

УДК 543.544

К.Г. Боголицын, Д.С. Косяков, А.Н. Шкаев, А.С. Почтовалова

Боголицын Константин Григорьевич родился в 1949 г., окончил в 1971 г. Архангельский лесотехнический институт, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой теоретической и прикладной химии Архангельского государственного технического университета, директор Научно-исследовательского института химии и химической технологии при АГТУ, академик МАНЭБ и РАИН, заслуженный деятель науки РФ. Имеет более 250 научных трудов в области разработки физико-химических основ процессов переработки древесины.



Косяков Дмитрий Сергеевич родился в 1972 г., окончил в 1994 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат химических наук, доцент кафедры теоретической и прикладной химии Архангельского государственного технического университета. Имеет около 20 печатных работ в области физикохимии неводных растворов.



Шкаев Андрей Николаевич родился в 1970 г., окончил в 1993 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат химических наук, доцент кафедры теоретической и прикладной химии Архангельского государственного технического университета. Имеет 15 научных трудов в области исследования химии лигнинов.



ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ФЕНОЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ СТОЧНЫХ ВОД ЦБП

Предложено использовать метод обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии для изучения качественного и количественного состава фенольных компонентов сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности.

Ключевые слова: ВЭЖХ, фенолы, сточные воды.

Современная жидкостная хроматография высокого давления – один из наиболее эффективных методов анализа и разделения сложных смесей, какими являются промышленные сточные воды. Важнейшее преимущество

этого метода по сравнению с газовой хроматографией – возможность исследования практически любых объектов без ограничений по их физико-химическим свойствам, например по температуре кипения или молекулярной массе.

Разработка методики разделения сложных многокомпонентных систем должна включать предварительные исследования со следующими основными этапами: выбор варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и его аппаратного оформления, выбор сорбента и состава элюента, анализ модельных смесей и установление характеристик удерживания их компонентов.

Выбор способа хроматографии. В литературе описаны различные варианты хроматографического разделения фенольных соединений методом ВЭЖХ: ионообменная на анионитах и катионитах [2], эксклюзионная с использованием полужестких и жестких гелей [4], адсорбционная на силикагеле и оксиде алюминия [6], распределительная [5]. На наш взгляд, применительно к задаче анализа родственных лигнину фенолов, содержащихся в стоках ЦБП и характеризующихся близкими величинами констант ионизации и размеров молекул, могут быть реализованы только два последних метода. Как адсорбционный, так и распределительный методы должны приводить к сходным результатам, однако использование полярных сорбентов (таких как силикагель) имеет ряд недостатков, существенных для решения поставленной задачи. К ним относятся, прежде всего, высокая чувствительность к влажности образца и растворителей, крайне медленное установление равновесия при изменении состава элюента и, как следствие, худшая воспроизводимость результатов и более низкая селективность разделения по сравнению с распределительной хроматографией. Последняя применяется в настоящее время наиболее широко и использует сорбенты на основе силикагеля с привитой углеводородной фазой, полностью покрывающей их поверхность, что делает ее неполярной. Это подразумевает использование полярного элюента и разделение соединений по их полярности за счет распределения между двумя фазами в хроматографической колонке. Важнейшее преимущество данного метода – его применимость для анализа смесей близких гомологов органических соединений, в том числе фенолов [3]. В связи с этим была выбрана обращенно-фазная распределительная хроматография.

Аппаратурное оформление. Для экспериментов использовали серийно выпускаемые микроколоночные хроматографы «Милихром-1» (ПО «Научприбор», Россия) со шприцевым изократическим насосом (объем 2500 мкл), оснащенным шаговым двигателем, который обеспечивает максимальное давление в хроматографической системе 10 МПа, и спектрофотометрическим УФ-детектором. Применение других детекторов нецелесообразно, поскольку все фенолы характеризуются интенсивным поглощением в области 200 ... 300 нм. Разделение осуществляли в стальной промышленно изготовленной аналитической колонке КАХ-2 (длина 62 мм, внутренний

