкритической водой при 200 °С.

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2-нитрофенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 4-хлор-3-метилфенол, 8 – 2,4-дихлорметилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол. Фенолы концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фенолов}} = 0,4$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

Таблица 14. Степень десорбции фенолов, % (n = 3, P = 0,95)

| Определяемое вещество | Десорбирующий раствор | | | |
|--------------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | ацетонитрил | СВ, 150°C | СВ, 175°C | СВ, 200°C |
| Фенол | 58±2 | 68±4 | 80±6 | 36±2 |
| 4-Нитрофенол | 94±2 | 94±1 | 99±6 | 96±2 |
| 2-Хлорфенол | 86±1 | 100±6 | 97±9 | 80±6 |
| 2,4-Динитрофенол | 77±5 | 0 | 0 | 0 |
| 2-Нитрофенол | 96±4 | 77±10 | 83±2 | 74±3 |
| 2,4-Диметилфенол | 83±2 | 77±1 | 74±3 | 76±3 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | 91±4 | 74±4 | 72±7 | 71±1 |
| 2,4-Дихлорфенол | 92±2 | 67±1 | 70±3 | 73±4 |
| 2-Метил-4,6-динитрофенол | 22±1 | 0 | 32±2 | 7±2 |

- предварительный прогрев печи в течение 10 минут перед началом пропускания десорбирующего раствора.

3.2.6. Выбор условий десорбции фталатов с углеродного сорбента субкритической водой

В п. 3.2.1. оптимальный объем раствора фенолов, пропускаемого через колонку для концентрирования с сорбентом Нурсcarb (размером 30×2,1 мм), составляет 10 мл, возможно увеличение объема до 50 мл, которое приводит к потерям слабоудерживаемых аналитов. На начальном этапе данной работы мы провели эксперимент для установления степени извлечения фталатов в тех же условиях (сорбция из 10 мл образца, десорбция 5 мл ацетонитрила). Процедура получения концентрата в off-line режиме и построения off-line кривых десорбции аналогична описанной в п. 3.2.2. для фенолов. Концентрацию каждого аналита выбрали равной 5 мг/л. Фталаты в концентрате определяли по методике, описанной в разделе 3.2.3.

Установлено, что степени извлечения фталатов (после сорбции из 10 мл образца и десорбции 5 мл ацетонитрила) составляют от 89 до 96 % (табл. 15). Эти условия использовали в качестве «контрольных» в дальнейшей работе.

Следующим этапом разработки процедуры концентрирования субкритической водой является выбор условий десорбции. Наиболее важным параметром, который определяет поведение микрокомпонента при десорбции субкритической водой, является температура проведения десорбции и количество добавленного ацетонитрила. В каждой аликвоте проводили прямое ВЭЖХ-МС определение смеси фталатов. Строили зависимость количества фталатов в аликвоте от объема пропущенного десорбирующего раствора. Полученные зависимости приведены на рис. 27 – 31. Рассчитывали полную степень десорбции как отношение суммарного количества каждого фталата во всех аликвотах после десорбции к исходному сорбированному количеству. Рассчитанные суммарные степени десорбции представлены в табл. 15.

Для монометилфталата, моноэтилфталата и диметилфталата десорбция субкритической водой при 150 °С дает пик, по ширине сопоставимый с пиком при десорбции ацетонитрилом, хотя выходит он чуть позже последнего. Вид кривых при более высоких температурах указывает на существенное увеличение скоростей как десорбции, так и гидролиза.

Из данного эксперимента можно сделать следующие выводы:

1. Для десорбции всех анализов достаточно 5 мл, что подтверждает ранее сделанные выводы о количественной десорбции.
2. Для ряда исследуемых веществ десорбция субкритической водой проходит неколичественно. Это может быть связано как с неэффективной десорбцией, так и с гидролизом фталатов.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости более детального изучения процессов, происходящих при десорбции. Для этого нужно изучить устойчивость фталатов в условиях десорбции субкритической водой.

Для этого мы проводили следующую процедуру:

1. Пропускали 10 мл раствора фталатов с концентрацией $C = 5$ мг/л через колонку для концентрирования с сорбентом Nupercarb со скоростью 1 мл/мин.

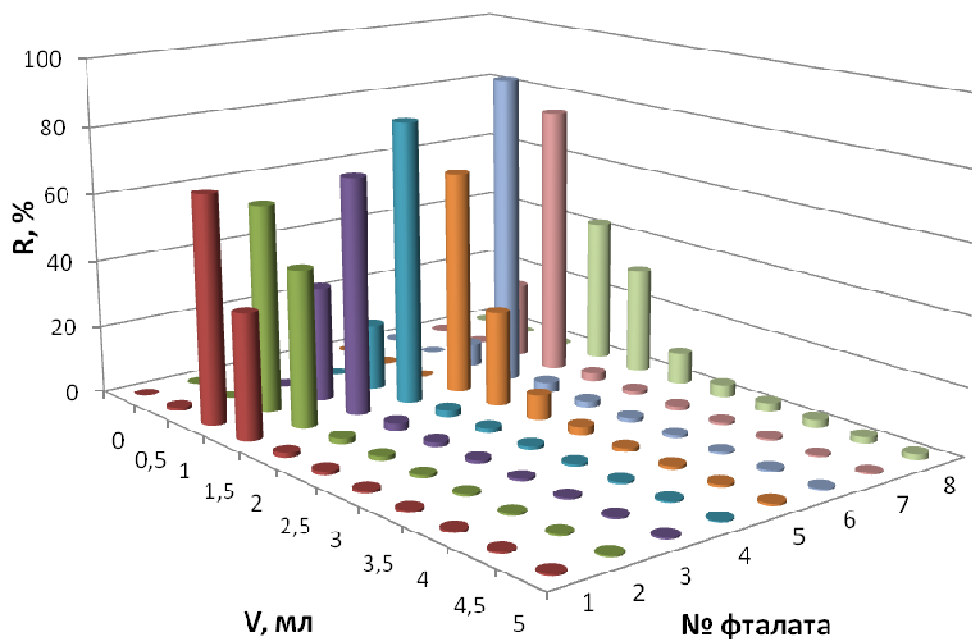


Рис. 28. Десорбция фталатов ацетонитрилом при 25 °С.

1 – 4-монометилфталат, 2 – моноэтилфталат, 3 – диметилфталат, 4 – монобутилфталат, 5 – монобензилфталат, 6 – моно-циклогексилфталат, 7 – диэтилфталат, 8 – моно-*s*-октилфталат. Фталаты концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фталатов}} = 5 \text{ мг/л}$. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Nurcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

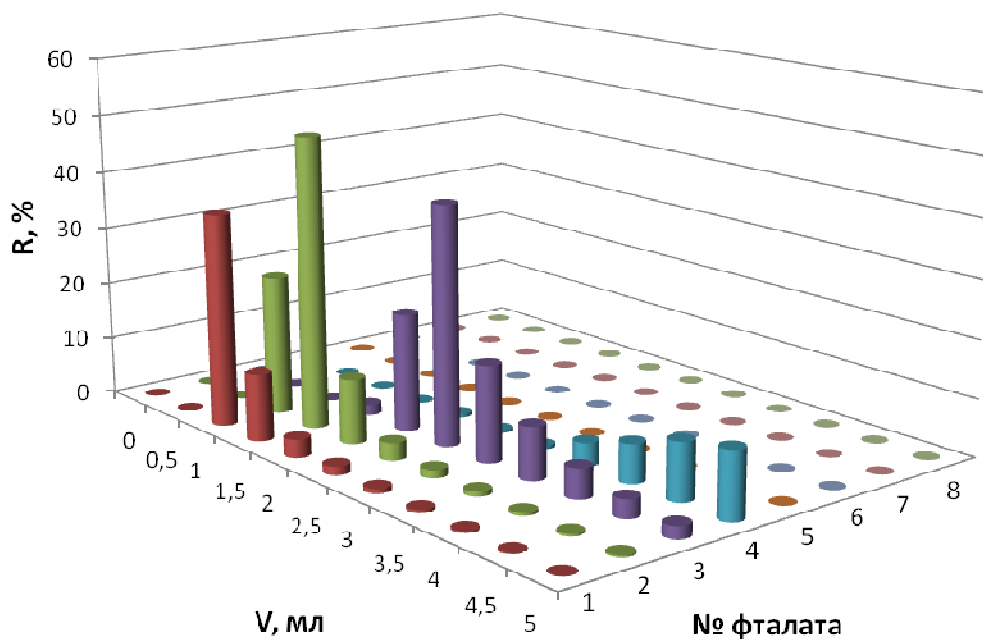


Рис. 29. Десорбция фталатов субкритической водой при 150 °С.

1 – 4-монометилфталат, 2 – моноэтилфталат, 3 – диметилфталат, 4 – монобутилфталат, 5 – монобензилфталат, 6 – моно-циклогексилфталат, 7 – диэтилфталат, 8 – моно-*s*-октилфталат. Фталаты концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фталатов}} = 5 \text{ мг/л}$. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

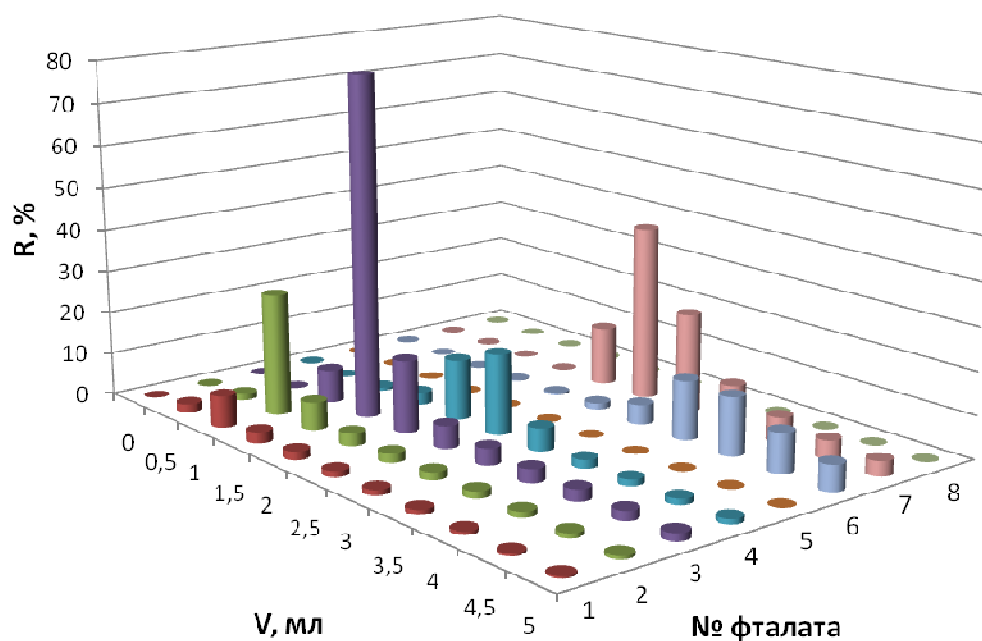


Рис. 30. Десорбция фталатов субкритической водой при 175 °С.

1 – 4-монометилфталат, 2 – моноэтилфталат, 3 – диметилфталат, 4 – монобутилфталат, 5 – монобензилфталат, 6 – моно-циклогексилфталат, 7 – диэтилфталат, 8 – моно-*s*-октилфталат. Фталаты концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фталатов}} = 5$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

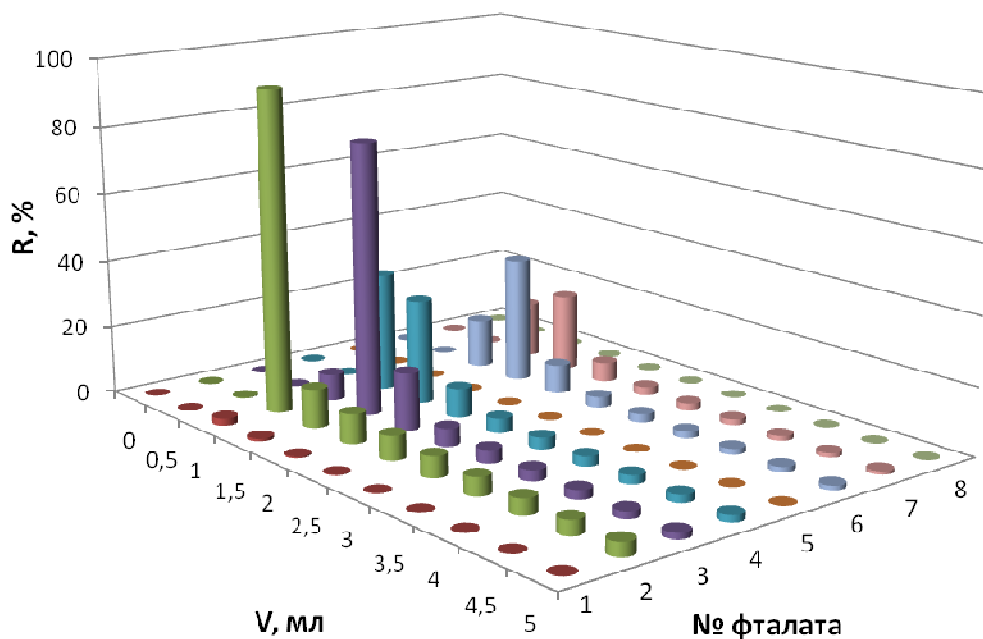


Рис. 31. Десорбция фталатов субкритической водой при 200 °С.

1 – 4-монометилфталат, 2 – моноэтилфталат, 3 – диметилфталат, 4 – монобутилфталат, 5 – монобензилфталат, 6 – моно-циклогексилфталат, 7 – диэтилфталат, 8 – моно-*s*-октилфталат. Фталаты концентрировали из 10 мл раствора, $c_{\text{фталатов}} = 5$ мг/л. Размер колонки 30×2,1 мм, сорбент Нуресcarb. Скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин.

Таблица 15. Степень десорбции фталатов (n = 3, P = 0,95)

| Определяемое вещество | Десорбирующий раствор | | | |
|------------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | ACN | СВ, 150°C | СВ, 175°C | СВ, 200°C |
| Монометилфталат | 92±5 | 40±5 | 20±5 | 15±5 |
| Моноэтилфталат | 95±2 | 75±2 | 50±5 | 15±5 |
| Монобутилфталат | 90±1 | 60±20 | 45±5 | 20±5 |
| Моно-s-октилфталат | 95±2 | -* | -* | -* |
| Монобензилфталат | 89±5 | -* | -* | -* |
| Моно-циклогексилфталат | 93±1 | -* | 40±20 | 45±5 |
| Диметилфталат | 91±1 | 93±10 | 95±5 | 94±10 |
| Диэтилфталат | 96±1 | -* | 80±15 | 100±15 |

* – не десорбируются.

2. Аналиты десорбировали деионизованной водой при комнатной температуре и при 150°C, 175°C и 200°C или деионизованной водой с добавкой 5% или 10% ацетонитрила при тех же температурах в течение 10 минут при скорости пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин. Концентрат собирали в виалы.

3. Охлаждали колонку для концентрирования до комнатной температуры и проводили десорбцию оставшихся фталатов чистым ацетонитрилом в течение 10 минут при скорости пропускания 0,5 мл/мин. На выходе из колонки полученный раствор собирали в виалы.

4. После каждого цикла эксперимента колонку для концентрирования промывали 5 мл смеси изопропанол:ацетонитрил (75:25% об./об.) и 5 мл ацетонитрила со скоростью 0,5 мл/мин.

В каждой пробе проводили прямое ВЭЖХ-МС определение смеси фталатов. По полученным данным рассчитывали суммарную степень извлечения фталатов при десорбции субкритической водой и при десорбции чистым ацетонитрилом. Сравнивали эффективность процедуры десорбции с использованием деионизованной воды, воды с добавлением 5% и 10% ацетонитрила при комнатной температуре и при 150°C, 175°C и 200°C, и процедуры десорбции с

использованием в качестве десорбирующего раствора ацетонитрила при комнатной температуре. Данные этого эксперимента позволили разделить фталаты на следующие условные группы:

В первую группу можно объединить монобутилфталат, моноциклогексилфталат, монометилфталат и моноэтилфталат. Для них характерна наибольшая десорбция при температуре 150°C. При увеличении температуры увеличивается степень гидролиза данных фталатов. Эти аналиты не десорбируются водой при комнатной температуре, добавление ацетонитрила не дало результатов, исключением стали моноэтилфталат, который при добавке 10% ацетонитрила десорбировался количественно, и монометилфталат, но в этих условиях для него десорбция проходила не количественно. Диаграммы степеней извлечения для данной группы представлены на рис. 32 – 35.

Во вторую группу можно условно отнести диметилфталат и диэтилфталат. Для данной группы фталатов характерна количественная десорбция уже при 150°C. Увеличение температуры не приводит к увеличению гидролиза. Диаграммы степеней извлечения для данной группы представлены на рис. 36 – 37.

Третью группу аналитов составляет монобензилфталат. Для монобензилфталата температуры 150°C недостаточно для количественной десорбции, и уже при этой температуре идет гидролиз. При увеличении температуры монобензилфталат полностью разлагается. Типичная диаграмма степеней извлечения для монобензилфталата представлена на рис. 38.

Также важно отметить, что отличить поведение монобензилфталата и моно-s-октилфталата на основании анализа off-line кривых десорбции невозможно, но при изучении устойчивости аналитов выяснилось, что моно-s-октилфталат не десорбируется, и лишь небольшая его часть гидролизует, в то время как монобензилфталат полностью разлагается при температуре 200°C. Диаграмма степеней извлечения моно-s-октилфталата представлена на рис. 39.

