

УДК 543.064:543.544:543.51

М.М. Скринник, М.В. Милюкин

**ПРЕПАРАТИВНОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ КОПЛАНАРНЫХ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ/МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Разработана экспрессная методика препаративного выделения копланарных полихлорированных бифенилов из смесей Aroclor методом микропрепаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в обращенно-фазном варианте для последующего определения методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии.

Копланарные полихлорированные бифенилы (ПХБ) содержатся в объектах окружающей среды (вода, воздух, почва, биота) в малых количествах по сравнению с остальными изомерами ПХБ, поэтому они не могут быть надежно идентифицированы и определены методом ГХ/МС без препаративного выделения.

Принимая во внимание сложность поставленной задачи выделения копланарных ПХБ ввиду близких физико-химических свойств копланарных и некопланарных ПХБ и присутствия в пробах других балластных соединений, которые остаются в них после очистки концентрированной серной кислотой или олеумом [1], выделение копланарных ПХБ на примере модельных смесей Aroclor и проб биоты проводили в две стадии: 1) грубое отделение фракции, содержащей все ПХБ, от балластных веществ жировой ткани методом микропрепаративной ВЭЖХ на колонке C_{18} ; 2) тонкое выделение фракции (или фракций), не содержащей ПХБ, которые мешают определению копланарных ПХБ, методом микропрепаративной обращенно-фазной ВЭЖХ. Принципы и методы микропрепаративного выделения органических соединений различных классов представлены в монографии [2].

Цель работы — выбор хроматографической системы и условий выделения копланарных ПХБ из смеси ПХБ, при которых достигается: адекватная степень очистки целевых соединений; высокая скорость выделения; малый расход растворителей; простота исполнения.

Для подбора оптимальных условий выделения копланарных ПХБ использовали два жидкостных хроматографа — Waters 515 с УФ-детектором WatersTM 486 или Hewlett-Packard 1050 с градиентным насосом, диодно-матричным детекто-

ром и автоматическим дозатором проб. Объем вводимой пробы — 50 мкл. Детектирование осуществляли при $\lambda=250$ нм. В качестве маркеров использовали метанольные растворы смеси ПХБ, составленной из Aroclor 1221, 1242, 1254 (Supelco N 48862, 2001 г) (смесь I), с концентрацией каждого компонента 20 мг/дм^3 (мешающие анализу соединения), и метанольные растворы 12 индивидуальных копланарных ПХБ: 3,4,4',5'-тетрахлорбифенил (RPC-096S), 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил (RPC-036S), 2',3,4,4',5'-пентахлорбифенил (RPC-156S), 2,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенил (RPC-100S), 2,3',4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-106S), 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенил (RPC-098S), 2,3,4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-108S), 3,3',4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-102S), 2,3,3',4,4',5'-гексахлорбифенил (RPC-164S), 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенил (RPC-090S), 2,3,3',4,4',5-гексахлорбифенил (RPC-055S), 2,3,3',4,4',5,5'-гептахлорбифенил (RPC-137S) (номера по каталогу Ultra Scientific, 2001 г.) как индивидуальные соединения, так и смесь целевых соединений (смесь II) соответственно в концентрации около 10 и 1 мг/дм^3 каждого индивидуального соединения в смеси.

Хроматографирование смесей проводили методом обращенно-фазной ВЭЖХ в изократическом режиме при использовании пяти колонок с привитыми функциональными группами — CN, Phenyl, C_8 , C_{18} и PАН в следующих условиях: подвижная фаза — метанол ($0.5\text{--}1 \text{ см}^3/\text{мин}$), температура колонки — 30°C , детектирование при $\lambda = 250$ нм. Полученные хроматограммы смеси Aroclor 1221, 1242, 1254 накладывали на хроматограммы смеси копланарных ПХБ при помощи программы для сбора и обработки хроматографических данных Millennium³² Chromatography Manager, производства фирмы Waters [3]. Ординаты хроматограмм привели к единому для всех

© М.М. Скринник, М.В. Милюкин, 2007

хроматограмм значению.

Модельные растворы 3,3',4,4'-тетрахлор-, 2,3,3',4,4'-пентахлор- и 2,3',4,4',5-пентахлорбифенилов хроматографировали на колонках с привитыми фазами РАН и C_{18} в тех же условиях, но в качестве подвижной фазы использовали метанол и смесь метанол:вода в соотношении 9:1. Хроматограммы накладывали друг на друга при помощи программы для сбора и обработки хроматографических данных Millennium³² Chromatography Manager производства фирмы Waters [3]. Ординаты хроматограмм также приводили к единому для всех хроматограмм значению.

Хроматографирование смеси, состоящей из 2,3-, 3',4,4'-пентахлор-, 2,3',4,4',5-пентахлор- и 3,3',4,4'-тетрахлорбифенила, проводили в градиентном режиме на колонке РАН в следующих условиях:

подвижная фаза А — вода : метанол (95:5); фаза Б — вода : метанол (5:95); скорость подвижной фазы — $0.5 \text{ см}^3/\text{мин}$; А — 1 мин, 2–16 мин — линейный градиент, 16–30 — 100 % фаза Б.