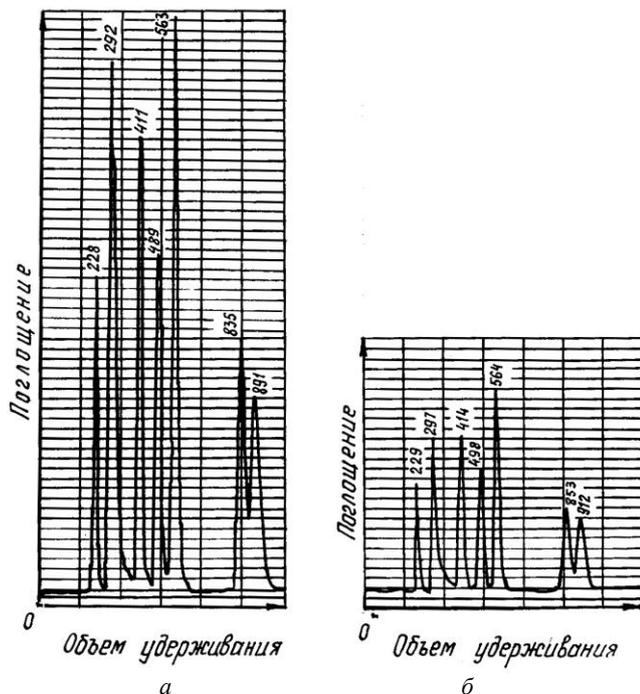
диаметр 2 мм). Регистрацию хроматограмм проводили на малоинерционном линейном самописце TZ («Laboratorní přístroje», Чехия).

Выбор сорбента и элюента. В колонке в качестве сорбента использовали обращенно-фазный Сепарон-С18 с октадецильной привитой фазой и размером зерен 5 мкм, что обеспечивает эффективность разделения на уровне 2 – 4 тыс. теоретических тарелок. По литературным данным [1], основными системами растворителей для проведения анализов на таких сорбентах являются водные растворы метанола или ацетонитрила, отличающиеся невысокой вязкостью и возможностью варьирования элюирующей силы в весьма широких пределах. По соображениям доступности и безопасности была выбрана система ацетонитрил – вода. Для подавления процессов диссоциации наиболее кислых фенолов в полярном растворителе и размывания хроматографических пиков использовали 1 %-ую уксусную кислоту. Для приготовления элюента применяли дистиллированную воду и ацетонитрил марки «для ВЭЖХ» с поглощением сантиметрового слоя при 200 нм не выше 0,08 ед. оптической плотности. Предварительные эксперименты показали, что при концентрациях ацетонитрила в элюенте выше 30 % (масс.) его элюирующая сила оказывается слишком большой для достижения удовлетворительной селективности разделения (наиболее полярные фенолы совместно покидают колонку вместе с фронтом растворителя). Однако достижение высокой селективности разделения за счет снижения концентрации органического соразтворителя ниже 20 % (масс.) ведет к нерациональному увеличению объемов удерживания хроматографируемых соединений (больше рабочего объема насоса), что усложняет методику и снижает эффективность за счет большего размывания хроматографических зон. В связи с этим предложен оптимальный состав элюента: 25 %-й раствор ацетонитрила в 1 %-й уксусной кислоте.

Хроматография модельных смесей. На основе анализа литературных данных в качестве фенольных соединений, моделирующих состав фенольной фракции сточных вод ЦБП, были выбраны следующие вещества: гидрохинон (I), ванилиновый спирт (II), пирокатехин (III), ванилин (IV), ацетованилон (V), фенол (VI), гваякол (VII), 2,6-диметоксифенол (VIII), *m*-крезол (IX), *o*-крезол (X) и крезол (XI).

Для проведения хроматографии в колонку вводили пробу объемом от 1 до 4 мкл с содержанием указанных фенолов 0,05 ... 0,30 % (масс.), растворенную в смешанном растворителе ацетонитрил – вода. Разделение проводили при скорости потока 50 мкл/мин в изократическом режиме, детектирование – по длинам волн 280 и 220 нм.

На рисунке представлены хроматограммы сложной смеси семи модельных фенолов для разных объемов вводимой пробы. Параллельные опыты демонстрируют хорошую воспроизводимость результатов – отклонение в положении хроматографических пиков не превышает 10 мкл в диапазоне температур 15 ... 25 °С.



Хроматограммы смеси фенолов II, III, IV, VI, VII, IX, X, расположенные (слева направо) в порядке возрастания удерживания (скорость разверстки – 167 мкл на 1 деление; масштаб по вертикали – 0,064 ед. плотности на 1 деление; длина волны – 280 нм):
а – объем пробы 3 мкл; *б* – 1 мкл

По полученным данным рассчитаны характеристики удерживания (объем удерживания $V_{уд}$, полуширина пика $W_{1/2}$), эффективности (число теоретических тарелок N для каждого соединения), селективности α и разрешения R_s (для соседних пиков), представленные в табл. 1.