Данные, полученные в настоящем разделе работы и в предыдущих разделах, позволили нам выбрать следующие условия десорбции фталатов с сорбента Нуперcarb:

- температура печи 150 °C;

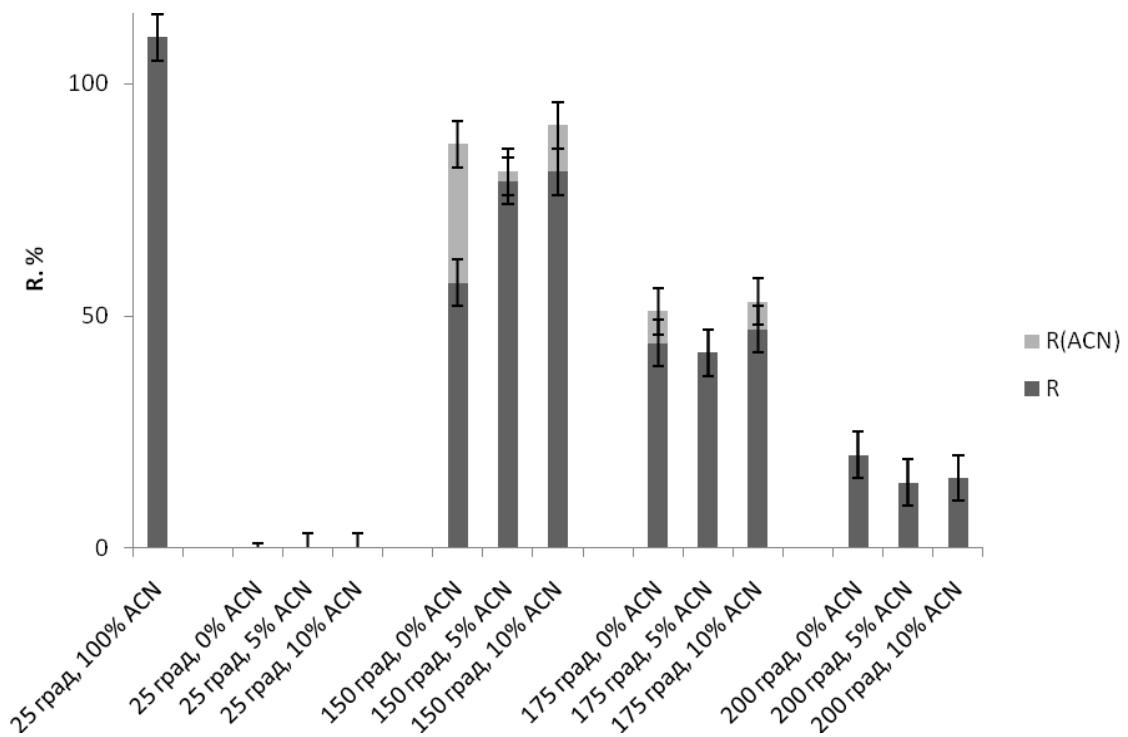


Рис. 32. Степени извлечения (%) монобутилфталата с сорбента Nurcarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150 – 200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150 – 200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Монобутилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

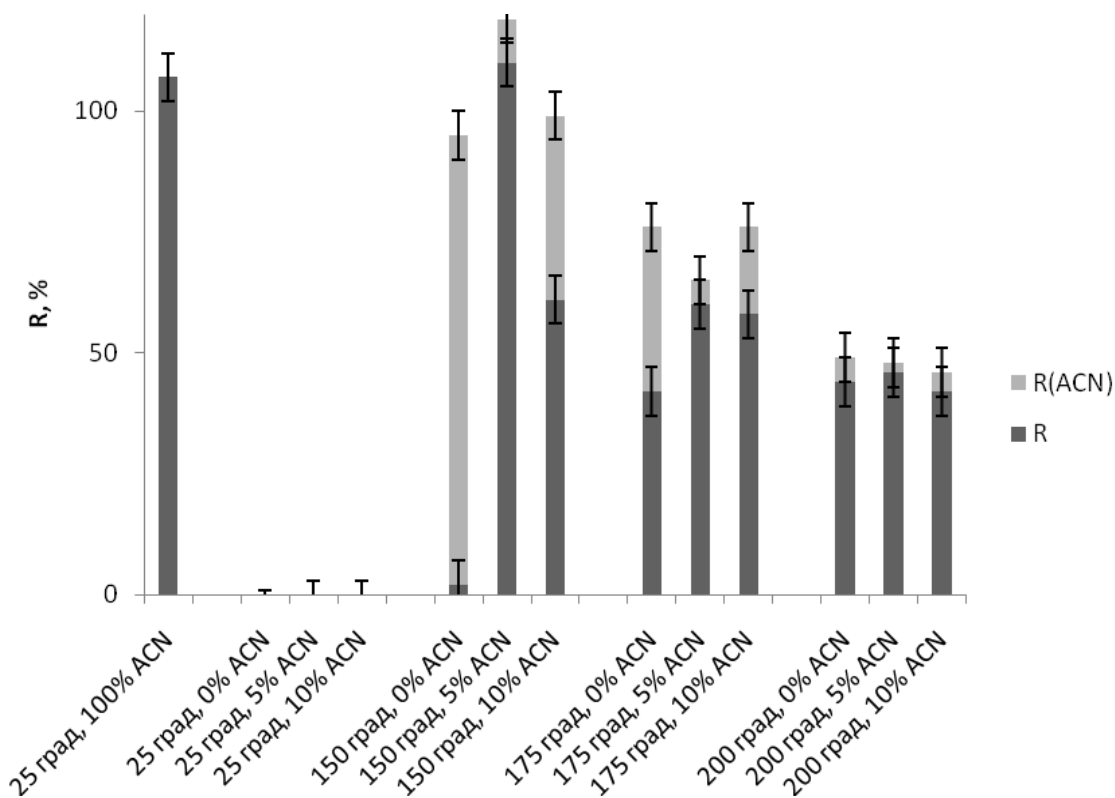


Рис. 33. Степени извлечения (%) моно-циклогексилфталата с сорбента Nurcarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150–200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150–200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Моно-циклогексилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

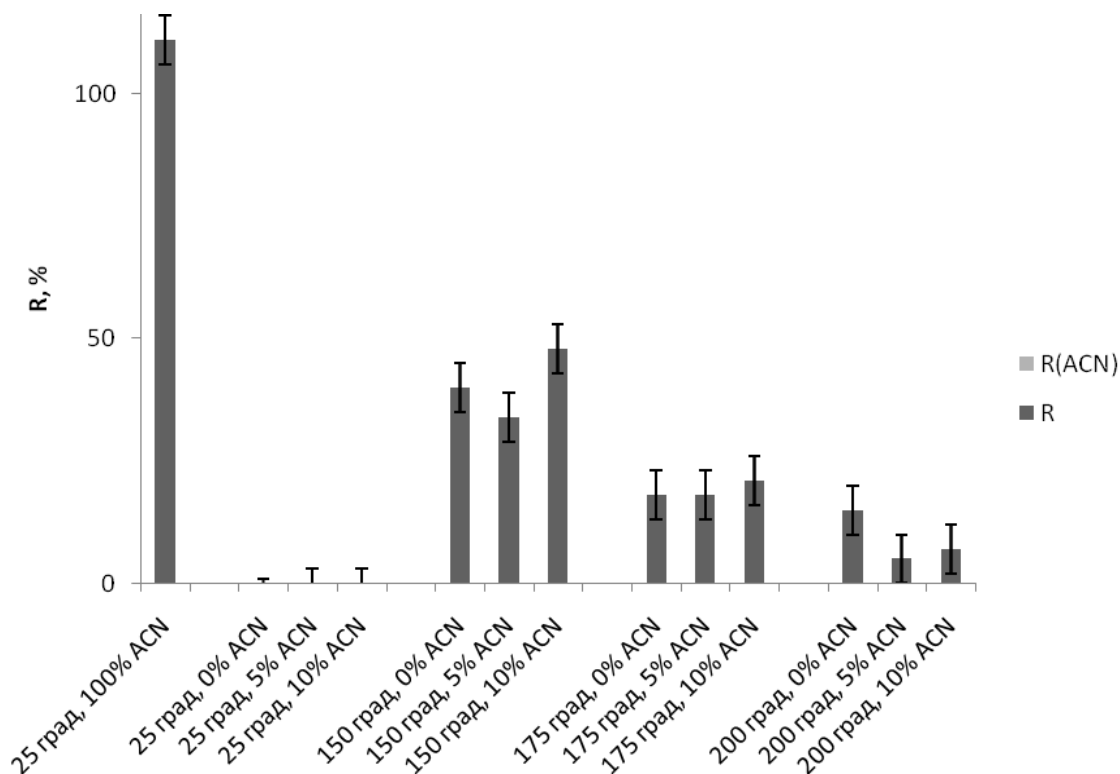


Рис. 34. Степени извлечения (%) монометилфталата с сорбента Hupercarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150–200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150–200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Монометилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

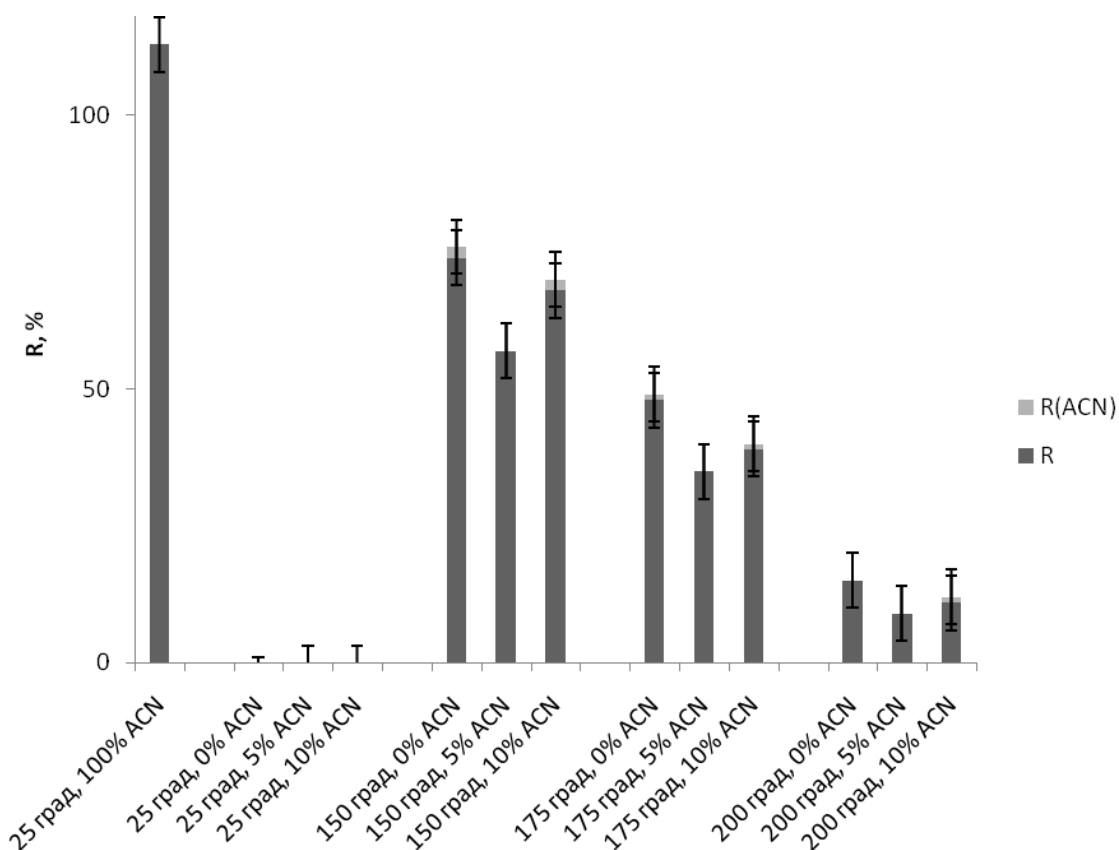


Рис. 35. Степени извлечения (%) моноэтилфталата с сорбента Nurpercarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150–200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150–200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Моноэтилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

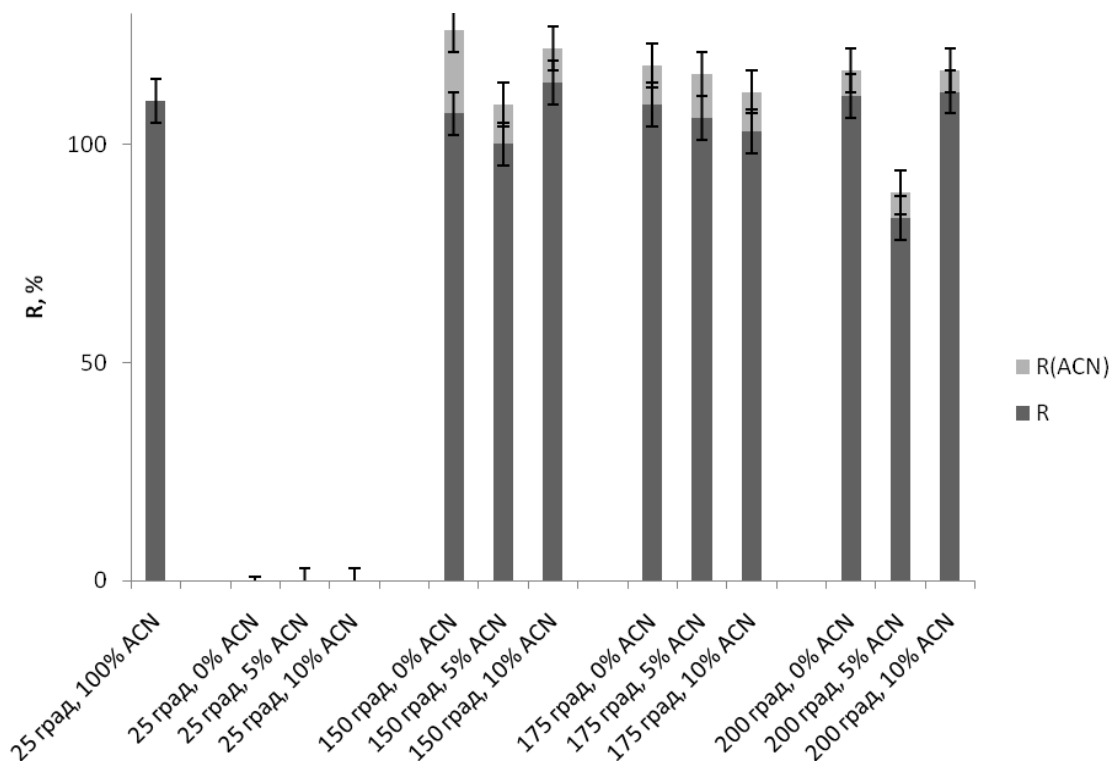


Рис. 36. Степени извлечения (%) диметилфталата с сорбента Нуперкарб. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150 – 200°С и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150 – 200°С, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Диметилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

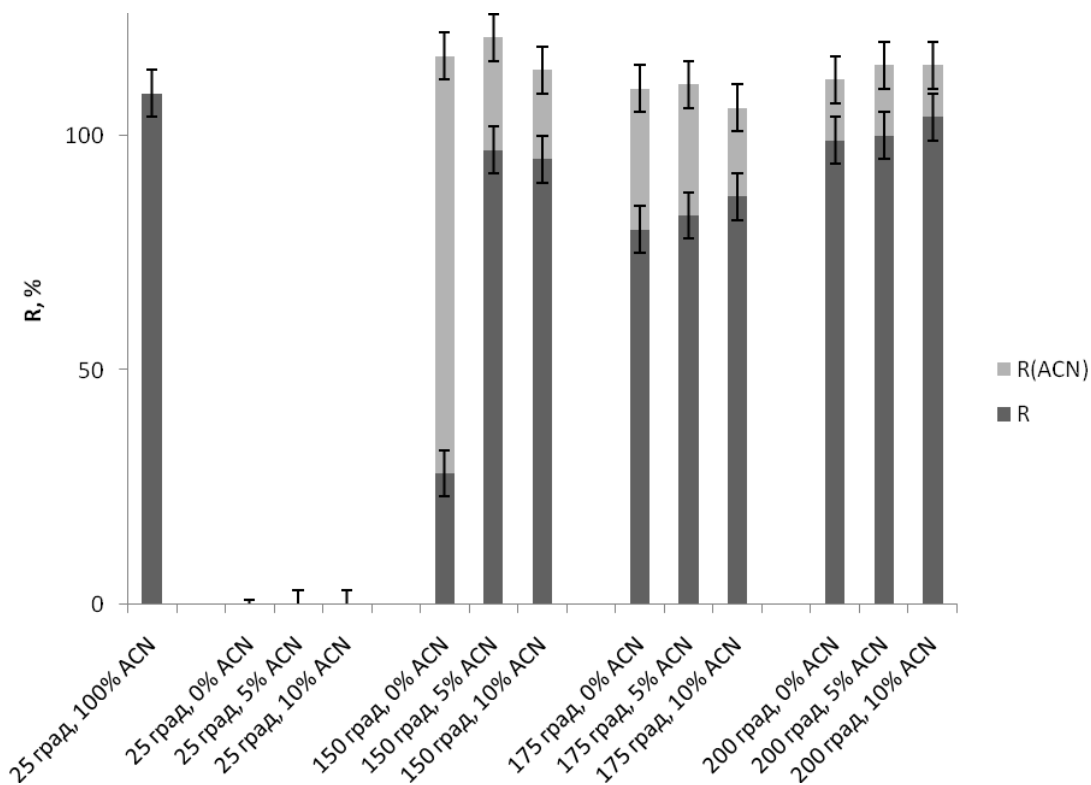


Рис. 37. Степени извлечения (%) диэтилфталата с сорбента Nupercarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150–200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150–200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Диэтилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

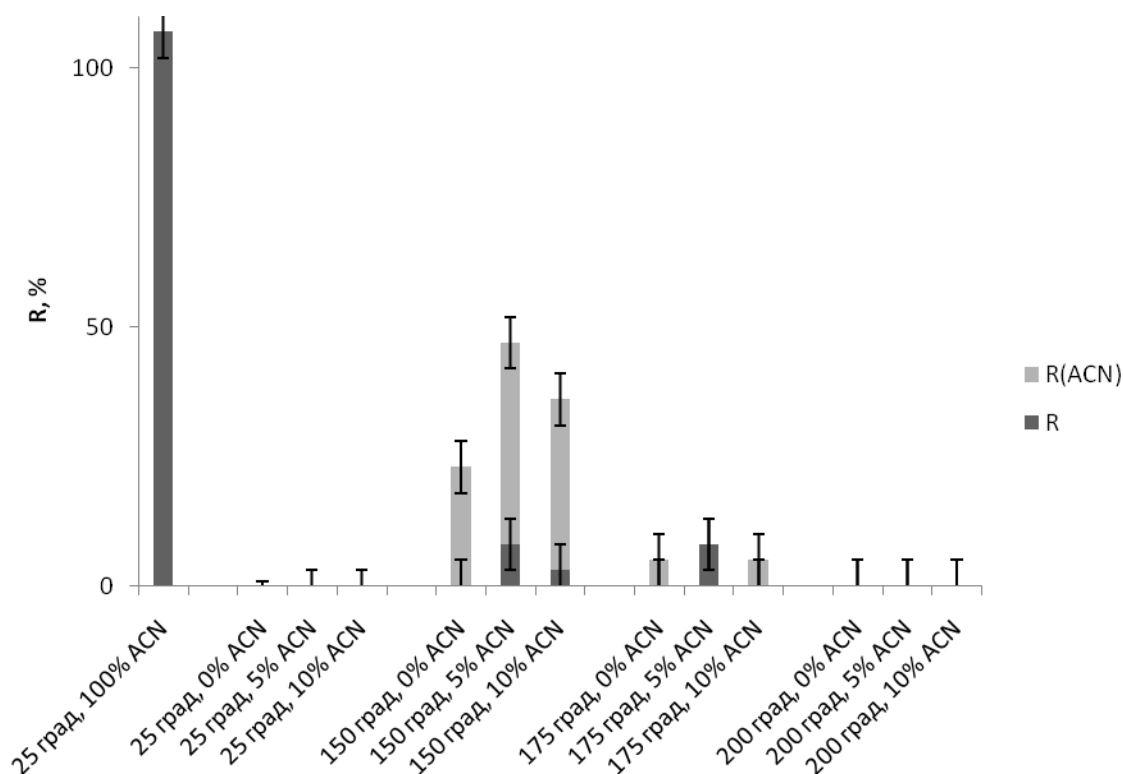


Рис. 38. Степени извлечения (%) монобензилфталата с сорбента Nurcarb. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150 – 200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150 – 200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Монобензилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

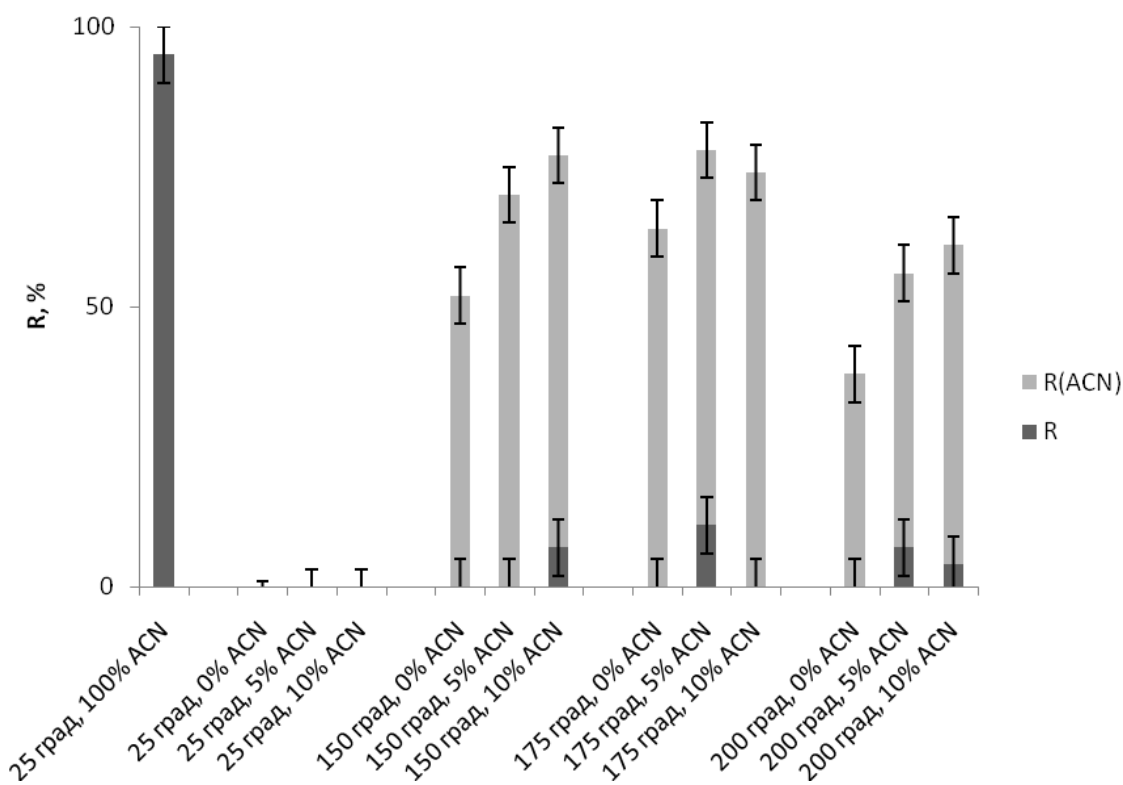


Рис. 39. Степени извлечения (%) моно-*s*-октилфталата с сорбента Нуркарб. Десорбцию проводили ацетонитрилом (ACN) при комнатной температуре, субкритической водой (СВ) при 150–200°C и смесью вода - ацетонитрил (5%, 10%) при комнатной температуре и при 150–200°C, а также деионизованной водой при комнатной температуре. Моно-*s*-октилфталат извлекали из 10 мл водного раствора (5 мг/л).