Хроматографирование смесей Agoclor 1221, 1242, 1254 и 12 копланарных ПХБ проводили на колонке с привитой фазой РАН в градиентном режиме подвижной фазы при следующих условиях: подвижная фаза А — вода, фаза Б — метанол; скорость подвижной фазы — $0.5 \text{ см}^3/\text{мин}$, детектирование при $\lambda = 250 \text{ нм}$; А — 0 мин; 0–25 мин — линейный градиент, 25–30 — 100 % фаза Б.

Хроматограммы, на которых показаны копланарные ПХБ, наложенные на смесь Agoclor 1221, 1242, 1254, представлены на рис. 1.

На хроматограммах смеси Agoclor 1221, 1242, 1254 (элюирование ПХБ происходит в виде групп

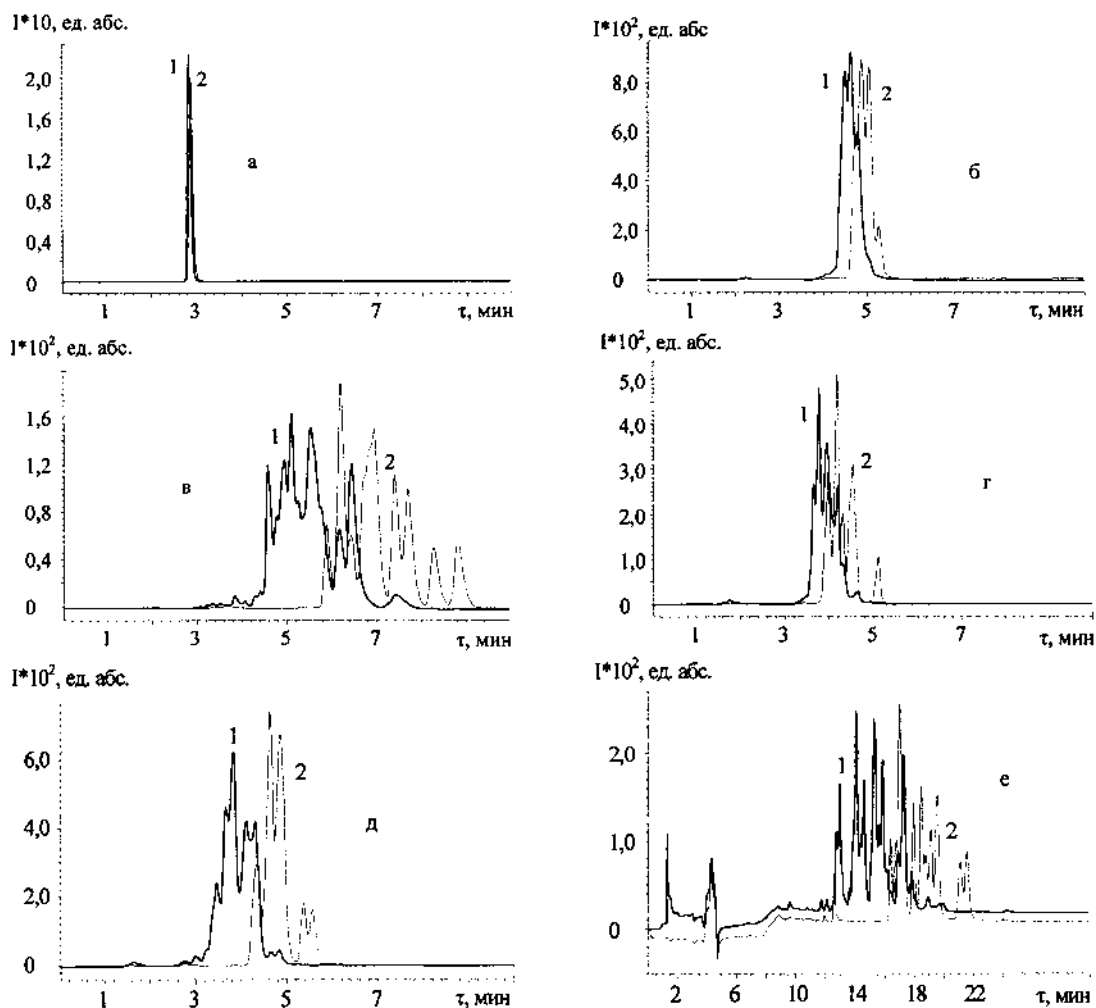


Рис. 1. Хроматограммы смеси Agoclor 1221, 1242, 1254 (1), наложенные на хроматограммы смеси 12 копланарных ПХБ (2) на разных хроматографических колонках в изократических условиях (а–д) и в режиме линейного градиента (е). Колонки: а – CN; б – C_8 ; в – C_{18} ; г – Phenyl; д, е – РАН.