Таблица 1

Параметры разделения модельной смеси фенолов

Вещество	$V_{уд}$, мкл	$W_{1/2}$, мкл	N	R_s	α
I	217	8,5	3600	–	–
II	229	16,5	1100	0,48	1,32
III	292	21,0	1100	1,68	2,29
IV	412	25,0	1500	2,61	2,07
V	451	25,0	1800	0,78	1,17
VI	500	25,0	2200	0,98	1,18
VII	563	29,0	2100	1,17	1,20
VIII	635	31,0	2300	1,20	1,19
IX	850	33,5	3600	3,34	1,47
X	917	41,5	2700	0,89	1,10
XI	967	41,5	3000	0,60	1,07

Таблица 2

Пределы обнаружения фенолов при детектировании для $\lambda = 280$ нм

Вещество	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Предел обнаружения, мкг	0,10	0,10	0,20	0,04	0,05	0,25	0,14	0,20	0,20	0,30	0,16

Расчеты на основе полученных данных показывают линейную зависимость как интенсивности хроматографических пиков, так и их интегральной интенсивности (определяемой по площади пика) от количества вводимого образца, что позволяет с высокой точностью проводить количественные определения. Нами рассчитаны пределы обнаружения исследуемых фенолов на основе определенных интенсивностей поглощения при 280 нм и параметров чувствительности хроматографа (табл. 2).

Поскольку поглощение большинства ароматических соединений при 220 нм значительно выше, чем при 280 нм, переход на более коротковолновое детектирование позволяет повысить чувствительность метода в среднем в 2 раза. Полученные результаты свидетельствуют о линейной зависимости интенсивности пиков от количества вещества при переходе к другой волне.

За 2001 г. по разработанной нами методике проанализировано 55 проб фракций летучих фенолов сточных вод Архангельского ЦБК. При подготовке к анализу исходную пробу перегоняли (на 1/2 с рассеивающего потока и на 3/4 с усреднителя и третьей очереди сульфатного производства), отгон подкисляли и экстрагировали диэтиловым эфиром. После экстракции эфир отгоняли, полученный остаток растворяли в 100 мкл 25 %-го водного раствора ацетонитрила. Аликвотную часть полученной пробы объемом 10 мкл (для рассеивающего потока) или 5 мкл (для усреднителя и локальных стоков третьей очереди) вводили в хроматографическую колонку. Определение вели в изократическом режиме при постоянной температуре колонки 25 °С, поддерживаемой жидкостным термостатом. Хроматографические пики детектировали по поглощению ультрафиолетового излучения с длиной волны 280 нм, полученные хроматограммы регистрировали при помощи самописца. Скорость потока элюента составляла 50 мкл/мин.

Пики идентифицировали по объемам удерживания, которые получены путем анализа модельных смесей фенолов, родственных лигнину (фенол, гваякол, креозол, 2,6-диметоксифенол, ванилин, ванилиновый спирт, гидрохинон, пирокатехин, ацетованилон, *o*-крезол, *l*-крезол). Количественный анализ проводили по высотам пиков с использованием определенных нами ранее коэффициентов пересчета оптической плотности в массу соединения (индивидуальный для каждого компонента). На рисунке представлена типичная хроматограмма анализируемой пробы. Хроматограммы показывают достаточно хорошее разделение пиков и высокую эффективность системы при выбранных условиях анализа (рассчитанная эффективность колонки для приведенных данных составляла не менее 2000 теоретических тарелок). Обобщенные данные для проб с рассеивающего потока представлены в табл. 3, с усреднителя – в табл. 4.

Таблица 3

Обобщенные данные для проб с рассеивающего потока

Вещество	Концентрация вещества в исходной пробе, мкг/л												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I	–	–	–	–	–	–	0,92	0,85	–	1,64	0,62	0,88	1,24
II	0,55	0,62	0,62	0,66	0,59	0,54	1,24	–	0,39	–	–	–	0,80
III	–	–	–	–	–	–	0,42	0,17	0,22	1,24	0,56	1,18	0,90
IV	–	0,17	0,13	0,14	–	–	0,11	0,06	0,07	0,28	–	0,24	0,52
V	0,44	0,27	0,29	0,32	0,38	0,44	0,21	0,15	0,06	0,22	0,20	0,44	0,20
VI	1,56	–	–	–	–	–	1,49	1,17	0,69	2,00	1,20	1,60	2,00
VII	0,63	0,41	0,38	0,49	0,71	0,75	–	0,37	0,21	–	0,60	0,66	0,78
VIII	–	–	–	–	–	–	3,49	1,47	–	3,60	3,32	–	4,20
IX	–	–	–	–	0,90	1,66	0,96	0,37	–	0,98	–	0,98	–
X	–	–	0,85	–	1,37	2,99	2,05	–	0,63	–	–	–	0,63
XI	–	–	–	–	–	–	–	1,16	–	0,70	–	–	–