- скорость пропускания десорбирующего раствора 0,5 мл/мин;
- объем десорбирующего раствора – 5 мл;
- добавка ацетонитрила в деионизованную воду – 5%;
- предварительный прогрев печи в течение 10 минут перед началом пропускания десорбирующего раствора.

Выводы к главе 3

Показано, что пористый графитированный углеродный сорбент Hupercarb более устойчив в среде субкритической воды при температурах 175 и 200°C, чем органополимерные сорбенты MN-200 (сверхсшитый полистирол) и Strata-X.

Получены данные о сорбции фенолов из различных объемов, в качестве оптимального выбран объем 10 мл. Получены данные о десорбции фенолов и фталатов субкритической водой с углеродного сорбента при температурах 150, 175 и 200°C. Показано, что возможна эффективная десорбция ряда фенолов (фенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2-нитрофенола, 2,4-диметилфенола, 4-хлор-3-метилфенола) с сорбента Hupercarb при 175 и 200°C. Моноэтилфталат и диметилфталат эффективно десорбируются при 150°C, для десорбции диэтилфталата требуется 175–200°C. Показано, что эффективность десорбции 2,4-дихлорфенола, моно-циклогексилфталата и монобутилфталата субкритической водой ниже, чем ацетонитрилом. Наибольшую степень десорбции монобутилфталата, моно-циклогексилфталата, монометилфталата и моноэтилфталата наблюдали при 150°C. При увеличении температуры увеличивается степень гидролиза этих веществ.

Глава 4. Возможность предсказания удерживания веществ в системе субкритическая вода – пористый графитированный углерод (Hypercarb) с использованием модели Абрахама

С момента появления хроматографии постоянно существовала потребность предсказания результатов экспериментов по разделению веществ. Из теории хроматографии известно, что для такого предсказания необходимо знать кинетическую эффективность разделения и параметры равновесного распределения разделяемых веществ между подвижной и неподвижной фазами. В области предсказания кинетической эффективности исследования продвинулись достаточно далеко, и в настоящее время этот параметр может быть рассчитан как функция параметров колонки при помощи кинетической теории хроматографии. Но для расчета параметров равновесного распределения существенных успехов достигнуто не было [121].

Для предсказания силы взаимодействия растворитель-растворенное вещество разработано большое число моделей и теорий, например, P' шкала Снайдера, включающая в себя тройку связанных параметров селективности растворителя (χ_n, χ_e, χ_d). Известны и другие: теория регулярных растворов и модель модифицированного распределения плотности энергии сродства, разработанная Эккертом [121].

Одной из наиболее современных и широко используемых теорий для предсказания распределения аналита между двумя фазами в ходе хроматографического эксперимента является модель линейного соотношения энергии сольватации (LSER), полагающая, что логарифм константы удерживания может быть представлен как линейная комбинация различных величин, связанных с различными типами взаимодействий в системе подвижной и неподвижной фаз. Эта модель описывается уравнением, предложенным Абрахамом [122]:

$$SP = c + eE + sS + aA + bB + vV,$$

где SP может быть любой величиной, связанной с распределением растворенного вещества, а c – системная константа. Параметры E, S, A, B , и V является так называемыми дескрипторами веществ и связаны с его поляризуемостью,

дипольностью, кислотностью водородных связей (донорной активностью), основностью водородных связей (акцепторной активностью) и молекулярным объемом. Каждый параметр преднамеренно включен в уравнение LSER для учета отдельных типов межмолекулярных взаимодействий. Коэффициенты e , s , a , b и v зависят от самой сорбционной системы и определяются путем измерения SP для широкого спектра различных растворенных веществ, после чего к полученным данным применяется метод линейной регрессии. Таким образом, исследования в рамках модели LSER могут позволить сравнить различные неподвижные фазы с химической точки зрения и изучить межмолекулярные процессы.

4.1. Изучение системы субкритическая вода – пористый графитированный углерод

Для получения сольватационных параметров системы, содержащей в качестве сорбента пористый графитированный углерод (Hypercarb), мы провели ряд экспериментов по установлению времен удерживания различных веществ. Вещества были выбраны в соответствии с рекомендациями, приведенными в литературе [123], а их дескрипторы были взяты из электронной базы данных [124] и приведены в таблице 16.

Времена удерживания определяли, используя в качестве подвижной фазы субкритическую воду при температурах 150 °С, 175 °С и 200 °С. Инжектировали растворы индивидуальных веществ, регистрировали хроматограммы на определенной длине волны (табл. 16). Длина волны была выбрана на основании ранее проведенных в нашей группе измерений оптических спектров поглощения аналитов.

В качестве основного параметра, характеризующего удерживание, использовали логарифм фактора удерживания $\log k$; при этом k рассчитывали по формуле:

$$k = \frac{t_R - t_m}{t_m - t_{excol}}$$

Таблица 16. Значения дескрипторов «модельных» веществ

| Вещество | λ , нм | E | S | A | B | V |
|--------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 2-Нитроанилин | 287 | 1,180 | 1,370 | 0,300 | 0,360 | 0,990 |
| 2-Нитрофенол | 275 | 1,015 | 1,050 | 0,050 | 0,370 | 0,949 |
| 2-Хлорфенол | 275 | 0,853 | 0,880 | 0,320 | 0,310 | 0,898 |
| 2,4-Бензофуран | 320 | 0,888 | 0,830 | 0 | 0,150 | 0,905 |
| 3-Бромфенол | 275 | 1,060 | 1,130 | 0,700 | 0,160 | 0,950 |
| 4-Метилфенол | 275 | 0,820 | 0,870 | 0,570 | 0,310 | 0,916 |
| 4-Нитроанилин | 359 | 1,220 | 1,920 | 0,460 | 0,350 | 0,990 |
| 4-Хлоранилин | 275 | 1,060 | 1,130 | 0,300 | 0,310 | 0,939 |
| 4-Хлорфенол | 275 | 0,915 | 0,080 | 0,670 | 0,200 | 0,898 |
| Анизол | 275 | 0,708 | 0,750 | 0 | 0,290 | 0,916 |
| Анилин | 275 | 0,955 | 0,960 | 0,260 | 0,410 | 0,816 |
| Ацетанилид | 275 | 0,900 | 1,370 | 0,400 | 0,670 | 1,114 |
| Ацетофенон | 275 | 0,818 | 0,010 | 0 | 0,480 | 1,014 |
| Бензамид | 275 | 0,990 | 1,500 | 0,490 | 0,670 | 0,973 |
| Бензимидазол | 247 | 1,270 | 1,400 | 0,380 | 0,760 | 0,905 |
| Бензотиазол | 275 | 1,330 | 1,100 | 0 | 0,400 | 0,969 |
| Индол | 260 | 1,200 | 1,120 | 0,440 | 0,220 | 0,946 |
| Коричный спирт | 252 | 1,081 | 0,987 | 0,481 | 0,594 | 1,155 |
| <i>o</i> -Толуидин | 275 | 0,966 | 0,920 | 0,230 | 0,450 | 0,957 |
| Фенол | 275 | 0,805 | 0,890 | 0,600 | 0,300 | 0,775 |
| Этилбензол | 215 | 0,613 | 0,510 | 0 | 0,150 | 0,998 |

Для расчета величин $\log k$ определяли мертвое и внеколоночное время, используя раствор NaNO_3 концентрации 26 мг/мл. Рассчитанные значения $\log k$ при различных температурах приведены в таблицах 17 – 19.

$$t_m = 0,921 \pm 0,004 \text{ мин.}$$

$$t_{excol} = 0,591 \pm 0,001 \text{ мин.}$$

Далее методом множественной линейной регрессии рассчитаны сольватационные параметры системы пористый графитированный углерод-субкритическая вода (при температурах 150 °С, 175 °С и 200 °С) по уравнению:

$$\log k = c + eE + sS + aA + bB + vV,$$

где E , S , A , B и V – дескрипторы вещества, e , s , a , b и v – параметры системы, а i – номер вещества.

Рассчитанные параметры приведены в таблице 20.

Таблица 17. Значения $\log k$ для аналитов при температуре субкритической воды 150 °С (n = 3, P = 0,95)

| Вещество | t_R , мин* | k | $\log k$ |
|---------------|--------------|-------|----------|
| 2-Нитроанилин | 12,48±0,04 | 35,10 | 1,55 |
| 2-Нитрофенол | 13,77±0,04 | 39,00 | 1,59 |
| 2-Хлорфенол | 4,90±0,02 | 12,06 | 1,08 |
| 3-Бромфенол | 6,25±0,02 | 16,17 | 1,21 |
| 4-Метилфенол | 4,13±0,02 | 9,75 | 0,99 |
| 4-Нитроанилин | 12,60±0,2 | 35,45 | 1,55 |
| 4-Хлоранилин | 11,24±0,02 | 12,20 | 1,09 |
| 4-Хлорфенол | 5,02±0,02 | 12,44 | 1,09 |
| Анизол | 8,24±0,03 | 8,30 | 0,92 |
| Анилин | 2,02±0,01 | 3,34 | 0,52 |
| Ацетанилид | 6,51±0,03 | 16,98 | 1,23 |
| Ацетофенон | 6,96±0,05 | 18,34 | 1,26 |
| Бензамид | 3,30±0,03 | 7,21 | 0,86 |
| Бензимидазол | 5,00±0,02 | 12,38 | 1,09 |
| Бензотиазол | 19,41±0,07 | 56,13 | 1,75 |
| o-Толуидин | 3,318±0,006 | 7,28 | 0,86 |
| Фенол | 2,084±0,05 | 3,53 | 0,55 |

* Среднее и доверительный интервал рассчитывали для трех параллельных экспериментов

Как видно из таблицы 20, параметры e , s , a , b с ростом температуры изменяются незначительно по сравнению с параметром v . С ростом температуры он снижается, что означает увеличение элюирующей способности воды. Вклад в величину удерживания ($\log k$) вносит слагаемое vV . Таким образом, повышение температуры приводит к снижению величины удерживания.

Для проверки «качества» полученных параметров сравнивали значения предсказанных и экспериментально полученных $\log k$, результаты расчета приведены в таблицах 21 – 23.

После расчета параметров сорбционной системы вычислили $\log k$ для нескольких веществ, не включенных в предыдущий эксперимент. Затем определили $\log k$ экспериментально. Результаты представлены в таблице 24. На основе полученных данных можно утверждать, что рассчитанные параметры системы ее описывают достаточно хорошо.

Таблица 18. Значения $\log k$ для аналитов при температуре субкритической воды 175 °С (n = 3, P = 0,95)

| Вещество | t_R , мин* | k | $\log k$ |
|---------------|--------------|-------|----------|
| 2-Нитроанилин | 6,10±0,01 | 15,68 | 1,2 |
| 2-Нитрофенол | 5,38±0,02 | 13,52 | 1,13 |
| 2-Хлорфенол | 3,02±0,03 | 6,37 | 0,8 |
| 3-Бромфенол | 4,03±0,03 | 9,43 | 0,97 |
| 4-Метилфенол | 2,611±0,003 | 5,12 | 0,71 |
| 4-Нитроанилин | 6,04±0,05 | 15,5 | 1,19 |
| 4-Хлоранилин | 6,79±0,04 | 6,42 | 0,81 |
| 4-Хлорфенол | 3,30±0,01 | 7,22 | 0,86 |
| Анизол | 5,57±0,02 | 4,83 | 0,68 |
| Анилин | 1,694±0,004 | 2,34 | 0,37 |
| Ацетанилид | 3,67±0,04 | 8,34 | 0,92 |
| Ацетофенон | 3,87±0,01 | 8,94 | 0,95 |
| Бензамид | 2,246±0,008 | 4,01 | 0,60 |
| Бензимидазол | 3,29±0,01 | 7,19 | 0,86 |
| Бензотиазол | 11,01±0,02 | 30,58 | 1,49 |
| o-Толуидин | 2,49±0,06 | 4,75 | 0,68 |
| Фенол | 1,73±0,03 | 2,45 | 0,39 |

* Среднее и доверительный интервал рассчитывали для трех параллельных экспериментов

4.2. Интерпретация фактора удерживания фенолов и фталатов и прогнозирование удерживания анилинов

На следующем этапе работы сопоставили экспериментальные данные, описанные в предыдущей главе в ходе изучения десорбции фенолов и фталатов субкритической водой при трех температурах, и рассчитанные для этих веществ $\log k$. Результаты расчета $\log k$ для фенолов и фталатов представлены в таблице 25. В базе дескрипторов доступны данные не всех фталатов, используемых в работе, расчеты проведены для имеющихся в базе. При $\log k < 1$, эффективность десорбции субкритической водой сопоставима с эффективностью десорбции ацетонитрилом. При $1 < \log k < 1,2$ ацетонитрил немного превосходит субкритическую воду, а при $\log k > 1,2$ использование субкритической воды для десорбции нецелесообразно.

Таблица 19. Значения $\log k$ для аналитов при температуре субкритической воды 200 °С (n = 3, P = 0,95)

| Вещество | t_R , мин* | k | $\log k$ |
|---------------|--------------|-------|----------|
| 2-Нитроанилин | 3,91±0,02 | 9,06 | 0,96 |
| 2-Нитрофенол | 4,11±0,03 | 9,66 | 0,99 |
| 2-Хлорфенол | 2,277±0,003 | 4,11 | 0,61 |
| 3-Бромфенол | 2,833±0,007 | 5,79 | 0,76 |
| 4-Метилфенол | 2,077±0,009 | 3,5 | 0,54 |
| 4-Нитроанилин | 3,65±0,02 | 8,26 | 0,92 |
| 4-Хлоранилин | 5,58±0,05 | 4,84 | 0,69 |
| 4-Хлорфенол | 2,44±0,01 | 4,59 | 0,66 |
| Анизол | 4,07±0,03 | 2,88 | 0,46 |
| Анилин | 1,578±0,007 | 1,99 | 0,30 |
| Ацетанилид | 2,57±0,03 | 5,01 | 0,70 |
| Ацетофенон | 2,66±0,01 | 5,26 | 0,72 |
| Бензамид | 1,862±0,003 | 2,85 | 0,46 |
| Бензимидазол | 2,49±0,04 | 4,75 | 0,68 |
| Бензотиазол | 6,28±0,02 | 16,24 | 1,21 |
| o-Толуидин | 2,013±0,002 | 3,31 | 0,52 |
| Фенол | 1,58±0,01 | 1,98 | 0,30 |

* Среднее и доверительный интервал рассчитывали для трех параллельных экспериментов

Таблица 20. Рассчитанные сольватационные параметры системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150 °С, 175 °С, 200 °С

| Сорбционная система | Параметры сорбционной системы | | | | |
|--|-------------------------------|---------|----------|----------|---------|
| | e | s | a | b | v |
| Нуресcarb – субкритическая вода 150 °С | 1,0±0,4 | 0,1±0,3 | -0,4±0,2 | -1,0±0,3 | 2,8±0,8 |
| Нуресcarb – субкритическая вода 175 °С | 1,1±0,3 | 0±0,2 | -0,3±0,2 | -0,9±0,2 | 2,4±0,6 |
| Нуресcarb – субкритическая вода 200 °С | 0,9±0,3 | -0±0,2 | -0,3±0,2 | -0,7±0,2 | 1,8±0,5 |

Таблица 21. Экспериментальные и рассчитанные значения $\log k$ системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150 °С

| Вещество | Предсказанный $\log k$ | Экспериментальный $\log k$ |
|---------------|------------------------|----------------------------|
| 2-Нитроанилин | 1,525 | 1,545±0,001 |
| 2-Нитрофенол | 1,313 | 1,590±0,007 |
| 2-Хлорфенол | 0,938 | 1,081±0,002 |
| 3-Бромфенол | 1,296 | 1,208±0,002 |
| 4-Метилфенол | 0,851 | 0,988±0,003 |
| 4-Нитроанилин | 1,561 | 1,549±0,007 |
| 4-Хлоранилин | 1,289 | 1,090±0,002 |
| 4-Хлорфенол | 0,977 | 1,094±0,002 |
| Анизол | 0,990 | 0,920±0,003 |
| Анилин | 0,749 | 0,523±0,005 |
| Ацетанилид | 1,254 | 1,229±0,002 |
| Ацетофенон | 1,212 | 1,263±0,004 |
| Бензамид | 0,925 | 0,857±0,005 |
| Бензимидазол | 0,960 | 1,092±0,002 |
| Бензотиазол | 1,672 | 1,748±0,002 |
| о-Толуидин | 1,121 | 0,861±0,001 |
| Фенол | 0,444 | 0,547±0,002 |

В рамках прогнозирования рассчитаны $\log k$ для ряда замещенных анилинов при температурах 150 °С, 175 °С, 200 °С. Дескрипторы веществ представлены в таблице 26, $\log k$ – в таблице 27. Из представленных данных следует, что при температуре субкритической воды 150 °С и 175 °С десорбция большинства анилинов будет неколичественной ($\log k > 1,2$) по сравнению с десорбцией ацетонитрилом, а при 200 °С возможна эффективная десорбция всех анилинов, кроме 2-этиланилина ($\log k < 1$).