пы неразделенных пиков или одного пика) проводили общую базовую линию для всех пиков. В точке начала выхода первого пика на хроматограмме смеси 12 копланарных ПХБ хроматограмму разделяли на две части. Рассчитывали соотношения суммарной площади пиков левой части хроматограммы к правой. Таким образом получали коэффициент α , при помощи которого оценивали степень перекрывания выхода целевых и нецелевых соединений на разных колонках. Чем больше этот коэффициент, тем лучше отделение копланарных ПХБ от некопланарных. Получены следующие значения α : для колонки с привитой функциональной группой CN — 0 (разделение отсутствует); C_8 — 0.757; C_{18} — 2.195; Phenyl — 0.421; PАН — 2.395. На колонке с привитыми группами CN (рис. 1, а) и C_8 (рис. 1, б) в данных условиях разделение неудовлетворительное из-за плохого удерживания соединений (неполярная подвижная фаза). На колонке с привитой фазой CN при использовании метанола в качестве подвижной фазы разделение соединений проходит по нормально-фазному механизму (подвижная фаза менее полярна, чем неподвижная) [2]. На колонке с привитой функциональной группой Phenyl (рис. 1, в) $\alpha=0.421$, хотя даже визуально заметно, что пики разделены лучше, чем на C_8 . Данная неподвижная фаза лучше взаимодействует с ПХБ благодаря наличию бензольных колец (π - π -взаимодействие), но механизм этого взаимодействия не позволяет полностью отделить копланарные ПХБ от некопланарных. Для колонки с привитой группой C_{18} (рис. 1, г) механизм удерживания соединений тот же, что и для C_8 , но за счет более длинной углеводородной цепи достигается хорошее удерживание ПХБ при использовании метанола в качестве подвижной фазы. Чтобы усилить взаимодействие молекул ПХБ с привитой фазой по обращено-фазному механизму, можно добавлять воду в подвижную фазу. Эта процедура в некоторых случаях улучшит отделение копланарных ПХБ от некопланарных, но усложнит дальнейшую подготовку проб. Копланарные ПХБ удерживаются привитым слоем сильнее, чем некопланарные с тем же количеством атомов хлора в молекуле. Вероятно, это связано с более сильными донорно-акцепторными взаимодействиями между сорбентом и копланарными ПХБ. Этим обуславливается и более сильное удерживание ПХБ с высокими степенями хлорирования [4]. Механизм удерживания ПХБ привитым слоем также может включать электростатические, диполь-дипольные взаимодействия и образование водородных связей. На ко-

лонке с привитой группой PАН (рис. 1, д) получено самое высокое значение $\alpha=2.395$. Молекулы ПХБ в данных условиях хорошо взаимодействуют с привитым слоем, что можно наблюдать визуально по профилю хроматограмм. Кроме π - π -взаимодействий (в отличие от колонки с привитой фенильной группой), в этом случае возникают стерические затруднения для ПХБ с неплоской геометрией молекулы вследствие меньшей площади контакта сорбата с плоскими молекулами привитой функциональной группы. Разделение молекул ПХБ с близкой полярностью происходит аналогично разделению хиральных соединений, описанному в работе [5]. Для разработки методики препаративного выделения копланарных ПХБ выбраны колонки PАН ($\alpha=2.395$) и C_{18} ($\alpha=2.195$), на которых в наименьшей степени перекрывались области элюирования копланарных ПХБ со смесью Agoclog 1221, 1242, 1254.

Для того чтобы получить характеристику удерживания соединений, не зависящую от размеров колонки и скорости расхода элюента, для колонок C_{18} и PАН определили коэффициенты емкости для каждого из 12 копланарных ПХБ в данных условиях (табл. 1). Для этого хроматографировали модельные растворы каждого из 12 копланарных ПХБ с целью определения времен удерживания каждого соединения и мертвого объема системы. Коэффициенты емкости рассчитывали по формуле [6]:

$$k' = t_R - t_0 / t_0,$$

Т а б л и ц а 1

Коэффициенты емкости копланарных ПХБ на колонках PАН и C_{18} в приведенных ранее условиях хроматографирования

ПХБ	Коэффициент емкости, k'	
	PАН	C_{18}
3,4,4',5-тетрахлор	2.32 (6)	2.29 (3)
3,3',4,4'-тетрахлор	2.13 (3)	2.09 (1)
2',3,4,4',5-пентахлор	2.16 (4)	2.57 (6)
2,3,4,4',5-пентахлор	2.26 (5)	2.49 (5)
2,3',4,4',5-пентахлор	2.00 (2)	2.35 (4)
2,3,3',4,4'-пентахлор	1.97 (1)	2.19 (2)
3,3',4,4',5-пентахлор	2.52 (10)	2.62 (7)
2,3',4,4',5,5'-гексахлор	2.36 (8,9)	2.98 (10)
2,3,3',4,4',5'-гексахлор	2.35 (7)	2.80 (8)
3,3',4,4',5,5'-гексахлор	3.01 (12)	3.31 (11)
2,3,3',4,4',5-гексахлор	2.36 (8,9)	2.82 (9)
2,3,3',4,4',5,5'-гептахлор	2.72 (11)	3.51 (12)

где t_R — время удерживания соединения, t_0 — время удерживания неудерживаемого соединения.

Из полученного экспериментального материала определения k' следует, что данные соединения по-разному удерживаются на РАН и C_{18} (очередность элюирования соответствует порядковому номеру, приведенному в скобках и существенно отличается); общая закономерность примерно одинакова — сначала элюируются ПХБ с меньшей степенью хлорирования, затем — с большей.

Полученные хроматограммы для трех выбранных соединений — 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенила (1), 2,3,4,4',5-пентахлорбифенила (2) и 3,3',4,4'-тетрахлорбифенила (3) — представлены на рис. 2. Из хроматографических данных по удерживанию этих соединений определили коэффициенты разделения (R_s) пиков 1 и 2, 2 и 3 (табл. 2) по формуле [6]:

Т а б л и ц а 2

Коэффициенты разделения (R_s) пиков 1 и 2, 2 и 3 на колонках РАН и C_{18} при использовании разных подвижных фаз: метанол (а, в), метанол:вода (9:1) (б, г)

Пик	R_s для РАН		R_s для C_{18}	
	а	б	в	г
1 и 2	0.15	0.84	1.18	2.54
2 и 3	0.74	0.67	1.97	4.54

$$R_s = 2(t_{RY} - t_{RX}) / (w_{sY} + w_{sX}),$$

где t_{RY} и t_{RX} — времена удерживания соединений X и Y , w_{sY} и w_{sX} — ширина оснований пиков соединений X и Y .

Для обоснования выбора неподвижной (привитой) фазы хроматографической колонки для выделения копланарных ПХБ считаем необходимым показать нетипичное для обращенно-фазных колонок разделение трех изомеров ПХБ на колонке с привитой фазой РАН. Для сравнения приведено разделение этих же соединений на классической обращенно-фазной колонке C_{18} в тех же условиях. Наблюдается разный порядок выхода ПХБ: на РАН 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил выходит последним, а на C_{18} — первым. Добавление еще одного атома хлора к этому соединению в положение 2 приводит к тому, что 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенил на C_{18} удерживается сильнее, чем тетраизомер с меньшим количеством атомов хлора. На колонке РАН — наоборот. Увеличение полярности подвижной фазы (добавление 10 % воды) на колонке (привитой фазе) C_{18} приводит к более полному разделению пиков (оба коэффициента разделения увеличились примерно в 2 раза для обеих пар соединений). На колонке (привитой фазе) РАН коэффициент разделения между пиками 1 и 2 увеличился, а между пиками 2 и 3 — уменьшился, то есть разделение ухудшилось.

Для успешного выделения фракции копланарных ПХБ важны полярность подвижной фазы и условия хроматографирования соединений. На предыдущих хроматограммах (рис. 2) 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил элюируется последним ($t_R=4.3$ мин), а на хроматограмме, полученной в

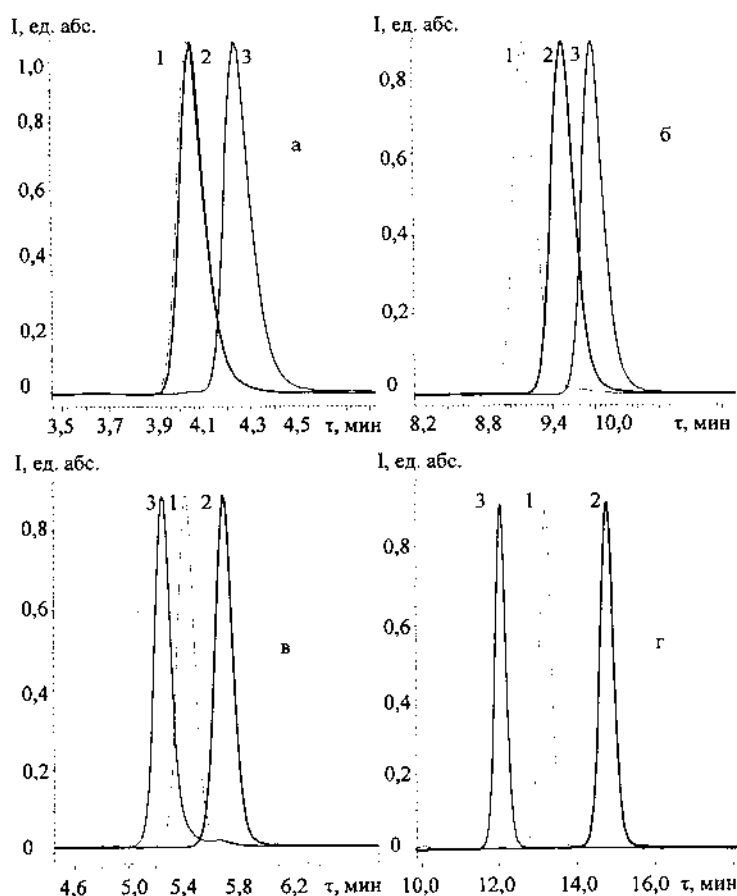


Рис. 2. Хроматограммы модельных растворов индивидуальных ПХБ, полученные на колонках с привитыми фазами РАН (а, б) и C_{18} (в, г). В качестве подвижной фазы использовали метанол (а, в) и смесь метанол:вода (9:1) (б, г). 1 — 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенил; 2 — 2,3',4,4',5-пентахлорбифенил; 3 — 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил.