4.3. Выводы к главе 4

Показана возможность использования модели Абрахама для расчета времен удерживания веществ в системе «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150, 175 и 200°С. Рассчитаны параметры системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150, 175 и 200°С. Показано, что поведение 2,3-бензофурана, индола, коричневого спирта и этилбензола, не использованных при расчете этих параметров, удовлетворительно

Таблица 22. Экспериментальные и рассчитанные $\log k$ системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 175 °С

| Вещество | Предсказанный $\log k$ | Экспериментальный $\log k$ |
|---------------|------------------------|----------------------------|
| 2-Нитроанилин | 1,233 | 1,195±0,001 |
| 2-Нитрофенол | 1,043 | 1,131±0,002 |
| 2-Хлорфенол | 0,720 | 0,804±0,005 |
| 3-Бромфенол | 1,067 | 0,974±0,001 |
| 4-Метилфенол | 0,650 | 0,709±0,002 |
| 4-Нитроанилин | 1,209 | 1,190±0,004 |
| 4-Хлоранилин | 1,036 | 0,810±0,005 |
| 4-Хлорфенол | 0,763 | 0,804±0,001 |
| Анизол | 0,734 | 0,681±0,003 |
| Анилин | 0,563 | 0,370±0,001 |
| Ацетанилид | 0,924 | 0,921±0,003 |
| Ацетофенон | 0,908 | 0,951±0,001 |
| Бензамид | 0,649 | 0,604±0,002 |
| Бензимидазол | 0,749 | 0,857±0,001 |
| Бензотиазол | 1,415 | 1,485±0,001 |
| о-Толуидин | 0,89 | 0,677±0,01 |
| Фенол | 0,296 | 0,390±0,001 |

Таблица 23. Экспериментальные и рассчитанные $\log k$ системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 200 °С

| Вещество | Предсказанный $\log k$ | Экспериментальный $\log k$ |
|---------------|------------------------|----------------------------|
| 2-Нитроанилин | 0,983 | 0,958±0,003 |
| 2-Нитрофенол | 0,845 | 0,985±0,002 |
| 2-Хлорфенол | 0,568 | 0,614±0,001 |
| 3-Бромфенол | 0,829 | 0,763±0,001 |
| 4-Метилфенол | 0,492 | 0,544±0,003 |
| 4-Нитроанилин | 0,950 | 0,917±0,001 |
| 4-Хлоранилин | 0,828 | 0,692±0,002 |
| 4-Хлорфенол | 0,583 | 0,662±0,001 |
| Анизол | 0,589 | 0,459±0,003 |
| Анилин | 0,458 | 0,299±0,003 |
| Ацетанилид | 0,693 | 0,699±0,006 |
| Ацетофенон | 0,718 | 0,721±0,002 |
| Бензамид | 0,487 | 0,455±0,001 |
| Бензимидазол | 0,598 | 0,677±0,009 |
| Бензотиазол | 1,162 | 1,211±0,001 |
| о-Толуидин | 0,705 | 0,520±0,001 |
| Фенол | 0,220 | 0,297±0,002 |

Таблица 24. Экспериментальные и рассчитанные $\log k$ системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 175 °С (n = 3, P = 0,95)

| Вещество | Предсказанный $\log k$ | Экспериментальный $\log k$ |
|----------------|------------------------|----------------------------|
| 2,3-Бензофуран | 1,27 | 1,0±0,2 |
| Индол | 1,19 | 1,2±0,4 |
| Коричный спирт | 1,42 | 1,3±0,2 |
| Этилбензол | 0,91 | 1,0±0,1 |

Таблица 25. Рассчитанные $\log k$ для удерживания фенолов и фталатов в системе «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150 °С, 175 °С, 200 °С

| Вещество | $\log k$ | | |
|--------------------------|----------|--------|--------|
| | 150 °С | 175 °С | 200 °С |
| Фенол | 0,444 | 0,296 | 0,220 |
| 4-Нитрофенол | 1,219 | 0,922 | 0,697 |
| 2-Хлорфенол | 0,938 | 0,72 | 0,568 |
| 2,4-Динитрофенол | -0,959 | -0,929 | -0,646 |
| 2-Нитрофенол | 1,313 | 1,043 | 0,845 |
| 2,4-Диметилфенол | 1,192 | 0,952 | 0,722 |
| 4-Хлор-4-метилфенол | 1,349 | 1,090 | 0,831 |
| 2,4-Дихлорфенол | 1,419 | 1,183 | 0,921 |
| 2-Метил-4,6-динитрофенол | 2,284 | 1,841 | 1,453 |
| Диметилфталат | 1,988 | 1,513 | 1,146 |
| Диэтилфталат | 2,693 | 2,105 | 1,586 |
| Монобутилфталат | 4,217 | 3,379 | 2,540 |
| Фталевая кислота | 0,698 | 0,432 | 0,277 |

Таблица 26. Дескрипторы анилинов.

| Вещество | E | S | A | B | V |
|-------------------|-------|------|------|------|--------|
| 2,3-Диметиланилин | 1,01 | 0,96 | 0,2 | 0,49 | 1,098 |
| 2,4-Диметиланилин | 0,95 | 0,95 | 0,5 | 0,5 | 1,098 |
| 2,4-Дихлоранилин | 1,14 | 1,15 | 0,3 | 0,22 | 1,061 |
| 2-Метиланилин | 0,966 | 0,92 | 0,23 | 0,45 | 0,9571 |
| 2-Нитроанилин | 1,188 | 1,37 | 0,3 | 0,36 | 0,9904 |
| 2-Этиланилин | 0,962 | 0,85 | 0,23 | 0,45 | 1,098 |
| 2-Нитроанилин | 1,22 | 1,92 | 0,46 | 0,35 | 0,9904 |
| 4-Фторанилин | 0,76 | 1,09 | 0,2 | 0,4 | 0,8339 |
| 4-Этиланилин | 0,942 | 0,91 | 0,23 | 0,45 | 1,098 |
| Анилин | 0,955 | 0,96 | 0,26 | 0,41 | 0,8162 |

Таблица 27. Рассчитанные $\log k$ для удерживания анилинов в системе «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150 °С, 175 °С, 200 °С

| Вещество | $\log k$ | | |
|-------------------|----------|--------|--------|
| | 150 °С | 175 °С | 200 °С |
| 2,3-Диметиланилин | 1,534 | 0,563 | 0,458 |
| 2,4-Диметиланилин | 1,465 | 1,223 | 0,959 |
| 2,4-Дихлоранилин | 1,795 | 0,888 | 0,705 |
| 2-Метиланилин | 1,121 | 1,241 | 0,991 |
| 2-Нитроанилин | 1,533 | 1,244 | 0,979 |
| 2-Этиланилин | 1,502 | 1,491 | 1,185 |
| 2-Нитроанилин | 1,561 | 1,172 | 0,917 |
| 4-Фторанилин | 0,656 | 1,199 | 0,938 |
| 4-Этиланилин | 1,489 | 0,419 | 0,330 |
| Анилин | 0,749 | 1,209 | 0,950 |

описывается в рамках указанной модели. Предсказано поведение ряда анилинов при десорбции субкритической водой.

Глава 5. Разработка способов проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов и фталатов с использованием субкритической воды

В главе 3 были выбраны условия ВЭЖХ разделения фенолов и фталатов, их сорбции на сорбенте Нуресcarb, десорбции с этого сорбента субкритической водой. В настоящей главе изложены результаты разработки способов проточного сорбционно-ВЭЖХ определения гидрофобных органических веществ (фенолов и фталатов), включающего сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, а также разделение и определение методом ВЭЖХ.

5.1. Разработка способа проточного определения фенолов, включающего сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, фокусирование и ВЭЖХ разделение

При проточном сорбционно-ВЭЖХ определении веществ концентрат, полученный после десорбции, можно подавать в ВЭЖХ колонку двумя способами. Так, можно подавать весь концентрат с переменным профилем концентрации в ВЭЖХ колонку, или подавать его в дозирующую петлю, а затем из петли в ту же колонку. Вторым вариантом в англоязычной литературе носит название heart-cutting [98, 99]. Одним из достоинств этого приема является то, что можно «отрезать» часть раствора после десорбции (например, передний или задний фронт концентрата), что позволяет уменьшить вводимый в ВЭЖХ колонку объем раствора и «отрезать» часть сопутствующих компонентов, десорбирующихся до или после аналитов. Другим достоинством является снижение общего противодавления в системе при проведении стадии десорбции, так как отсутствует непосредственное последовательное гидравлическое соединение колонки для концентрирования и колонки для разделения. Существенный недостаток этого приема заключается в том, что в колонку для разделения попадает только часть концентрата, что снижает воспроизводимость и чувствительность анализа. Этот недостаток возможно преодолеть, используя петлю достаточно большого объема.

5.1.1. Проточное сорбционно-ВЭЖХ определение фенолов с использованием дозирующей петли

Как уже обсуждалось выше, десорбцию фенолов субкритической водой в дозирующую петлю использовали, в первую очередь, для снижения противодавления в системе. По данным, полученным в разделе 3.2.5., объем концентрата после десорбции субкритической водой не превышал 3 мл. Нами была выбрана петля объемом 3,8 мл (длина 5 м, внутренний диаметр 1 мм).

Схема установки, позволяющей проводить десорбцию в петлю, представлена на рис. 40.

Последовательность операций, позволяющая проводить сорбцию, десорбцию в петлю, подачу концентрата в ВЭЖХ колонку и фокусирование, ВЭЖХ разделение и определение, приведена в табл. 28.

Таблица 28. Последовательность операций при проведении комбинированной процедуры анализа.

| Время, мин | Описание стадии | Температура печи, °С | Скорость, мл/мин, прокачивания растворов | |
|---------------|-----------------------------------|---|--|---------|
| | | | Насос 1 | Насос 2 |
| 0 – 10 | Кондиционирование | комнатная | 1 | 0 |
| 10 – 20 | Сорбция | комнатная | 1 | 0 |
| 20 – 30 | Прогрев печи | разогрев от комнатной до рабочей* | 0 | 0 |
| 30 – 36 | Десорбция субкритической водой | рабочая | 0,5 | 0 |
| 36 – 55 | Хроматографическое разделение | охлаждение печи до комнатной | 0 | 1 |

* - температура десорбции

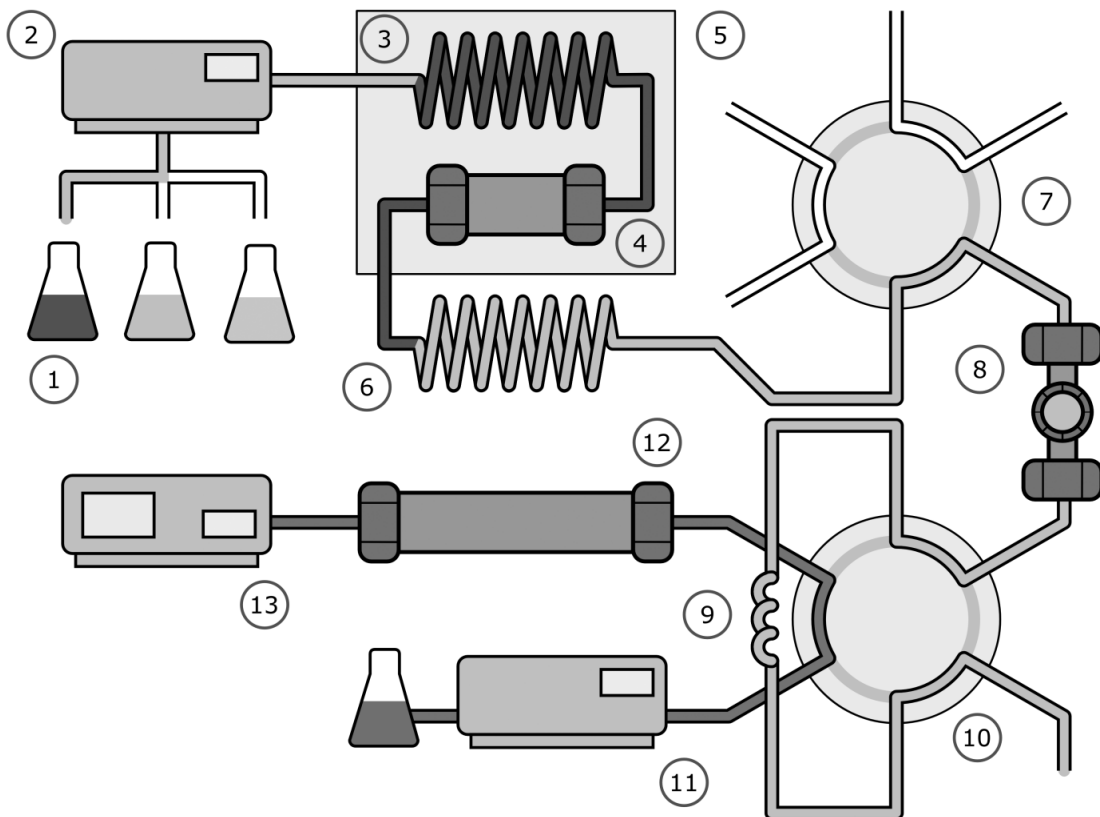


Рис. 40. Схема установки для сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов с использованием дозирующей петли.

Комбинированная процедура анализа включает в себя сорбцию фенолов, десорбцию субкритической водой в дозирующую петлю, фокусирование и ВЭЖХ разделение. Краны 7 и 10 находятся в положении десорбции и ввода концентрата в дозирующую петлю.

1 – образец, десорбирующий и промывочный растворы, 2 – насос 1, 3 – капилляр для предварительного нагрева, 4 – колонка для концентрирования, 5 – термостат, 6 – капилляр для охлаждения, 7 – инжектор 1, 8 – ограничитель давления, 9 – дозирующая петля, 10 – инжектор 2, 11 – насос 2, 12 – колонка для разделения, 13 – детектор.

Положение максимумов на зависимостях десорбции от объема пропущенного десорбирующего раствора, полученных в разделе 3.2.5., отличается для разных фенолов, т.е. на стадии десорбции происходит их частичное разделение. В связи с этим, необходимо выбрать оптимальную процедуру сочетания десорбции, вырезания зоны концентрата в петле и последующего ВЭЖХ разделения. Для этого провели серию экспериментов, включающих следующие стадии:

1. На стадии сорбции пропускали через колонку для концентрирования 10 мл раствора фенолов (0,4 мг/л) в деионизованной воде с добавлением 0,1 об. % H_3PO_4 со скоростью 1 мл/мин.
2. На стадии десорбции включали нагрев печи, проводили предварительный прогрев печи в течение 10 мин, после чего включали поток воды через колонку для концентрирования, пропускали 2 – 5 мл воды при скорости потока 0,5 мл/мин, раствор после десорбции охлаждали и подавали в петлю-дозатор.
3. Подавали концентрат (водный раствор фенолов) содержащийся в петле, в ВЭЖХ колонку, при этом происходило фокусирование аналитов в виде узкой зоны в начале ВЭЖХ колонки.
4. Проводили ВЭЖХ разделение аналитов смесью «ацетонитрил:вода» при комнатной температуре. Условия разделения указаны в главе 3.
5. После каждого цикла эксперимента колонку для концентрирования промывали 5 мл смеси изопропанол:ацетонитрил (75:25% об./об.) и 5 мл ацетонитрила со скоростью 0,5 мл/мин.

Строили зависимость степени извлечения фенолов от объема пропущенной субкритической воды на стадии десорбции. Отметим, что в ВЭЖХ колонку в каждом случае поступал один и тот же объем концентрата – за счет неизменности объема петли-дозатора. Полученные зависимости приведены на рис. 41 – 47.

Установлено, что для большинства аналитов оптимальный объем десорбирующего раствора, пропускаемый через петлю, составляет 3 мл.

Типичные хроматограммы, полученная при проведении десорбции в петлю, представлены на рис. 48. При десорбции субкритической водой происходит

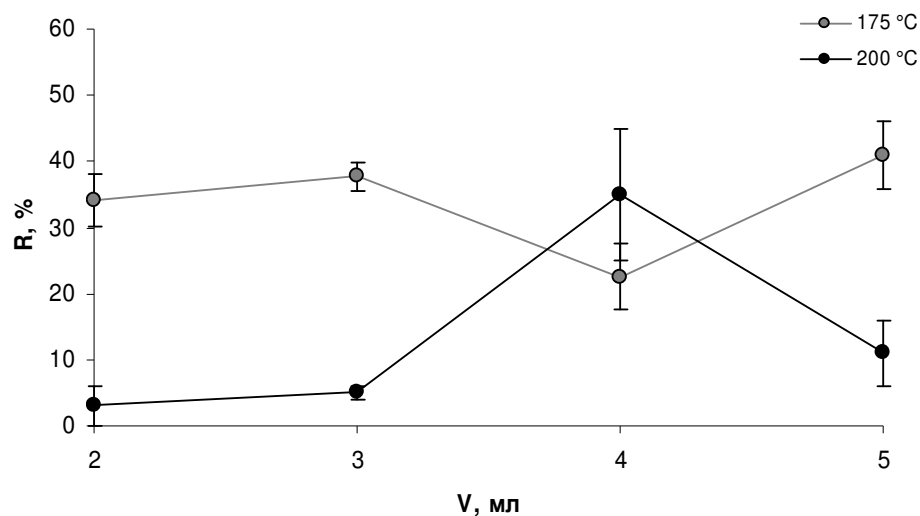


Рис. 41. Зависимость степени извлечения фенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

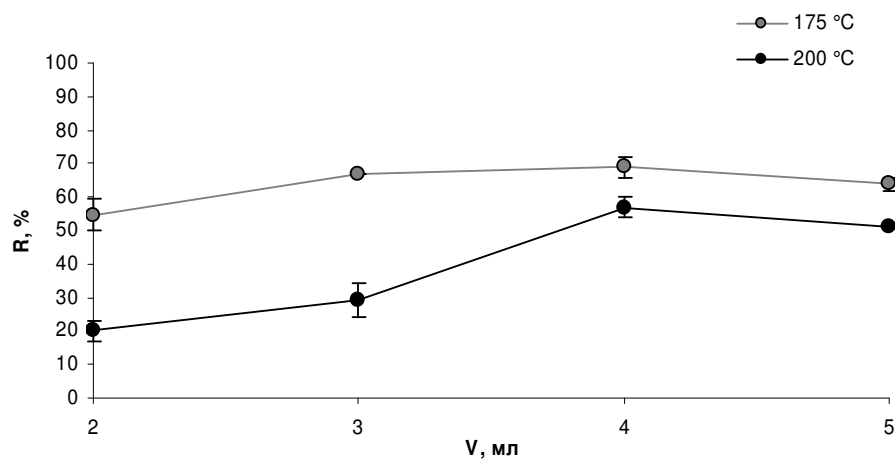


Рис. 42. Зависимость степени извлечения 4-нитрофенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