градиентном режиме (рис. 3), наибольшее время удерживания у 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенила. Таким образом, в зависимости от условий, на колонке с привитой фазой РАН может изменяться порядок элюирования ПХБ. При этом изменяется и характер отделения копланарных ПХБ от общей массы ПХБ.

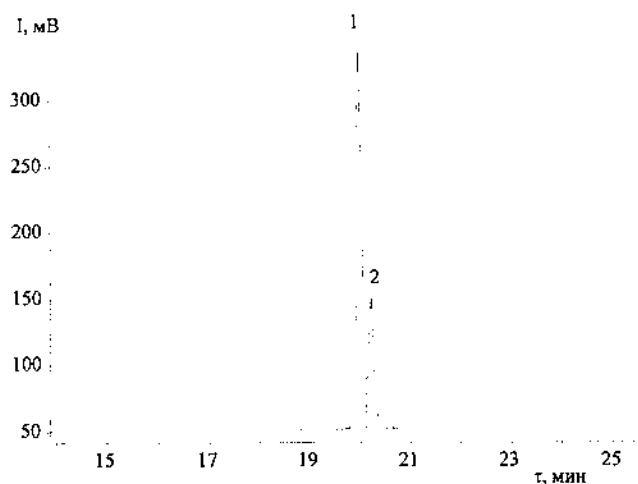


Рис. 3. Хроматограмма смеси 2,3,3',4,4'-пентахлор-, 2,3',4,4',5-пентахлор- и 3,3',4,4'-тетрахлорбифенила, полученная на колонке с привитой фазой РАН в градиентных условиях: 1 – 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил + 2,3',4,4',5-пентахлорбифенил; 2 – 2,3,3',4,4'-пентахлорбифенил.

“Аномальное” поведение ПХБ на данной привитой фазе можно показать сравнением разделения ПХБ на колонках C_{18} и РАН. Допустим, что на привитой фазе C_{18} ПХБ удерживаются только в зависимости от полярности: чем полярнее подвижная фаза, тем сильнее контакт молекул с привитым слоем, тем больше коэффициент емкости k' и тем лучше разделение пиков. Неподвижная фаза РАН — это фаза с привитыми полярированными ароматическими углеводородами (ПАУ), состоящая, в основном, из молекул, содержащих четыре бензольных кольца, ориентированных в одной плоскости. В этом случае определенный вклад в удерживание соединений вносит стерическое распознавание (π - π -взаимодействие) [6]. При умеренной полярности подвижной фазы между молекулами ПХБ и привитой неподвижной фазой устанавливается миграционное равновесие. При этом, независимо от полярности молекулы, копланарные ПХБ более глубоко проникают в привитый слой и сильнее с ним взаимодействуют, чем те молекулы ПХБ, у которых бензольные кольца ориентированы в разных плоскостях. Этим можно объяснить большие времена

удерживания копланарных ПХБ на колонке РАН по сравнению с изомерами с тем же количеством атомов хлора, входящими в состав смесей Aroclor.

Если подвижная фаза полярная, то молекулы, независимо от геометрической ориентации бензольных колец, более интенсивно взаимодействуют с привитым слоем и основным фактором, влияющим на их удерживание, становится полярность, а влияние стерического взаимодействия будет менее ощутимым по сравнению с другими механизмами удерживания. Поэтому на рис. 2, б степень разделения между пиками 2 и 3 ухудшается при повышении полярности подвижной фазы, то есть пик 3 выходит первым при хроматографировании на C_{18} и он перемещается по оси абсцисс, чтобы занять свое место перед пиком 2 (рис. 2, в), хотя в действительности этого не происходит в данных условиях хроматографирования. Изменяя хроматографические условия и полярность подвижной фазы, можно изменить порядок элюирования ПХБ на колонке РАН (рис. 3). Поэтому для успешного выделения копланарных ПХБ полярность подвижной фазы должна быть достаточно умеренной для проявления эффекта избирательного удерживания плоских молекул, но не слишком слабой, так как разделение может быть недостаточным из-за чрезмерной элюирующей силы подвижной фазы.

На рис. 1, е представлены хроматограммы смеси Aroclor 1221, 1242, 1254 и смеси 12 индивидуальных ПХБ в градиентном режиме на колонке с привитой фазой РАН. Видно, что хроматографирование в градиентном режиме существенно улучшает разделение между пиками ПХБ — увеличивает эффективность хроматографической колонки, но не увеличивает коэффициент отделения копланарных ПХБ ($\alpha = 2.35$ — 2.45).

На обращенно-фазных колонках мало удерживаются (хорошо отделяются) моно-, ди- и трихлоризомеры ПХБ, которые не мешают определению копланарных ПХБ методом ГХ/МС. Поэтому для оценки степени выделения копланарных ПХБ выбрали смесь Aroclor 1254, состоящую преимущественно из тетрахлор-, пентахлор-, гексахлор- и гептахлоризомеров ПХБ, которые мешают определению копланарных изомеров и хуже от них отделяются.

На хроматограммах смеси Aroclor 1254, полученных на колонках с привитыми фазами C_{18} (рис. 4, а) и РАН (рис. 4, б), обозначили 12 точек, соответствующих началу выхода каждого из 12 копланарных ПХБ (на колонке с привитой фазой РАН некоторые точки накладываются друг на друга). Таким образом, при переключении потока

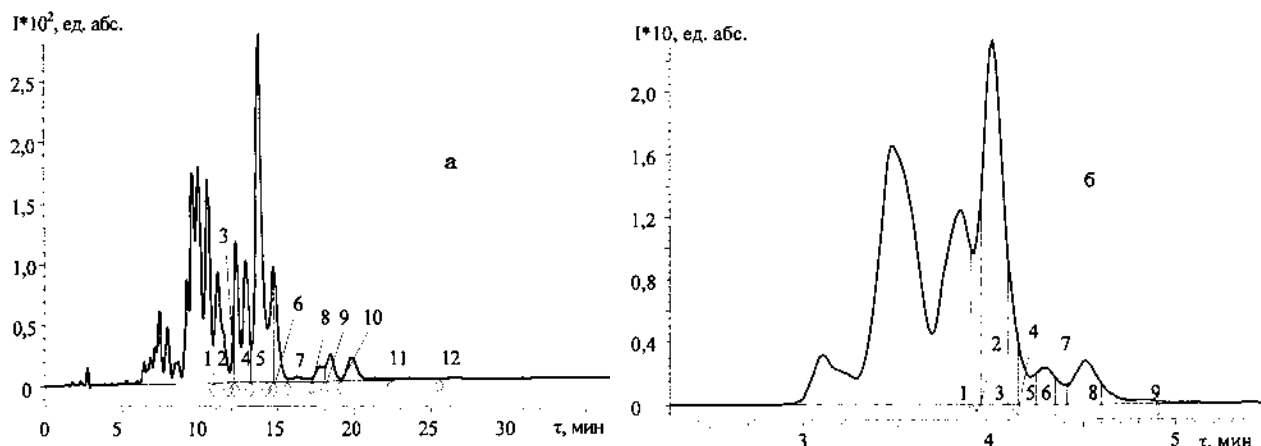


Рис. 4. На хроматограммах смеси Aroclor 1254 отмечены места начала выхода каждого из 12 копланарных ПХБ на колонках с привитыми фазами C_{18} (а) (обозначено цифрами 1–12) и РАН (б) (обозначено цифрами 1–9).

элюента в пробоотборник в обозначенный на хроматограммах момент времени достигается полное попадание данного соединения в собираемую фракцию (рис. 4).

Чтобы оценить степень очистки копланарных ПХБ от смеси Aroclor 1254, для всех пиков на хроматограмме проводили общую базовую линию и интегрировали как один пик, площадь которого принимали за 100 %. В точке, в которой следует начать собирать фракцию определенного копланарного ПХБ (или группы ПХБ), хроматограмму расщепляли на две части. Площадь половины хроматограммы, находящаяся слева, служит количественной мерой части смеси Aroclor 1254, от которой удалось очистить пробу, та, что находится справа — эквивалентна тому количеству ПХБ, которое попадет в пробу вместе с копланарными ПХБ. Допустив, что все изомеры ПХБ одинаково поглощают свет при $\lambda=250$ нм, получаем степень очистки целевых соединений нормализацией площадей двух частей хроматограммы. При препаративном выделении фракции копланарных ПХБ можно отделить группу соединений, состоящую из разного числа изомеров. Чем меньшее число изомеров выделяют, тем меньше в нее попадает мешающих определению копланарных ПХБ некопланарных изомеров. Степени очистки копланарных ПХБ при выделении на колонках C_{18} и РАН представлены в табл. 3.