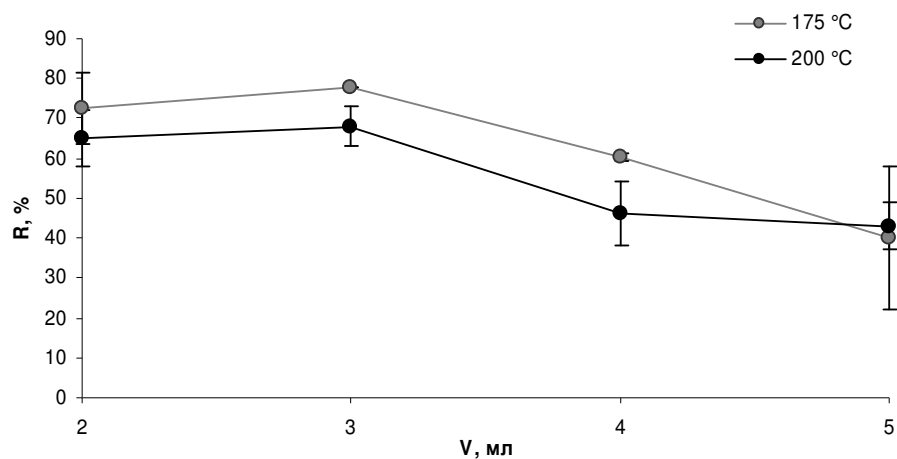


Рис. 43. Зависимость степени извлечения 2-хлорфенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

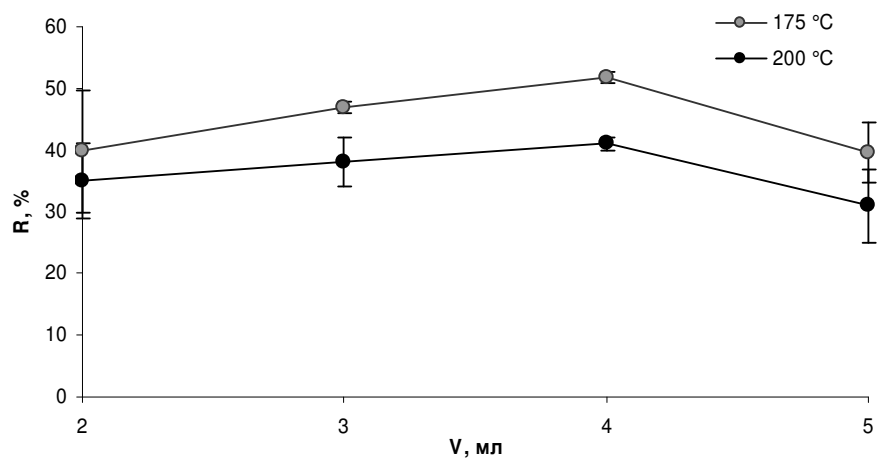


Рис. 44. Зависимость степени извлечения 2,4-дихлорфенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

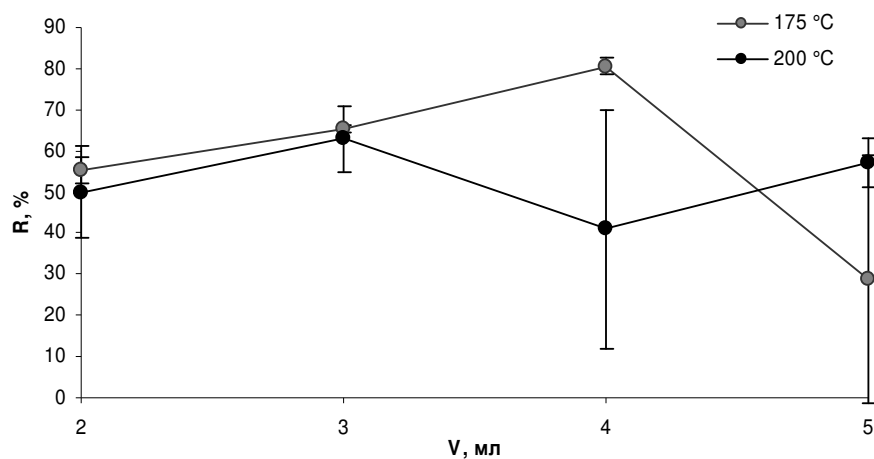


Рис. 45. Зависимость степени извлечения 2,4-диметилфенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

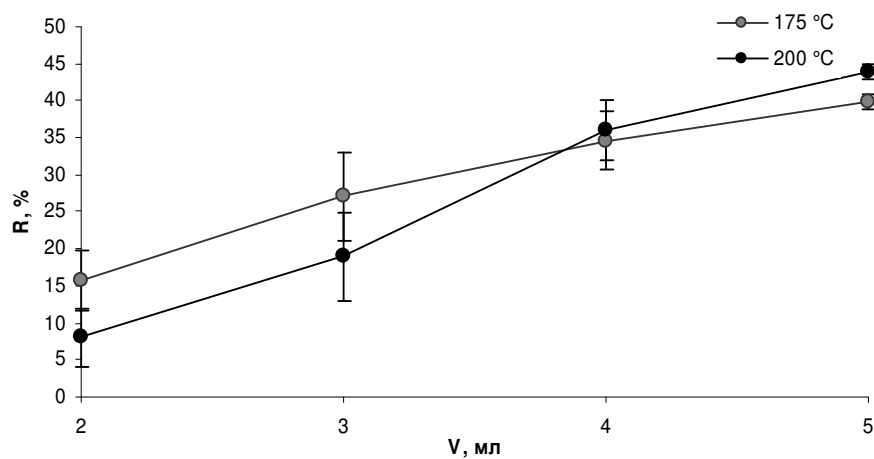


Рис. 46. Зависимость степени извлечения 2-нитрофенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °С и 200 °С) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

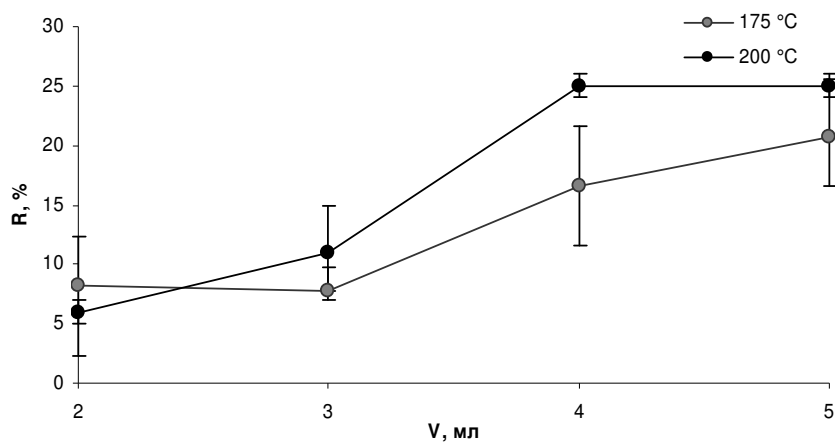


Рис. 47. Зависимость степени извлечения 4-хлор-3-метилфенола от объема десорбирующего раствора. Десорбирующий раствор (субкритическая вода при 175 °C и 200 °C) после десорбции подавали в дозирующую петлю объемом 3,8 мл.

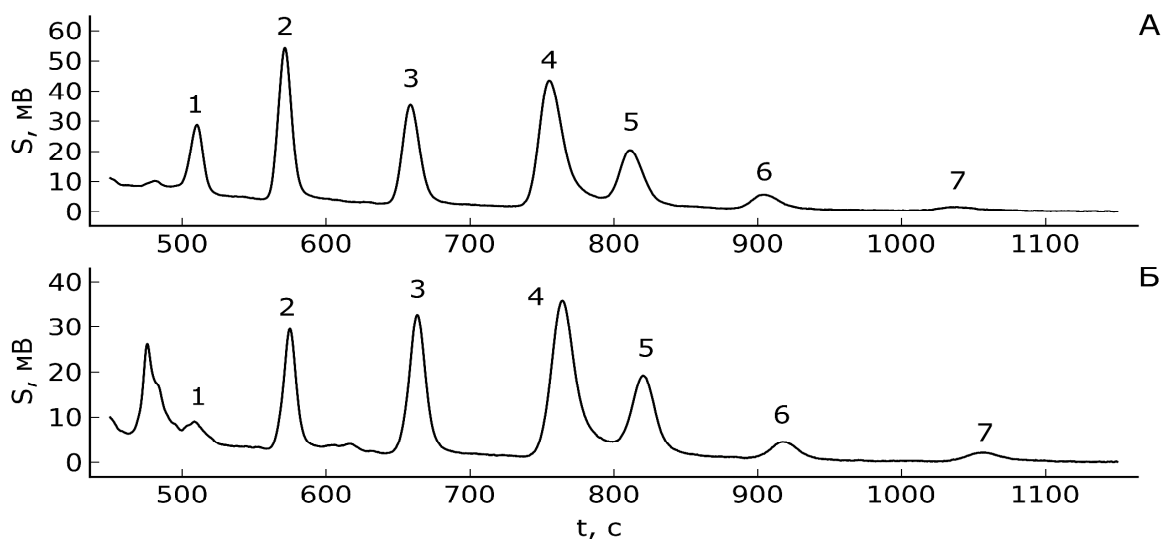


Рис. 48. Хроматограммы, полученные при on-line десорбции фенолов субкритической водой при 175 °C (А) и 200 °C (Б).

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол, 5 – 2,4-дихлорфенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 2-нитрофенол, 8 – 4-хлор-3-метилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол.

Пропускали 3 мл десорбирующего раствора, концентрат подавали в петлю-дозатор. Подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 275 нм.

фокусирование фенолов на начальном участке хроматографической колонки. Следствием этого является небольшая ширина и хорошее разрешение пиков на хроматограмме.

На рис. 49 представлены хроматограммы раствора фенолов, полученные при прямом вводе 20 мкл раствора фенолов с концентрацией 5 мг/л и процедуры с концентрированием из 10 мл раствора фенолов с концентрацией 10 мкг/л. Таким образом, общая масса каждого фенола в обоих случаях составила 0,1 мкг. Для прямого ввода (хроматограмма А) разрешение (R_s) составило 2,9 для пиков 2 и 3. При сорбционно-ВЭЖХ определении R_s тех же веществ составило 4,8. Число теоретических тарелок варьируется от 1300 для 2-хлорфенола до 3100 для 2-метил-4,6-динитрофенола (хроматограмма А), и от 8000 для 2,4-дихлорфенола до 19000 для 4-хлор-3-метилфенола (хроматограмма Б). Коэффициенты асимметрии составили от 0,7 до 1,0 (А) и от 0,9 до 3,1 (Б).

Видно, что при проведении процедуры с концентрированием ширины пиков уже. Однако, площади пиков тоже различаются. Для более корректного сравнения ширин пиков провели сравнение ширин пиков фенолов равной площади, результаты представлены в табл. 29.

Таблица 29. Ширины пиков при прямом вводе и проточном сорбционно-ВЭЖХ разделении. ($n = 3$)

| Определяемое вещество | $w_{1/2}$ при прямом определении, с | $w_{1/2}$ при сорбционно-ВЭЖХ определении, с |
|-----------------------|-------------------------------------|--|
| Фенол | 15 | 10 |
| 4-Нитрофенол | 18 | 10 |
| 2-Хлорфенол | 21 | 11 |
| 2,4-Дихлорфенол | 23 | 16 |
| 2,4-Диметилфенол | 26 | 16 |
| 2-Нитрофенол | 27 | 16 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | 30 | 20 |

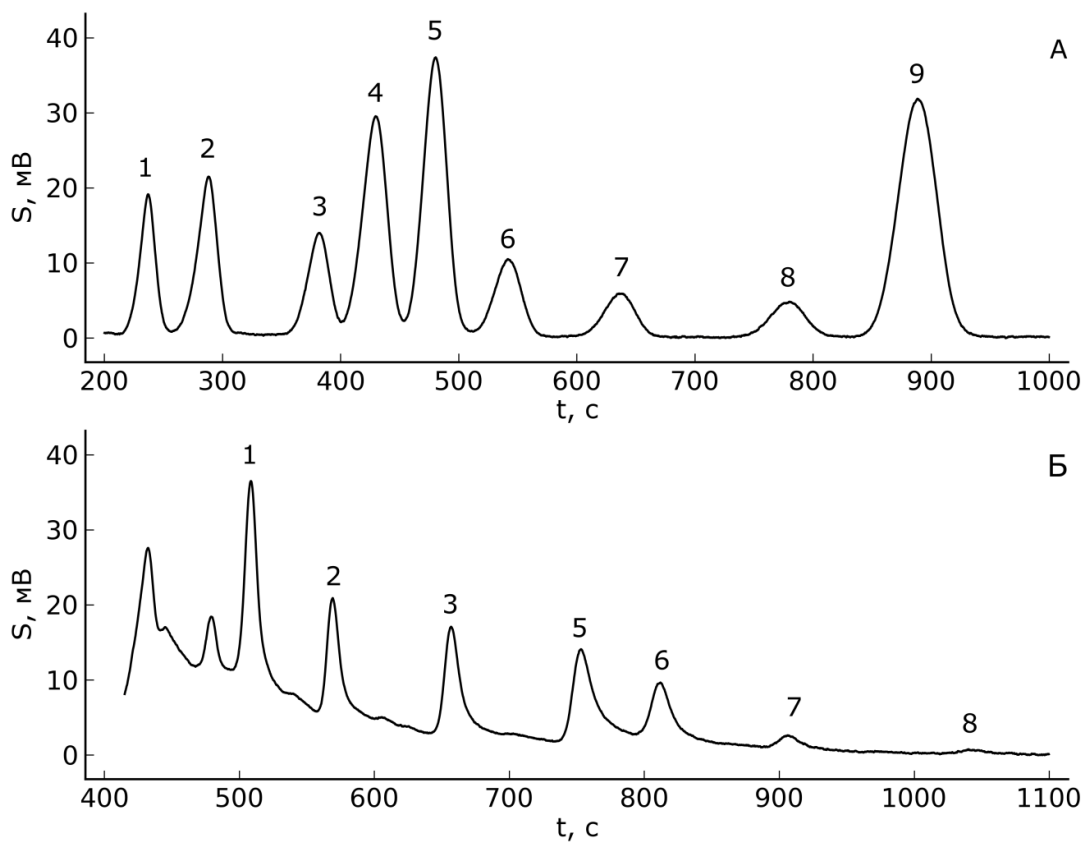


Рис. 49. Хроматограммы, полученные при прямом вводе 20 мкл раствора фенолов с концентрацией 5 мг/л (А) и процедуры с концентрированием из 10 мл раствора фенолов с концентрацией 10 мкг/л (Б). Подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 275 нм.

1 – фенол, 2 – 4-нитрофенол, 3 – 2-хлорфенол, 4 – 2,4-динитрофенол,
 5 – 2,4-дихлорфенол, 6 – 2,4-диметилфенол, 7 – 2-нитрофенол,
 8 – 4-хлор-3-метилфенол, 9 – 2-метил-4,6-динитрофенол.

Таким образом, в настоящем разделе выбраны условия on-line десорбции аналитов в петлю-дозатор, а также проведено сравнение ширин пиков при прямом ВЭЖХ определении фенолов и проточном сорбционно-ВЭЖХ определении с использованием субкритической воды.

Оценка метрологических характеристик определения фенолов.

Зависимость аналитического сигнала строили в координатах площадь хроматографического пика в мВ*с – концентрация фенолов в градуировочных растворах (2,5 – 15 мкг/л). Рассчитывали параметры линейной градуировочной зависимости (см. табл. 30), пределы обнаружения (табл. 30) и зависимость воспроизводимости от концентрации аналитов (табл. 31). По-видимому, температура 175 °С недостаточна для количественного и воспроизводимого извлечения 4-хлор-3-метилфенола. Градуировка по этому фенолу оказалась неудовлетворительной, в последующей работе его не рассматривали.

Таблица 30. Параметры градуировочных зависимостей при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов ($n = 3$, $P = 0,95$)

| Определяемое вещество | A, мВ*с*л/г | R ² | c _{min} , мкг/л, прямой ввод | c _{min} , мкг/л, для сорбционно-ВЭЖХ определения | Снижение c _{min} за счет концентрирования |
|-----------------------|-------------|----------------|---------------------------------------|---|--|
| Фенол | 34 ± 4 | 0,9621 | 60 | 1 | 60 |
| 4-Нитрофенол | 23 ± 2 | 0,9765 | 40 | 0,6 | 70 |
| 2-Хлорфенол | 18 ± 2 | 0,9511 | 70 | 0,9 | 80 |
| 2,4-Дихлорфенол | 28 ± 3 | 0,9327 | 30 | 1 | 30 |
| 2,4-Диметилфенол | 17 ± 3 | 0,8659 | 70 | 2 | 40 |
| 2-Нитрофенол | 7 ± 1 | 0,9434 | 100 | 2 | 50 |

Коэффициент B статистически незначим, использовали уравнение вида $S = Ax$.

Как видно из таблицы 26, благодаря проведению концентрирования пределы обнаружения снизились в 30 – 80 раз и составили 0,6 – 2 мкг/л. Значения пределов

обнаружения сопоставимы с опубликованными ранее в обзоре [103]. Например, при проведении on-line сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов с УФ детектированием пределы обнаружения составили 0,7 – 1 мкг/л [103], но концентрирование проводили из 100 мл. В нашей работе фенолы извлекали из 10 мл, достигнуты сравнимые пределы обнаружения, что дает нам дополнительные возможности для их снижения за счет увеличения объема пропускаемого образца.

Таблица 31. Зависимость воспроизводимости определения от концентрации аналитов при проведении комбинированной процедуры (n = 3)

| Соединение | с, мкг/л | | | | | |
|---------------------|----------|------|------|------|------|------|
| | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 10,0 | 12,5 | 15 |
| Фенол | 0,31 | 0,08 | 0,20 | 0,12 | 0,06 | 0,06 |
| 4-Нитрофенол | 0,35 | 0,03 | 0,21 | 0,13 | 0,07 | 0,03 |
| 2-Хлорфенол | 0,24 | 0,05 | 0,13 | 0,23 | 0,13 | 0,10 |
| 2,4-Дихлорфенол | 0,24 | 0,07 | 0,02 | 0,15 | 0,14 | 0,17 |
| 2,4-Диметилфенол | 0,16 | 0,18 | 0,26 | 0,23 | 0,22 | 0,25 |
| 2-Нитрофенол | -* | 0,03 | 0,18 | 0,15 | 0,04 | 0,04 |
| 4-Хлор-3-метилфенол | -* | -* | 0,74 | 0,38 | 0,25 | 0,09 |

* - не определяли.

Анализ реальных объектов. Для подтверждения правильности определения фенолов анализировали водопроводную и минеральную воду по методу «введено-найдено». Анализ проводили аналогично описанному в п. 5.1.1. Полученные при выполнении анализа хроматограммы представлены на рис. 50 и 51; данные об извлечении добавок в табл. 32. Как видно из данных, макросостав выбранных образцов не мешает определению фенолов.