Выделение одного изомера из смеси

ПХБ методом ВЭЖХ можно легко выполнить, собрав узкую фракцию элюата, в которую он попадает на колонке C_{18} . Дополнительная очистка на колонке с другой привитой функциональной груп-

Т а б л и ц а 3

Степень очистки копланарных ПХБ от смеси Aroclor 1254 при препаративном выделении на колонках РАН и C_{18}

Изомер ПХБ	РАН		C_{18}	
	Степень очистки, %	Количество изомеров*	Степень очистки, %	Количество изомеров*
3,4,4',5'-Тетрахлор	94.8	7	50.4	10
3,3',4,4'-Тетрахлор	88.0	10	41.4	12
2',3,4,4',5'-Пентахлор	90.9	9	87.5	7
2,3,4,4',5'-Пентахлор	92.9	9	83.2	8
2,3',4,4',5'-Пентахлор	63.6	11	62.0	9
2,3,3',4,4'-Пентахлор	58.9	12	48.8	11
3,3',4,4',5'-Пентахлор	98.9	3	92.8	6
2,3',4,4',5,5'-Гексахлор	95.4	6	96.6	3
2,3,3',4,4',5'-Гексахлор	95.4	6	93.4	5
3,3',4,4',5,5'-Гексахлор	100.0	1	99.2	2
2,3,3',4,4',5-Гексахлор	95.4	6	94.5	4
2,3,3',4,4',5,5'-Гептахлор	99.9	2	99.6	1

* Во фракцию копланарных ПХБ, вместе с выбранным изомером, можно собрать все остальные копланарные изомеры, степень очистки которых равна или больше степени очистки выбранного изомера. Например, если на колонке РАН выделять 3, 3', 4,4',5-пентахлорбифенил, во фракцию можно собрать еще 2,3,3', 4,4',5,5'-гептахлор- и 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенилы, причем степень очистки фракции будет равна 98.9 %. Открываемость изомеров во фракциях — 100 %.

пой (например, РАН) в большинстве случаев позволит существенно повысить чистоту нужного изомера, так как в механизм удерживания ПХБ включены другие факторы (например, π - π -взаимодействия и стерические затруднения), в результате чего профили хроматограмм сильно отличаются друг от друга. В случае выделения копланарных ПХБ для определения методом ГХ/МС задача усложняется тем, что нужно выделить сразу несколько ПХБ, желательнее в одну фракцию. Среди целевых соединений есть гомологи с количеством атомов хлора в молекуле 4—7. Как показано ранее, степень хлорирования ПХБ сильно влияет на их удерживание на колонках с привитыми группами C_{18} и РАН. Разница между целевыми и балластными соединениями состоит в геометрическом строении молекулы и именно это положено в основу их разделения: неподвижная фаза распознает плоские молекулы и взаимодействует с ними сильнее, чем с остальными. Вследствие этого копланарные тетрахлоризомеры удерживаются дольше, чем некопланарные тетрахлор-, пентахлор- и некоторые гексахлор- и гептахлорбифенилы. Такого разделения достаточно для их надежного определения методом ГХ/МС. Но для определения копланарных пентахлорбифенилов присутствие гексахлорбифенилов нежелательно, так как они могут помешать определению первых методом ГХ/МС. Во избежание этого, фракцию копланарных ПХБ можно разбить на две части и анализировать каждую из них отдельно, чтобы устранить подобные помехи. Исходя из задачи, имеющегося оборудования и с учетом изомерно-специфического состава реальных проб, можно выбрать, сколько и какие копланарные изомеры определять. Самыми токсичными для человека и млекопитающих являются 3,3',4,4',5-пентахлор- и 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенилы (индексы эквивалентной токсичности — 0.1 и 0.01 соответственно), для птиц — 3,4,4',5-тетрахлор-, 3,3',4,4'-тетрахлор- и 3,3',4,4',5-пентахлорбифенилы (индексы эквивалентной токсичности — 0.1, 0.05 и 0.1 соответственно) [7]. На колонке РАН можно выделить 10 из 12 копланарных ПХБ (включая все не орто-замещенные изомеры) со степенью очистки от смеси Aroclor 1254 — 88 %. Такая степень очистки позволяет надежно идентифицировать методом ГХ/МС все 10 соединений в образцах мышечной ткани рыб из Днепра. Если изомерно-специфический состав реальных проб такой, что в смеси присутствуют мешающие определению изомеры, фракцию копланарных ПХБ можно разбить на две части и каждую анализировать методом ГХ/МС отдель-

но. Например, в первую половину можно собрать 3,4,4',5-тетрахлор-, 3,3',4,4'-тетрахлор-, 2',3,4,4',5-пентахлор- и 2,3,4,4',5-пентахлорбифенил (эта фракция не содержит некопланарных тетрахлор- и пентахлорбифенилов, которые мешают определению), а во вторую — все изомеры, которые выходят после них. В этом случае степень очистки от Aroclor 1254 первой фракции (4 копланарных ПХБ) составит $100 - (95.4 - 88.0) = 92.6$, второй (6 копланарных ПХБ) — 95.4 % (см. табл. 3). Если нет возможности выделить копланарные ПХБ на колонке РАН, то это можно сделать на C_{18} (для лучшего разделения соединений в этом случае целесообразно использовать в качестве подвижной фазы смесь метанол:вода (9:1) либо градиентный режим), ограничившись при этом выделением самых токсичных изомеров, например, 3,3',4,4',5-пентахлор- и 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенила. Один цикл выделения длится около 30 мин. Степень очистки целевых соединений от смеси Aroclor 1254 составит около 99 %.

Концентраты ПХБ, препаративно выделенные из биоты на колонке C_{18} очищены от основной массы балластных соединений, таких, как жирные кислоты, углеводороды, стероиды и продукты их деградации, но могут содержать другие нежелательные вещества, например, хлорированные углеводороды в небольших концентрациях. При выделении фракции копланарных ПХБ пробы одновременно освобождаются от большей части оставшихся балластных соединений.

Учитывая характер проб (маленькие количества ПХБ в пробе, высокая устойчивость целевых соединений к физико-химическим воздействиям, поглощение света в УФ-диапазоне, близость физико-химических свойств целевых и балластных соединений), в качестве инструмента для пробоподготовки мы выбрали ВЭЖХ в аналитическом масштабе. Это дало возможность разработать методику выделения микроколичеств копланарных ПХБ с целым рядом преимуществ, которыми обладают современные высокоэффективные методы разделения перед выделением на колонках низкого давления. Разработана методика быстрого (1 хроматограмма занимает 6 мин) выделения копланарных ПХБ из смеси ПХБ на обращенно-фазной колонке с привитыми ПАУ. Одновременно с выделением фракции копланарных ПХБ происходит очистка пробы от оставшихся после минерализации и предварительной хроматографической очистки на C_{18} балластных веществ. Подобрана оптимальная подвижная фаза для выделения — метанол (либо метанол с добавлением небольшого

количества воды или неполярного органического модификатора, например, метиленхлорида) пропускает УФ-свет, подходит по полярности, объем фракции копланарных ПХБ составляет $1 \text{ см}^3/\text{цикл}$ и легко упаривается). Метод не требует больших затрат органических растворителей (на 1 цикл используется 5 см^3 метанола), простой в исполнении — можно детектировать элюирование соединений в режиме online и легко оптимизировать условия выделения, установить процент попадания каждого целевого соединения по хроматограммам УФ-детектора (не надо анализировать каждую фракцию методом ГХ/МС). Использование современного оборудования позволяет полностью автоматизировать этот этап подготовки проб. Данный метод имеет высокую производительность — возможность подготовить к анализу методом ГХ/МС пробу копланарных ПХБ за 20–25 мин.

РЕЗЮМЕ. Розроблено експресну методику препаративного виділення копланарних поліхлорованих біфенілів із сумішей Aroclor методом мікропрепаратив-

ної ВЕРХ в обернено-фазовому варіанті для подальшого визначення методом газової хроматографії/мас-спектрометрії.

SUMMARY. A rapid micropreparative HPLC method for isolation of coplanar polychlorinated biphenyls from Aroclor mixtures in reverse-phase mode was developed for further determination by means of gas chromatography/mass-spectrometry.

1. Скринник М.М., Милюкин М.В. // Укр. хим. журн. -2007. -73, № 10. -С. 105—109.
2. Бидлингмейер Б. Препаративная жидкостная хроматография. -М.: Мир, 1990.
3. Millennium Software User's Guide: Vol. 2. -USA: Waters Corporation, 1994.
4. Haglund P., Asplund L., Jarnberg U., Jansson B. // J. Chromatogr. -1990. -507. -С. 389—398.
5. Химия привитых поверхностных соединений / Под ред. Г.В. Лисичкина. -М.: Физматлит, 2003.
6. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. -Рига: Знание, 1988.
7. Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T.C. // Environmental Health Perspectives. -1998. -106, № 12. -P. 775—792.

ЗАО Трудовой коллектив Киевского предприятия по производству бактериальных препаратов "Биофарма", Киев
Институт коллоидной химии и химии воды
им. А.В. Думанского НАН Украины, Киев

Поступила 22.06.2006

УДК 546.1:535.379

О.В. Зуй

КОЭФФИЦИЕНТЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРА, БРОМА И ИОДА В СИСТЕМЕ ВОДА—ВОЗДУХ

Изучены коэффициенты распределения галогенов (хлор, бром, иод) между фазами вода—воздух. Использован метод динамической газовой экстракции воздухом растворенных в воде галогенов. Метод детектирования газообразных веществ в потоке — хемилюминесцентный, коэффициенты распределения $K_{LG}=C_L/C_G$ соответственно равны 377.3, 70.4, 37.0 при температуре $(21 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ при описанной в статье геометрии установки для газовой экстракции.

Важной характеристикой летучих и ограниченно-летучих веществ являются коэффициенты распределения их в системе вода—газовая фаза, в частности, воздух. Эти величины необходимо учитывать в газохроматографических исследованиях [1], в процессах реакционной газовой экстракции [2—7], при изучении обеззараживания и очистки воды (водоподготовка), в ряде производственных процессов. В газовой хроматографии часто опреде-

ляют коэффициенты распределения ряда органических веществ в системе вода—воздух [1]. При этом применяют различные детекторы — электрохимические, детекторы электронного захвата и др. Однако коэффициенты распределения многих веществ трудно найти в справочной литературе. В частности, коэффициенты распределения галогенов (Cl_2 , Br_2 , I_2) между фазами вода—воздух не табулированы.

© О.В. Зуй, 2007