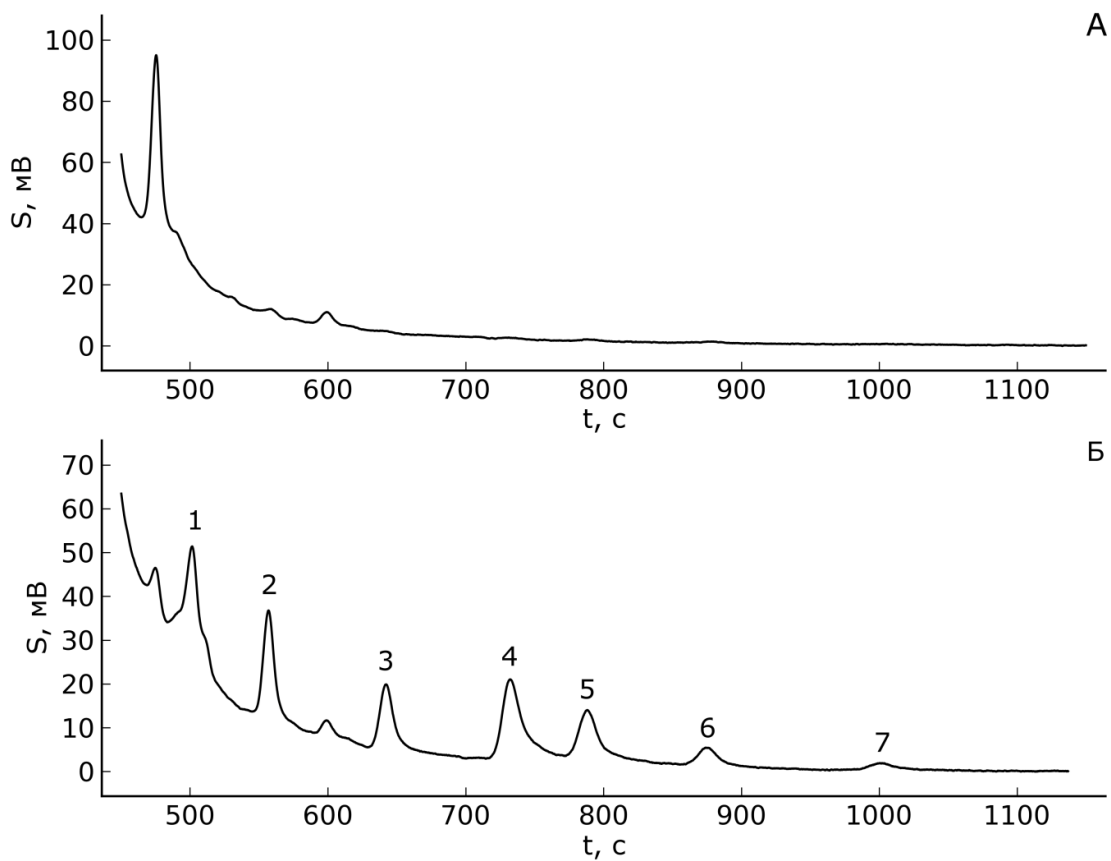


Рис. 50. Хроматограммы, полученные при on-line сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов в водопроводной воде. Температура десорбции 175°С, объем десорбирующего раствора 3 мл. Подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 275 нм.

А – введено 0 мкг/л;

Б – введено 10 мкг/л.

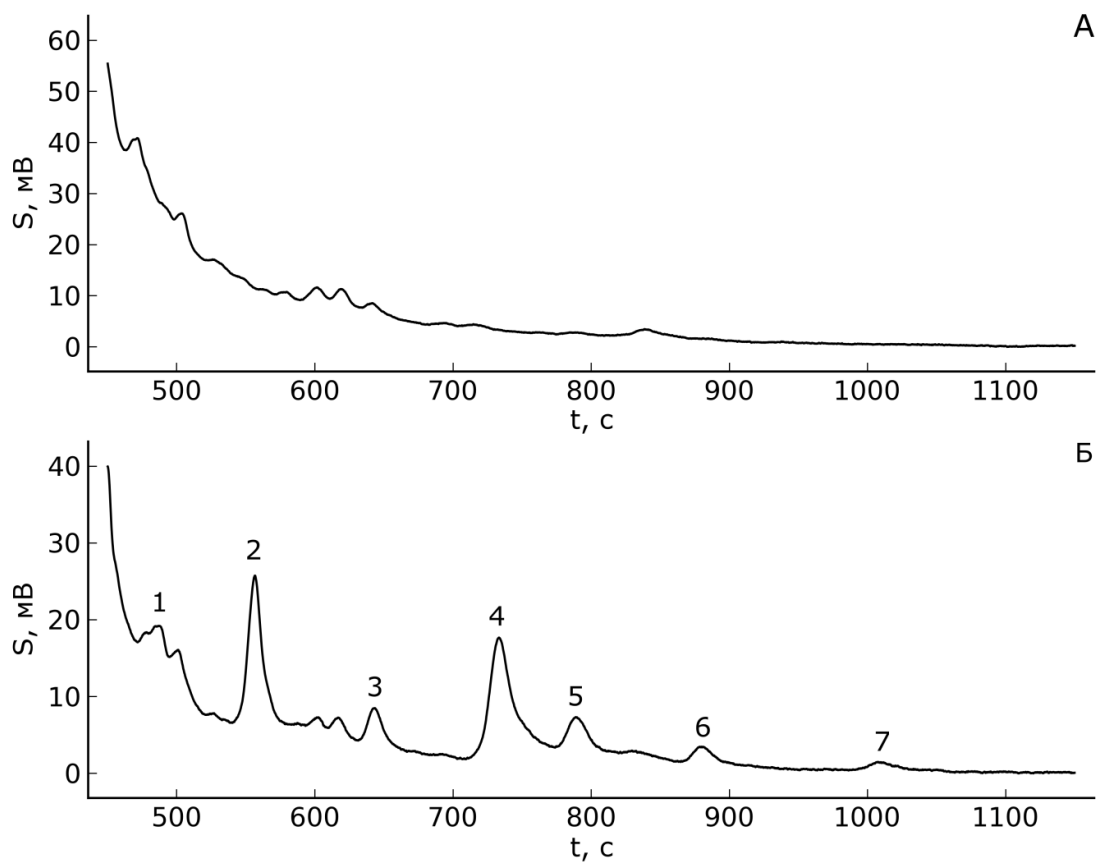


Рис. 51. Хроматограммы, полученные при on-line сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов в минеральной воде, введено 10 мкг/л. Состав минеральной воды приведен в главе 2. Температура десорбции 175°C, объем десорбирующего раствора 3 мл. Подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 275 нм.

А – введено 0 мкг/л;

Б – введено 10 мкг/л.

Таблица 32. Результаты определения фенолов (мкг/л) в водопроводной и минеральной воде (n = 3, P = 0,95).

| Определяемое вещество | Водопроводная вода | | Минеральная вода | |
|-----------------------|--------------------|------------|------------------|------------|
| | Введено 0 | Введено 10 | Введено 0 | Введено 10 |
| Фенол | <1 | 7±3 | <1 | 9±1 |
| 4-Нитрофенол | <0,6 | 10±1 | <0,6 | 11±2 |
| 2-Хлорфенол | <0,9 | 9±1 | <0,9 | 9±2 |
| 2,4-Дихлорфенол | <1 | 9±2 | <1 | 12±2 |
| 2,4-Диметилфенол | <2 | 12±3 | <2 | 10±2 |
| 2-Нитрофенол | <2 | 12±4 | <2 | 11±2 |

5.1.2. Проточное сорбционно-ВЭЖХ определение фенолов с введением всего концентрата в ВЭЖХ колонку

Схема с дозирующей петлей усложняет процедуру и снижает воспроизводимость. Для демонстрации максимальных результатов, достижимых посредством разработанной методики, провели аналогичный эксперимент с подачей концентрата непосредственно в хроматографическую колонку. Схема установки представлена на рис. 52.

1. Сорбция. Пропускали через колонку для концентрирования 10 мл образца с добавлением 0,1 об. % H_3PO_4 со скоростью 1 мл/мин при комнатной температуре. При этом на выходе из колонки раствор подавали в слив.
2. Десорбция. Проводили предварительный нагрев колонки до 175°C в течение 10 минут. После включали поток воды через колонку для концентрирования со скоростью 0,5 мл/мин. Концентрат после десорбции поступал в стальной капилляр для охлаждения, а затем в хроматографическую колонку.
3. ВЭЖХ определение фенолов при длине волны 275 нм.
4. После каждого цикла эксперимента колонку для концентрирования промывали 5 мл смеси изопропанол:ацетонитрил (75:25% об./об.) и 5 мл ацетонитрила со скоростью 0,5 мл/мин.

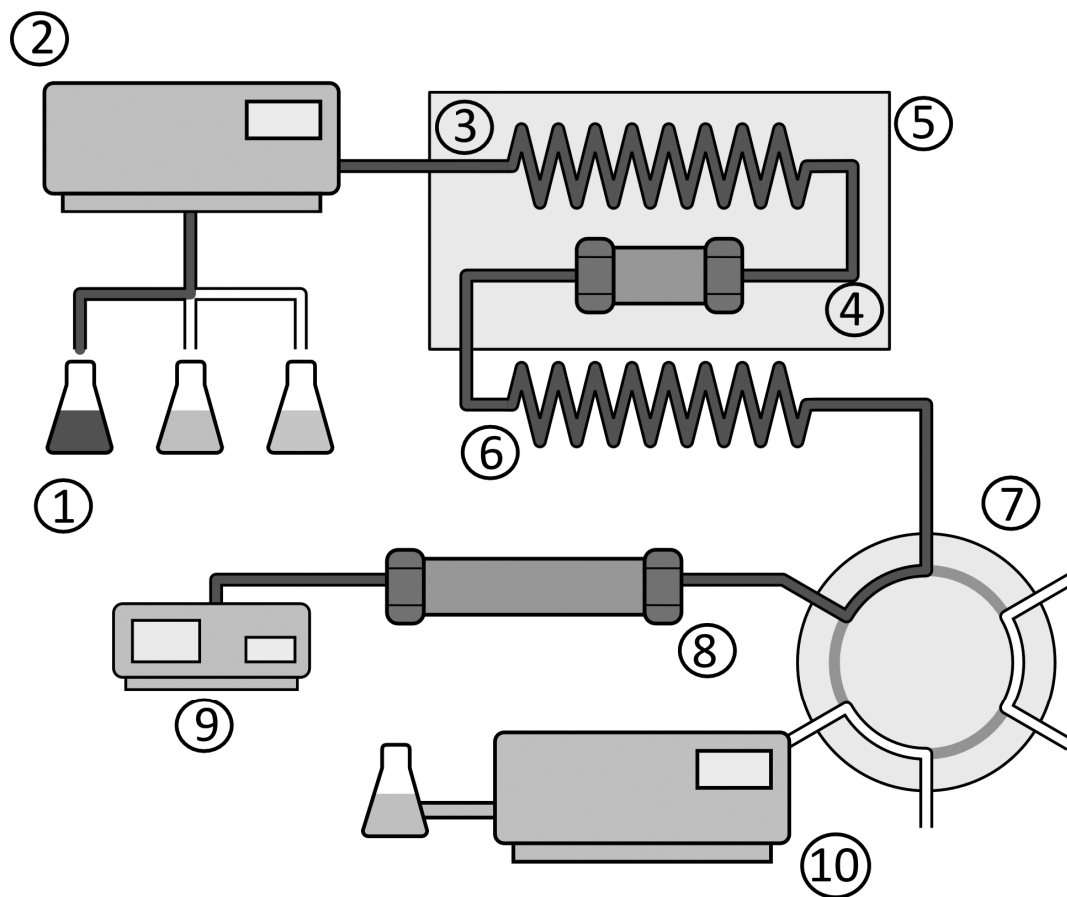


Рис. 52. Схема установки для комбинированной on-line процедуры концентрирования и ВЭЖХ определения аналитов.

Комбинированная процедура анализа, включает сорбцию аналитов, десорбцию субкритической водой в хроматографическую колонку Luna C₁₈, фокусирование и ВЭЖХ разделение. Положение крана соответствует стадии десорбции (вводу пробы в ВЭЖХ колонку).

1 – образец, десорбирующий и промывочный растворы; 2 – насос 1; 3 – стальной капилляр для предварительного нагрева; 4 – колонка для концентрирования; 5 – термостат; 6 – стальной капилляр для охлаждения; 7 – инжектор; 8 – хроматографическая колонка; 9 – детектор; 10 – насос 2.

После каждого цикла эксперимента промывали колонку для концентрирования 5 мл смеси изопропанол-ацетонитрил (75:25% об. /об.) со скоростью потока 0,5 мл/мин и 5 мл чистого ацетонитрила со скоростью потока 0,5 мл/мин.

По полученным хроматограммам рассчитывали параметры градуировочных зависимостей и пределы обнаружения при on-line сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов (табл. 33).

Рассчитывали пределы обнаружения фенолов по дисперсии параметров градуировочной зависимости [110].

В качестве аналитического сигнала использовали площади пиков. Пределы обнаружения фенолов находятся в диапазоне от 1,0 до 1,8 мкг/л (табл.29). Относительное стандартное отклонение результатов сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов находится в интервале 0,02 – 0,13 (табл. 34).

Таблица 33. Параметры градуировочных зависимостей при сорбционно-ВЭЖХ определении и пределы обнаружения фенолов (n = 3)

| Определяемое вещество | A | B | R ² | C min, мкг/л |
|-----------------------|------|-------|----------------|--------------|
| Фенол | 9,3 | -12,4 | 0,97 | 1,6 |
| 4-нитрофенол | 9,7 | 10,3 | 0,91 | 1,5 |
| 2,4-диметилфенол | 33,2 | -20,2 | 0,90 | 1,4 |
| 2-нитрофенол | 10,8 | 4,7 | 0,88 | 1,0 |
| 2,4-дихлорфенол | 12,3 | -18,3 | 0,99 | 1,0 |
| 2-хлорфенол | 7,7 | -4,5 | 0,95 | 1,8 |
| 4-хлор-3-метилфенол | 7,3 | -10,0 | 0,97 | 1,5 |

Таблица 34. Относительные стандартные отклонения результатов сорбционно-ВЭЖХ определения фенолов (n = 3)

| Определяемое вещество | C, мкг/л | | | | |
|-----------------------|----------|------|------|------|------|
| | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 5 |
| Фенол | -* | -* | 0,03 | 0,06 | 0,04 |
| 4-нитрофенол | 0,03 | 0,10 | 0,08 | 0,06 | 0,03 |
| 2,4-диметилфенол | -* | 0,10 | 0,07 | 0,07 | 0,02 |
| 2-нитрофенол | -* | 0,04 | 0,13 | 0,08 | 0,09 |
| 2,4-дихлорфенол | -* | -* | 0,11 | 0,04 | 0,03 |
| 2-хлорфенол | -* | 0,10 | 0,03 | 0,09 | 0,09 |
| 4-хлор-3-метилфенол | -* | -* | 0,02 | 0,04 | 0,04 |

* – ниже предела обнаружения.

Проверка правильности определения фенолов. Проверяли правильность определения добавок фенолов в водопроводную, речную и минеральную воду. Благодаря отсутствию дозирующей петли в системе стало возможным снизить пределы обнаружения аналитов и уменьшить концентрацию «введено». Результаты анализа вод представлены в табл. 35. Как видно из полученных результатов, макросостав раствора не мешает определению фенолов.

Таблица 35. Результаты определения фенолов (мкг/л) в водопроводной, минеральной и речной воде (n = 3, P = 0,95)

| Определяемое вещество | Водопроводная вода | | Минеральная вода | | Речная вода | |
|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Введено 0 мкг/л, найдено, мкг/л | Введено 2 мкг/л, найдено, мкг/л | Введено 0 мкг/л, найдено, мкг/л | Введено 2 мкг/л, найдено, мкг/л | Введено 0 мкг/л, найдено, мкг/л | Введено 2 мкг/л, найдено, мкг/л |
| Фенол | -* | 2,0±0,5 | -* | 2,1±0,3 | -* | 2,1±0,4 |
| 4-нитрофенол | -* | 1,9±0,4 | -* | 2,1±0,2 | -* | 1,9±0,3 |
| 2-хлорфенол | -* | 1,8±0,5 | -* | 2,0±0,4 | -* | 2,2±0,2 |
| 2-нитрофенол | -* | 1,9±0,2 | -* | 2,1±0,2 | -* | 2,3±0,3 |
| 2,4-диметилфенол | -* | 1,9±0,4 | -* | 1,9±0,1 | -* | 2,3±0,3 |
| 4-хлор-3-метилфенол | -* | 2,0±0,4 | -* | 2,0±0,3 | -* | 2,1±0,3 |
| 2,4-дихлорфенол | -* | 2,0±0,2 | -* | 1,9±0,2 | -* | 2,2±0,2 |

* – ниже предела обнаружения

5.2. Возможность проточного сорбционно-ВЭЖХ определения фталатов

В разделе 3.2.6. подтверждена количественная сорбция аналитов на сорбенте Нуресcarb, выбраны условия десорбции субкритической водой и ВЭЖХ разделения фталатов. Следующим этапом работы являлась разработка способа проточного определения некоторых фталатов, устойчивых в среде субкритической воды, включающего сорбцию, десорбцию, хроматофокусирование и разделение аналитов.

Так же, как и при определении фенолов, после сорбции-десорбции можно вырезать зону концентрата с использованием дозирующей петли или подавать весь концентрат в колонку для разделения. Так как при определении фенолов лучшие метрологические характеристики получены во втором варианте, при определении фталатов использовали именно этот вариант. По данным, полученным в разделе

3.2.6., объем концентрата после десорбции субкритической водой равен 5 мл, наиболее эффективная десорбция достигается при использовании в качестве десорбирующего раствора 5% ацетонитрила в воде. Так как при разработке on-line сочетания стоит задача фокусирования аналитов на начальном участке хроматографической колонки, было решено первоначальные эксперименты в on-line режиме проводить без добавки ацетонитрила в десорбирующий раствор.

Схема установки, позволяющей подавать концентрат в хроматографическую колонку, представлена на рис. 52. Последовательность операций, позволяющая проводить сорбцию, десорбцию и подачу концентрата в ВЭЖХ колонку и фокусирование, ВЭЖХ разделение и определение, приведена в табл. 36. Вся on-line процедура аналогична приведенной для фенолов за исключением температуры субкритической воды и длины волны. В эксперименте с фталатами температура составляла 150 °С, $\lambda = 226$ нм. Типичные хроматограммы представлены на рис. 53.

Таблица 36. Последовательность операций при проведении разработанной комбинированной процедуры анализа

| Время, мин | Описание стадии | Температура печи | Скорость прокачивания растворов, мл/мин | |
|---------------|--------------------------------|-----------------------------------|---|---------|
| | | | Насос 1 | Насос 2 |
| 0 – 10 | Кондиционирование | комнатная | 1 | 0 |
| 10 – 20 | Сорбция | комнатная | 1 | 0 |
| 20 – 30 | Прогрев печи | разогрев от комнатной до рабочей* | 0 | 0 |
| 30 – 40 | Десорбция субкритической водой | рабочая | 0,5 | 0 |
| 40 – | Хроматографическое разделение | охлаждение печи до комнатной | 0 | 1 |

* – температура десорбции

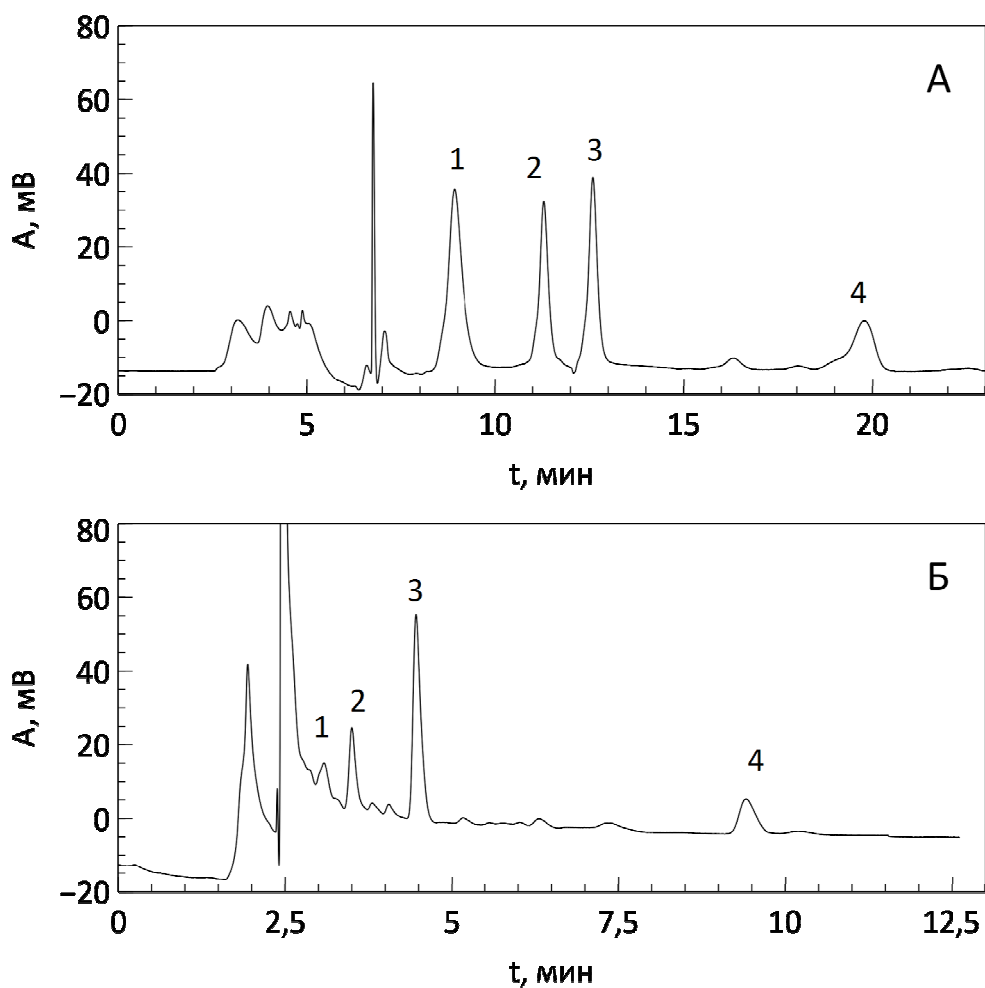


Рис. 53. Хроматограммы, полученные при on-line сорбционно-ВЭЖХ определении смеси фталатов.

1 – фталевая кислота, 2 – монометилфталат, 3 – моноэтилфталат, 4 – монобутилфталат.

Подвижная фаза «ацетонитрил – вода», содержание воды 60 об. %. Размер колонки 150×4,6 мм, сорбент Luna C₁₈, УФ-детектирование при длине волны 226 нм.

А – десорбция хроматографическим элюентом (C = 20 мг/л, комнатная температура).

Б – десорбция субкритической водой (C = 20 мг/л, T = 150°C).

При on-line процедуре проводили определение только четырех аналитов: фталевой кислоты, монометилфталата, моноэтилфталата, монобутилфталата. При десорбции водно-ацетонитрильной смесью разрешение (R_s) составило 2,7 для пиков 2 и 3, а при десорбции субкритической водой аналогичное значение составило 4,2. Число теоретических тарелок варьируется от 2200 для фталевой кислоты до 12000 для моноэтилфталата (А), и от 2800 для фталевой кислоты до 7000 для моноэтилфталата (Б). Коэффициенты асимметрии составили от 0,5 до 1,2 (А) и от 0,9 до 1,9 (Б).

Как видно из приведенных хроматограмм, пики хорошо разрешены. При использовании в качестве десорбирующего агента хроматографического элюента время удерживания определяемых веществ увеличивается за счет удерживания аналитов в колонке для концентрирования. Времена удерживания определяемых веществ представлены в таблице 37.

Таблица 37. Времена удерживания веществ (мин). (n = 3)

| Определяемое вещество | Время удерживания, мин | | |
|-----------------------|-------------------------------|--|------------------------|
| | При десорбции подвижной фазой | При десорбции субкритической водой, температура 150 °С | При прямом определении |
| Фталевая кислота | 8,9 | 3 | 2,2 |
| Монометилфталат | 11,3 | 3,5 | 3,2 |
| Моноэтилфталат | 12,6 | 4,4 | 4,1 |
| Монобутилфталат | 19,7 | 9,4 | 9,7 |

Оценка метрологических характеристик определения фталатов. Ширины пиков при прямом определении и при десорбции субкритической водой практически не различаются. Пики на хроматограмме при десорбции субкритической водой в 2 – 3 раза уже, чем при десорбции водно-ацетонитрильной подвижной фазой, что объясняется фокусированием на начальном участке хроматографической колонки при подаче водного концентрата (табл. 38). Это

демонстрирует потенциальную возможность использования субкритической воды для анализа сложных смесей с близкими индексами удерживания, где требуется концентрирование и высокая эффективность хроматографического разделения.

По полученным хроматограммам рассчитывали пределы обнаружения аналитов, которые составили 10 – 35 мкг/л при десорбции субкритической водой. В качестве аналитического сигнала использовали площадь пиков. Относительное стандартное отклонение результатов определения фталатов находится в интервале 0,02 – 0,19 при десорбции водно-ацетонитрильной смесью и 0,02 – 0,24 при десорбции субкритической водой. Таким образом, пределы обнаружения при сорбционно-ВЭЖХ определении снижены в 30 – 50 раз по сравнению с прямым определением (табл. 10). Это объясняется различием в объемах анализируемого раствора (при прямом определении в хроматограф вводят 0,02 мл, а при проточном определении аналиты концентрируют из 10 мл образца и сконцентрированные аналиты вводят в хроматографическую колонку).

Таблица 38. Ширины пиков при десорбции подвижной фазой, при десорбции субкритической водой и при прямом определении. (n = 3)

| Определяемое вещество | w _{1/2} , с | | |
|-----------------------|-------------------------------|--|------------------------|
| | При десорбции подвижной фазой | При десорбции субкритической водой, температура 150 °С | При прямом определении |
| Фталевая кислота | 24 | 8 | 5 |
| Монометилфталат | 15 | 6 | 7 |
| Моноэтилфталат | 14 | 7 | 8 |
| Монобутилфталат | 37 | 16 | 17 |

5.3. Выводы к главе 5

Разработан способ проточного определения фенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2,4-динитрофенола, 2-нитрофенола, 2,4-диметилфенола, 4-хлор-3-

метилфенола, 2,4-дихлорфенола, 2-метил-4,6-динитрофенола, включающий сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, вырезание зоны концентрата в дозирующую петлю, фокусирование и ВЭЖХ разделение/определение. При использовании дозирующей петли пределы обнаружения составили 0,6 – 2 мкг/л (при концентрировании из 10 мл), относительное стандартное отклонение составило 0,03 – 0,18. Правильность и селективность определения добавок элементов в морской воде на уровне содержаний 10 мкг/л подтверждена методом «введено-найдено».

При введении всего концентрата в ВЭЖХ колонку пределы обнаружения составили 1,0 – 1,8 мкг/л (при концентрировании из 10 мл) относительное стандартное отклонение составило 0,02 – 0,13. Правильность и селективность определения добавок элементов в морской воде на уровне содержаний 2 мкг/л подтверждена методом «введено-найдено». Ширины пиков при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов в 1,5 – 2 уже, чем при прямом определении, не включающем концентрирование.

Разработан способ проточного определения фталевой кислоты, метилфталата, моноэтилфталата и монобутилфталата, включающий сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, фокусирование и ВЭЖХ разделение/определение. При концентрировании из 10 мл пределы обнаружения аналитов составили 10 – 35 мкг/л, относительное стандартное отклонение составило 0,02 – 0,24. Ширины пиков при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фталатов сопоставимы с ширинами пиков при прямом определении, не включающем концентрирование.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Предложен способ проточного сорбционно-ВЭЖХ определения веществ, включающий сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, охлаждение концентрата в потоке, хроматофокусирование аналитов в хроматографической колонке, их разделение и определение в изократических условиях.

2. Показано, что пористый графитированный углеродный сорбент Hupercarb более устойчив в среде субкритической воды при температурах 175 и 200°C, чем органополимерные сорбенты MN-200 (сверхсшитый полистирол) и Strata-X.

3. Получены данные о сорбции фенолов из различных объемов раствора, в качестве оптимального выбран объем 10 мл. Получены данные о десорбции фенолов и фталатов субкритической водой с углеродного сорбента при температурах 150, 175 и 200°C. Показано, что возможна эффективная десорбция ряда фенолов (фенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2-нитрофенола, 2,4-диметилфенола, 4-хлор-3-метилфенола) с сорбента Hupercarb при 175 и 200°C. Моноэтилфталат и диметилфталат эффективно десорбируются при 150°C, для десорбции диэтилфталата требуется 175–200°C. Показано, что эффективность десорбции 2,4-дихлорфенола, моно-циклогексилфталата и монобутилфталата субкритической водой ниже, чем ацетонитрилом. Наибольшую степень десорбции монобутилфталата, моно-циклогексилфталата, монометилфталата и моноэтилфталата наблюдали при 150°C. При увеличении температуры увеличивается степень гидролиза этих веществ.

4. Показана возможность использования модели Абрахама для расчета времен удерживания веществ в системе «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150, 175 и 200°C. Рассчитаны параметры системы «пористый графитированный углерод – субкритическая вода» при 150, 175 и 200°C. Показано, что поведение 2,3-бензофурана, индола, коричневого спирта и этилбензола, не использованных при расчете этих параметров, удовлетворительно

описывается в рамках указанной модели. Предсказано поведение ряда анилинов при десорбции субкритической водой.

5. Разработан способ проточного определения фенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, 2,4-динитрофенола, 2-нитрофенола, 2,4-диметилфенола, 4-хлор-3-метилфенола, 2,4-дихлорфенола, 2-метил-4,6-динитрофенола, включающий сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, вырезание зоны концентрата в дозирующую петлю, фокусирование и ВЭЖХ разделение/определение. При использовании дозирующей петли пределы обнаружения составили 0,6 – 2 мкг/л (при концентрировании из 10 мл), относительное стандартное отклонение определения большинства аналитов составило 0,03 – 0,18. Правильность и селективность определения добавок в морской воде на уровне содержаний 10 мкг/л подтверждена методом «введено-найденно».

При введении всего концентрата в ВЭЖХ колонку пределы обнаружения составили 1,0 – 1,8 мкг/л (при концентрировании из 10 мл) относительное стандартное отклонение составило 0,02 – 0,13. Правильность и селективность определения добавок элементов в морской воде на уровне содержаний 2 мкг/л подтверждена методом «введено-найденно». Ширины пиков при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фенолов в 1,5 – 2 уже, чем при прямом определении, не включающем концентрирование.

6. Разработан способ проточного определения фталевой кислоты, монометилфталата, моноэтилфталата и монобутилфталата, включающий сорбцию аналитов, их десорбцию субкритической водой, фокусирование и ВЭЖХ разделение/определение. При концентрировании из 10 мл пределы обнаружения аналитов составили 10 – 35 мкг/л, относительное стандартное отклонение составило 0,02 – 0,24. Ширины пиков при проточном сорбционно-ВЭЖХ определении фталатов сопоставимы с ширинами пиков при прямом определении, не включающем концентрирование.

Список литературы

1. Ong E.S., Len S.M. Pressurized hot water extraction of berberine, baicalein and glycyrrhizin in medicinal plants. // *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 482. № 1. P. 81 – 89.
2. Choi M.P.K., Chan K.K.C., Leung H.W., Huie C.W. Pressurized liquid extraction of active ingredients (ginsenosides) from medicinal plants using non-ionic surfactant solutions. // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 983. № 1 – 2. P. 153–162.
3. Pineiro Z., Palma M., Barroso C.G. Determination of catechins by means of extraction with pressurized liquids. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1026. № 1 – 2. P. 19 – 23.
4. Luthje K., Hyotylainen T., Rautiainen-Rama M., Riekkola M.-L. Pressurised hot water extraction–microporous membrane liquid–liquid extraction coupled on-line with gas chromatography–mass spectrometry in the analysis of pesticides in grapes. // *Analyst.* 2005. V. 130. № 1. P. 52 – 58.
5. Yan B., Zhao J., Brown J.S., Blackwell J., Carr P.W. High-Temperature Ultrafast Liquid Chromatography. // *Anal. Chem.* 2000. V. 72. № 6. P. 1253 – 1262.
6. Inglese B.A., Janssen H.-G., Cramers C.-A. HPLC-FID with Superheated Water as the Eluent: Improved Methods and Instrumentation. // *J. High Resolut. Chromatogr.* 1998. V. 21. № 11. P. 613 – 616.
7. Al-Khateeb L., Smith R.M. Superheated water chromatography on phenyl bonded hybrid stationary phases. // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1201. № 1. P. 61–64.
8. Chienthavorn O., Smith, R.M., Wilson, I.D., Wright, B., Lenz E.M. Superheated water chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy of kava lactones. // *Phytochem. Anal.* 2005. V. 16. № 3. P. 217 – 221.
9. Pawlowski T.M., Poole C.F. Solvation characteristics of pressurized hot water and its use in chromatography. // *Anal. Commun.* 1999. V. 36. № 3. P. 71 – 75.
10. Guillaume D., Heinisch S., Rocca J.L. Effect of temperature in reversed phase liquid chromatography. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1052. № 1 – 2. P. 39 – 51.
11. Teutenberg T., Goetze H.-J., Tuerk J., Ploeger J., Kiffmeyer T.K., Schmidt K.G., Kohorst W., Rohe T., Jansen H.-D., Weber H. Development and application of a specially designed heating system for temperature-programmed high-performance

- liquid chromatography using subcritical water as the mobile phase. // J. Chromatogr. A. 2006. V. 1114. № 1. P. 89 – 96.
12. Cardenas-Toro F.P., Alcazar-Alay S.C., Forster-Carneiro T., M. Meireles A.A. Obtaining Oligo- and Monosaccharides from Agroindustrial and Agricultural Residues Using Hydrothermal Treatments. // Food Public Health. 2014. V. 4. № 3. P. 123 – 139.
 13. Akerlof G.C., Oshry H.I. The Dielectric Constant of Water at High Temperatures and in Equilibrium with its Vapor. // J. Am. Chem. Soc. 1950. V. 72. № 7. P. 2844 – 2847.
 14. Franck E.U., Deul R. Dielectric behaviour of methanol and related polar fluids at high pressures and temperatures. // Faraday Discuss. Chem. Soc. 1978. V. 66. P. 191 – 198.
 15. Wagner W. The IAPWS Formulation 1995 for the Thermodynamic Properties of Ordinary Water Substance for General and Scientific Use. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1999. V. 31. № 2. P. 387 – 535.
 16. Hawthorne S.B., Yang, Y., Miller D.J. Extraction of Organic Pollutants from Environmental Solids with Sub- and Supercritical Water. // Anal Chem. 1994. V. 66. P. 2912 – 2920.
 17. Miller D.J., Hawthorne S.B. Method for Determining the Solubilities of Hydrophobic Organics in Subcritical Water. // Anal Chem. 1998. V. 70. № 8. P. 1618 – 1621.
 18. Smith R.M. Extractions with superheated water. // J. Chromatogr. A. 2002. V. 975. № 1. P. 31 – 46.
 19. Crescenzi C., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Nazzari M., Marchese S., Samperi R. Multiresidue herbicide analysis in soil: Subcritical water extraction with an on-line sorbent trap. // Anal Chem. 1999. V. 71. № 11. P. 2157 – 2163.
 20. Павлова Л.В., Платонов И.А., Никитченко Н.В., Колесниченко И.Н., Куркин В.А. Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами // Сверхкритические флюиды: Теория и практика. 2016. Т. 11. №3. С. 34 – 57.

21. Никитченко Н.В., Платонов И.А., Смирнов П.В., Онучак Л.А., Арутюнов Ю.И., Куркин В.А. Экстракция субкритической водой биологически активных соединений из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.) // Сверхкритические флюиды: Теория и практика. 2010. Т. 5, №3. С. 67 – 75
22. Teo C.C., Tan S.N., Yong J.W.H., Hew C.S., Ong E.S. Pressurized hot water extraction (PHWE) // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. № 16. P. 2484 – 2494.
23. Ong E.S., Len S.M. Evaluation of surfactant-assisted pressurized hot water extraction for marker compounds in *Radix Codonopsis pilosula* using liquid spectrometry. // *J. Sep. Sci.* 2003. V. 26. № 17. P. 1533 – 1540.
24. Ong E.S., Len S.M. Evaluation of pressurized liquid extraction and pressurized hot water extraction for tanshinone I and IIA in *salvia miltiorrhiza* using LC and LC–ESI-MS. // *J. Chromatogr. Sci.* 2004. V. 42. P. 211 – 216.
25. Lou X., Janssen H.-G., Cramers C.A. Parameters affecting the accelerated solvent extraction of polymeric samples. // *Anal. Chem.* 1997. V. 69. № 8. P. 1598 – 1603.
26. Kronholm J., Hartonen K., Riekkola M.-L. Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures. // *Trends Anal. Chem.* 2007. V. 26. № 5. P. 396 – 412.
27. Ong E.S., Cheong J.S.H., Goh D. Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. // *J Chromatogr A*. 2006. V. 1112. № 1 – 2. P. 92 – 102.
28. Kubatova, A., Jansen, B., Vaudoisot, J.-F., Hawthorne S.B. Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO₂. // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 975. № 1. P. 175 – 188.
29. Herrero M., Martin- lvarez P.J., Senorans F. J., Alejandro Cifuentes, Ibanez E. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. // *Food Chem.* 2005. V. 93. № 3. P. 417 – 423.
30. Eller F.J., Taylor S.L. Pressurized fluids for extraction of cedarwood oil from *Juniperus virginiana*. // *J. Agric. Food Chem.* 2004. V. 52. № 8. P. 2335 – 2338.

31. Andersson T., Pihtsalmi T., Hartonen K., Hyotylainen T., Riekkola M.-L. Effect of extraction vessel geometry and flow homogeneity on recoveries of polycyclic aromatic hydrocarbons in pressurised hot water extraction. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. V. 376. № 7. P. 1081 – 1088.
32. Richter B.E., Jones B.A., Ezzell J.L., Porter N.L., Avdalovic N., Pohl C.. Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. // *Anal. Chem.* 1996. V. 68. № 6. P. 1033 – 1039.
33. Kuosmanen K., Hyotylainen T., Hartonen K., Riekkola M.-L. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and sediment with on-line coupled pressurised hot water extraction, hollow fibre microporous membrane liquid–liquid extraction and gas chromatography. // *Analyst.* 2003. V. 128. № 5. P. 434 – 439.
34. Kronholm J., Revilla-Ruiz P., Porras S.P., Hartonen K., Carabias-Martinez R., M.-L. Riekkola. Comparison of gas chromatography–mass spectrometry and capillary electrophoresis in analysis of phenolic compounds extracted from solid matrices with pressurized hot water. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1022. № 1 – 2. P. 9 – 16.
35. Kubatova A., Miller D.J., Hawthorne S.B. Comparison of subcritical water and organic solvents for extracting kava lactones from kava root. // *J. Chromatogr. A.* 2001. V. 923. № 1 – 2. P. 187 – 194.
36. Deng C., Li N., Zhang X. Rapid determination of essential oil in *Acorus tatarinowii* Schott. by pressurized hot water extraction followed by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1059. № 1 – 2. P. 149 – 155.
37. Deng C., Yao N., Wang A., Zhang X. Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, *Fructus amomi* by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. // *Anal. Chim. Acta.* 2005. V. 536. № 1 – 2. P. 237 – 244.
38. Rovio S., Hartonen K., Holm Y., Hiltunen R., Riekkola M.-L. Extraction of clove using pressurized hot water. // *Flavour Fragr. J.* 1999. V. 14. № 6. P. 399 – 404.
39. Eikani, M.H., Golmohammad, F., Mirza, M., Rowshanzamir S. Extraction of Vatile oil from cumin (*Cuminum cyminum* L.) with superheated water. // *J. Food Process Eng.* 2007. V. 30. № 2. P. 255 – 266.

40. Palma M., Pineiro Z., Barroso C.G. In-line pressurized-fluid extraction–solid-phase extraction for determining phenolic compounds in grapes. // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 968. № 1 – 2. P. 1 – 6.
41. Yarita T., Nakajima R., Shibukawa M. Superheated water chromatography of phenols using poly(styrene-divinylbenzene) packings as a stationary phase. // *Anal. Sci.* 2003. V. 19. № 2. P. 269 – 272.
42. Yang Y. Aaryn D.J., Mathis J.A., Francis M.A. Flame ionization detection after splitting the water effluent in subcritical water chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 942. № 1 – 2. P. 231 – 236.
43. Miller D.J., Hawthorne S.B. Subcritical Water Chromatography with Flame Ionization Detection. // *Anal Chem.* 1997. V. 69. P. 623 – 627.
44. Louden D., Handley A., Lafont R., Taylor S., Sinclair I., Lenz E., Orton T., Wilson I.D. HPLC Analysis of Ecdysteroids in Plant Extracts Using Superheated Deuterium Oxide with Multiple On-Line Spectroscopic Analysis (UV, IR, ¹H NMR, and MS). // *Anal. Chem.* 2002. V. 74. № 1. P. 288 – 294.
45. Smith R.M., Chienthavorn O., Wilson I.D., Wright B., Taylor S.D. Superheated Heavy Water as the Eluent for HPLC-NMR and HPLC-NMR-MS of Model Drugs. // *Anal Chem.* 1999. V. 71. № 20. P. 4493 – 4497.
46. Al-Khateeb R.M., Smith L.A. High-temperature liquid chromatography of steroids on a bonded hybrid column. // *Anal Bioanal Chem.* 2009. V. 394. № 5. P. 1255 – 1260.
47. Chienthavorn E.M. Smith O., Saha R.M., Wilson S., Wright I.D., Taylor B., Lenz S.D. Superheated water chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry of vitamins. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2004. V. 36. № 3. P. 477 – 482.
48. Holm A., Molander P., Lundanes E., Greibrokk T. Novel column oven concept for cold spot large Volume sample enrichment in high throughput temperature gradient capillary liquid chromatography. // *J. Sep. Sci.* 2003. V. 26. № 12–13. P. 1147 – 1153.
49. Saha S., Smith R.M., Lenz E., Wilson I.D. Analysis of a ginger extract by high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance

- spectroscopy using superheated deuterium oxide as the mobile phase. // J. Chromatogr. A. 2003. V. 991. № 1. P. 143 – 150.
50. Guillaume D., Heinisch S., Gauvrit J.Y., Lanteri P., Rocca J.L. Optimization of the coupling of high-temperature liquid chromatography and flame ionization detection: Application to the separations of alcohols. // J. Chromatogr. A. 2005. V. 1078. № 1 – 2. P. 22 – 27.
51. Hooijschuur E.W.J., Kientz C.E., Brinkman U.A.T. Potential of Flame Ionization Detection Coupled On-Line with Microcolumn Liquid Chromatography Using Aqueous Eluents and an Eluent-Jet Interface. // J. High Resolut. Chromatogr. 2000. V. 23. № 4. P. 309 – 316.
52. Nakajima R., Yarita T., Shibukawa M. Analysis of alcohols by superheated water chromatography with flame ionization detection. // Bunseki Kagaku. 2003. V. 52. № 5. P. 305 – 309.
53. Bruckner C.A., Ecker S.T., Synovec R.E. Simultaneous flame ionization and absorbance detection of volatile and nonvolatile compounds by reversed-phase liquid chromatography with a water mobile phase. // Anal Chem. 1997. V. 69. № 17. P. 3465 – 3470.
54. Smith R.M., Burgess R.J. Superheated water – a clean eluent for reversed-phase high-performance liquid chromatography. // Anal Commun. 1996. V. 33. P. 327 – 329.
55. Smith R.M., Chienthavorn O., Wilson I.D., Wright B. Superheated deuterium oxide reversed-phase chromatography coupled to proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. // Anal. Commun. 1998. V. 35. № 8. P. 261 – 263.
56. Smith R.M. Superheated water chromatography - A green technology for the future . // J. Chromatogr. A. 2008. V. 1184. № 1 – 2. P. 441 – 455.
57. Chen M.H., Horvath C. Temperature programming and gradient elution in reversed-phase chromatography with packed capillary columns. // J. Chromatogr. A. 1997. V. 788. № 1 – 2. P. 51 – 61.
58. Greibrokk T., Andersen T. High-temperature liquid chromatography (review). // J. Chromatogr. A. 2003. V. 1000. P. 743 – 755.

59. Edge A., Wilson I., Shillingford S. Thermal Gradients for the Control of Elution in RP-LC: Application to the Separation of Model Drugs. // *Chromatographia*. 2007. V. 66. P. 831 – 836.
60. Tajuddin R., Smith R.M. On-line coupled extraction and separation using superheated water for the analysis of triazine herbicides in spiked compost samples. // *J. Chromatogr. A*. 2005. V. 1084. № 1 – 2. P. 194 – 200.
61. Coym J.W., Dorsey J.G. Reversed-phase retention thermodynamics of pure-water mobile phases at ambient and elevated temperature. // *J. Chromatogr. A*. 2004. V. 1035. № 1. P. 23 – 29.
62. Pereira L., Aspey S., Ritchie H. High temperature to increase throughput in liquid chromatography and liquid chromatography–mass spectrometry with a porous graphitic carbon stationary phase. // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. № 8. P. 1115 – 1124.
63. Allmon S.D., Dorsey J.G. Retention mechanisms in subcritical water reversed-phase chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 2009. V. 1216. № 26. P. 5106 – 5111.
64. Thompson J.D., Carr P.W. A Study of the Critical Criteria for Analyte Stability in High-Temperature Liquid Chromatography. // *Anal. Chem.* 2002. V. 74. № 5. P. 1017 – 1023.
65. Hageman K.J., Mazeas L., Grabanski C.B., Miller D.J., Hawthorne S.B. Coupled Subcritical Water Extraction with Solid-Phase Microextraction for Determining SemiVatile Organics in Environmental Solids. // *Anal. Chem.* 1996. V. 68. № 22. P. 3892 – 3898.
66. Eskilsson C.S., Hartonen K., Mathiasson L., Riekkola M.-L. Pressurized hot water extraction of insecticides from process dust – comparison with supercritical fluid extraction. // *J. Sep. Sci.* 2004. V. 27. № 1 – 2. P. 59 – 64.
67. Lou X., Miller D.J., Hawthorne S.B. Static subcritical water extraction combined with anion exchange disk sorption for determining chlorinated acid herbicides in soil. // *Anal. Chem.* 2000. V. 72. № 3. P. 481 – 488.
68. Giegold S., Holzhauser M., Kiffmeyer T., Tuerk J., Teutenberg T., Rosenhagen M., Hennies D., Hoppe-Tichy T., Wenclawiak B. Influence of the stationary phase on the stability of thalidomide and comparison of different methods for the

- quantification of thalidomide in tablets using high-temperature liquid chromatography. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008. V. 46. № 4. P. 625 – 630.
69. Yang, Y. Stationary Phases for High-Temperature Liquid Chromatography. // *LC-GC Eur.* 2003. V. 16. P. 37 – 42.
70. Teutenberg T., Hollebekkers K., Wiese S., Boergers A. Temperature and pH-stability of commercial stationary phases. // *J. Sep. Sci.* 2009. V. 32. № 9. P. 1262 – 1274.
71. Dugo P., Buonasera K., Crupi M.L., Cacciola F., Dugo G., Mondello L. Superheated water as chromatographic eluent for parabens separation on octadecyl coated zirconia stationary phase. // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. № 8. P. 1125 – 1130.
72. Dai J., Yang X., Carr P.W. Comparison of the chromatography of octadecyl silane bonded silica and polybutadiene-coated zirconia phases based on a diverse set of cationic drugs. // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 1005. № 1 – 2. P. 63 – 82.
73. Ovens C., Sievwright D., Silcock A.J. Unusual retention behaviour of 4-substituted piperidines on polybutadiene and polystyrene coated zirconia by comparison to reverse phase silica. // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1137. № 1. P. 56 – 62.
74. Yang X., Dai J., Carr P.W. Analysis and critical comparison of the reversed-phase and ion-exchange contributions to retention on polybutadiene coated zirconia and octadecyl silane bonded silica phases. // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 996. № 1 – 2. P. 13 – 31.
75. Stoll D.R., Cohen J.D., Carr P.W. Fast, comprehensive online two-dimensional high performance liquid chromatography through the use of high temperature ultra-fast gradient elution reversed-phase liquid chromatography. // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1122. № 1 – 2. P. 123 – 137.
76. Teutenberg T., Tuerk J., Holzhauser M., Giegold S. Temperature stability of reversed phase and normal phase stationary phases under aqueous conditions. // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. № 8. P. 1101 – 1114.
77. Smith R.M., Chienthavorn O., Wilson I.D., Wright B., Taylor S.D. Superheated heavy water as the eluent for HPLC-NMR and HPLC-NMR-MS of model drugs. // *Anal Chem.* 2007. V. 19. P. 4493 – 4497.

78. He P., Yang Y. Studies on the long-term thermal stability of stationary phases in subcritical water chromatograph . // J. Chromatogr. A. 2003. V. 989. № 1. P. 55 – 63.
79. Wilson I.D. Investigation of a range of stationary phases for the separation of model drugs by HPLC using superheated water as the mobile phase . // Chromatographia. 2000. V. 52. № 1. P. 28 – 34.
80. Bone J.R., Smith R.M. Solid phase extraction and thermal desorption of acetophenone and m-cresol using superheated water or steam as the sole eluent. // Anal. Commun. 1999. V. 36. P. 375 – 377.
81. Ross P., Knox J.H. Carbon-based packing materials for liquid chromatography: applications. // Adv. Chromatogr. 1997. V. 37. P. 121 – 162.
82. Knox J.H., Ross P. Carbon-based packing materials for liquid chromatography - Structure, performance, and retention mechanisms. // Adv. Chromatogr. 1997. V. 37. P. 73 – 119.
83. Kondo T., Yang Y. Comparison of elution strength, column efficiency, and peak symmetry in subcritical water chromatography and traditional reversed-phase liquid chromatography. // Anal. Chim. Acta. 2003. V. 494. № 1 – 2. P. 157 – 166.
84. Tajuddin R., Smith R.M. On-line coupled superheated water extraction (SWE) and superheated water chromatography (SWC). // Analyst. 2002. V. 127. P. 883 – 885.
85. Lamm L.J., Yang Y. Off-line coupling of subcritical water extraction with subcritical water chromatography via a sorbent trap and thermal desorption. // Anal. Chem. 2003. V. 75. P. 2237 – 2242.
86. Li B., Yang Y., Gan Y., Eaton C.D., He P., Jones A.D. On-line coupling of subcritical water extraction with high-performance liquid chromatography via solid-phase trapping. // J. Chromatogr. A. 2000. V. 873. № 2. P. 175 – 184.
87. Kim W.-J., Kim J., Veriansyah B., Kim J.-D., Lee Y.-W., Oh S.-G., Tjandrawinatad R.R. Extraction of bioactive components from *Centella asiatica* using subcritical water. // J. Supercrit. Fluids. 2009. V. 48. № 3. P. 211 – 216.
88. Hubaux A., Vos G. Decision and detection limits for calibration curves. // Anal. Chem. 1970. V. 42. № 8. P. 849 – 855.

89. Thurman E.M., Mills M.S. Solid-phase extraction — Principles and practice. 1998. N.-Y.: Wiley. 344 p.
90. Barcelo D., Hennion M.-C. On-line sample handling strategies for the trace-level determination of pesticides and their degradation products in environmental waters. // *Anal. Chim. Acta.* 1995. V. 318. P. 1 – 41.
91. Brouwer E.R., Kofman S., Brinkman U.A.T. Selected procedures for the monitoring of polar pesticides and related microcontaminants in aquatic samples. // *J. Chromatogr. A.* 1995. V. 703. P. 167 – 190.
92. Wissiack R., Rosenberg E., Grasserbauer M. Comparison of different sorbent materials for on-line solid-phase extraction with liquid chromatography — atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry of phenols. // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 896. P. 159 – 170.
93. Saber A.L., Elmosallamy M.A.F., Wilson S.R., Lundanes E., Greibrokk T. Determination of oxomemazine in human plasma by capillary LC-ESI-MS. // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2007. V. 30. № 3. P. 393 – 403.
94. Zang X. Luo R., Song N., Chen T.K., Bozigian H. A novel on-line solid-phase extraction approach integrated with a monolithic column and tandem mass spectrometry for direct plasma analysis of multiple drugs and metabolites. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2005. V. 19. № 22. P. 3259 – 3268.
95. Ye X., Kuklenyk Z., Needham L. L., Calafat A. M. Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for the determination of nine environmental phenols in urine. // *Anal. Chem.* 2005. V. 77. № 16. P. 5407 – 5413.
96. Pichon V., Chen L., Hennion M.-C. On-line preconcentration and liquid chromatographic analysis of phenylurea pesticides in environmental water using a silica-based immunosorbent. // *Anal. Chim. Acta.* 1995. V. 311. № 3. P. 429 – 436.
97. Chen L., Yu A., Zhuang X., Zhang K., Wang X., Ding L., Zhang H. Determination of andrographolide and dehydroandrographolide in rabbit plasma by on-line solid phase extraction of high-performance liquid chromatography. // *Talanta.* 2007. V. 74. № 1. P. 146 – 152.

98. Castro R., Moyano E., Galceran M.T. On-line ion-pair solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry for the analysis of quaternary ammonium herbicides. // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 869. № 1 – 2. P. 441 – 449.
99. Cobo M., Silva M. Continuous solid-phase extraction and dansylation of low-molecular-mass amines coupled on-line with liquid chromatography and peroxyoxalate chemiluminescence-based detection. // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 848. № 1 – 2. P. 105 – 115.
100. Ou J., Hu L., Hu L., Li X. Determination of phenolic compounds in river water with on-line coupling bisphenol A imprinted monolithic precolumn with high performance liquid chromatography. // *Talanta.* 2006. V. 69. № 4. P. 1001 – 1006.
101. Masque N., Marce R.M., Borrull F. Comparison of different sorbents for on-line solid-phase extraction of pesticides and phenolic compounds from natural water followed by liquid chromatography. // *J. Chromatogr. A.* 1998. V. 793. № 2. P. 257 – 263.
102. Blount B.C., Milgram K.E., Silva M.J., Malek N.A., Reidy J.A., Needham L.L., Brock J.W. Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC–APCI-MS/MS. // *Anal. Chem.* 2000. V. 72. № 17. P. 4127 – 4134.
103. Itoh H., Yoshida K., Masunaga S. Quantitative Identification of Unknown Exposure Pathways of Phthalates Based on Measuring Their Metabolites in Human Urine. // *Environ. Sci. Technol.* 2007. V. 41. № 13. P. 4542 – 4547.
104. Hauser R., Calafat A.M. Phthalates and Human Health. // *Occup. Environ. Med.* 2005. V. 62. № 11. P. 806 – 818.
105. Yang Y., Jones A.D., Eaton C.D. Retention behavior of phenols, anilines, and alkylbenzenes in liquid chromatographic separations using subcritical water as the mobile phase. // *Anal. Chem.* 1999. V. 71. P. 3808 – 3813.
106. Barton D., Ollis D. *Comprehensive organic chemistry.* // Pergamon Press. 1979. P. 468 – 471.
107. Хрящевский А. В., Подловченко М.Б., Нестеренко П.Н., Шпигун О.А. Применение сверхсшитого макросетчатого полистирола для концентрирования фенолов. // *Вестник московского университета. Серия 2. Химия.* 1998. Т. 39. № 3. С. 196 – 200.

108. El-Shahawi M.S., Farag A.B., Mostafa M.R. Preconcentration and Separation of Phenols from Water by Polyurethane Foams. // *Sep. Sci. Technol.* 1994. V. 29. № 2. P. 289 – 299.
109. Калинкина С.П., Суханов П.Т., Рудаков О.Б., Харитонов Л.А., Орлова О.Л., Лисавцова Л.В. Селективное определение фенолов в водных средах после экстракционно-хроматографического концентрирования. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2008. Т. 8. № 5. С. 739 – 744.
110. Coquart V., Hennion M.-C. Trace-level determination of polar phenolic compounds in aqueous samples by high-performance liquid chromatography and on-line preconcentration on porous graphitic carbon. // *J. Chromatogr. A.* 1992. V. 600. № 2. P. 195 – 201.
111. Caro E., Marce R.M., Cormack P.A.G., Sherrington D.C., Borrull F. On-line solid-phase extraction with molecularly imprinted polymers to selectively extract substituted 4-chlorophenols and 4-nitrophenol from water. // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 995. № 1 – 2. P. 233 – 238.
112. Masque N., Galia M, Marce R.M., Borrull F. New chemically modified polymeric resin for solid-phase extraction of pesticides and phenolic compounds from water. // *J. Chromatogr. A.* 1998. V. 803. № 1–2. P. 147 – 155.
113. Hubinger J.C. A survey of phthalate esters in consumer cosmetic products. // *J. Cosmet. Sci.* 2010. V. 61. P. 457 – 465.
114. Shen H.-Y., Jiang H.-L., Mao H.-L., Pan G., Zhou L., Cao Y.-F. Simultaneous determination of seven phthalates and four parabens in cosmetic products using HPLC-DAD and GC-MS methods. // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. № 1. P. 48 – 54.
115. Wu T., Wang C., Wang X., Xiao H., Ma Q., Zhang Q. Comparison of UPLC and HPLC for Analysis of 12 Phthalates. // *Chromatographia.* 2008. V. 68. P. 803 – 806.
116. Zaater M.F., Tahboub Y.R., Sayyed A., Ayman N. Determination of phthalates in Jordanian bottled water using GC-MS and HPLC-UV: environmental study. // *J. Chromatogr. Sci.* 2014. V. 52. № 5. P. 447 – 452.
117. Gao X., Yang B., Tang Z., Luo X., Wang F., Xu H., Cai X. Determination of phthalates released from paper packaging materials by solid-phase extraction-high-

- performance liquid chromatography. // *J. Chromatogr. Sci.* 2014. V. 52. № 5. P. 383 – 389.
118. Statkus M.A., Sokhranyaeva A.S., Tsysin G.I., Zolotov Y.A. Subcritical water for the desorption of 2-chlorophenol in on-line solid-phase extraction–HPLC analysis. // *Mendeleev Commun.* 2011. V. 21. № 5. P. 270 – 271.
119. Yang Y. Stationary phases for high-temperature liquid chromatography. // *LC-GC Eur.* 2003. V. 16. P. 37 – 42.
120. Hartonen K., Riekkola M.-L. Liquid chromatography at elevated temperatures with pure water as the mobile phase. // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2008. V. 27. № 1. P. 1 – 14.
121. Vitha M., Carr P.W. The chemical interpretation and practice of linear solvation energy relationships in chromatography. // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1126. № 1 – 2. P. 143 – 194.
122. Abraham M.H., Ibrahim A., Zissimos A.M. Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1037, № 1 – 2. P. 29 – 47.
123. Neff R.O., McQuarrie D.A. Statistical mechanical theory of solubility. // *J. Phys. Chem.* 1973. V. 77. P. 413 – 418.
124. <http://lxsrv7.oru.edu/~alang/abrahamdescriptors/download.php>