Таблица 4

Обобщенные данные для проб с усреднителя

Вещество	Концентрация вещества в исходной пробе, мкг/л												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I	1,25	–	1,28	1,70	–	–	1,07	–	–	3,61	0,82	0,68	0,57
II	–	0,41	–	–	–	0,65	0,99	0,54	0,67	2,73	0,54	–	–
III	–	–	–	1,43	–	–	–	–	–	2,44	0,50	0,50	0,75
IV	0,17	0,13	0,28	–	–	–	–	0,31	0,12	0,55	0,28	0,06	0,28
V	0,29	0,23	1,15	0,40	0,38	0,15	0,61	0,44	–	–	0,30	0,20	–
VI	1,83	0,81	3,76	2,13	1,79	0,89	7,91	2,29	3,76	4,01	1,20	2,00	2,39
VII	2,55	1,64	13,6	2,27	3,16	0,20	2,38	2,34	0,79	–	0,52	0,52	0,52
VIII	–	6,79	9,05	3,60	4,86	–	–	–	–	–	–	–	2,13
IX	1,24	0,66	1,83	–	–	1,33	8,30	–	–	–	1,30	1,62	–
X	–	–	–	–	–	1,39	–	–	–	–	–	–	1,09
XI	1,90	0,83	1,84	–	–	–	1,19	1,11	–	–	–	0,94	0,98

Табл. 5 содержит общие данные для локальных стоков третьей очереди. Номера проб в табл. 3–5 (с 1 по 13) соответствуют разным точкам и дням отбора. Как видно из табл. 3–5, в пробах присутствует большое число фенольных компонентов (как правило 12–16), при этом значительная их часть не поддается идентификации, представляя собой, возможно, продукты окисления либо продукты окислительной радикальной димеризации исходных структурных единиц лигнина. Наибольшая доля присутствующих в исследуемых стоках фенольных соединений приходится на фенол, гваякол, 2,6-диметоксифенол и ацетованилон. При этом их соотношение меняется в достаточно широких пределах в зависимости как от времени отбора, так и от вида изучаемого потока. Так, в рассеивающем потоке понижены концентрации всех указанных соединений, за исключением ацетованилона, который, по всей видимости, образуется при окислительной деградации других фенольных структур в процессах биологической очистки.

Влияние технологического режима на состав сточных вод отчетливо прослеживается на образцах, полученных с локальных стоков третьей

Таблица 5

Веще- ство	Концентрация вещества в исходной пробе, мкг/л												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I	1,56	0,87	–	–	–	–	–	–	1,36	2,48	–	1,62	0,85
II	–	–	–	–	–	–	0,94	1,21	–	2,72	0,68	–	–
III	–	–	–	–	–	–	–	1,86	–	3,00	0,50	1,12	0,60
IV	0,36	0,20	–	0,37	–	–	0,40	0,34	0,11	0,70	0,40	0,40	1,00
V	0,93	0,32	3,45	–	0,26	0,41	0,57	0,46	2,73	0,59	–	0,22	–
VI	4,37	1,62	2,44	5,67	–	3,58	5,97	6,19	2,09	10,0	1,60	2,40	–
VII	4,19	0,60	1,17	2,25	0,53	1,64	17,4	7,96	1,64	–	–	–	0,78
VIII	16,9	4,04	8,62	10,8	2,70	7,20	–	–	–	6,50	3,60	5,76	2,88
IX	0,83	–	–	–	0,81	–	0,56	1,08	–	0,64	1,30	1,30	–
X	–	–	2,27	1,81	2,27	–	–	–	–	–	–	–	0,48
XI	1,31	0,71	–	–	–	–	–	–	–	0,47	0,70	0,70	–

очереди сульфатного производства. Преобладание лиственного сырья приводит к повышенному содержанию 2,6-диметоксифенола по сравнению с гваяколом, что легко объяснимо, поскольку лиственные лигнины построены из синрингильных структур, родоначальником которых и является VIII.

В табл. 5 данное положение иллюстрируют результаты анализов проб 4 (преобладание лиственного сырья) и 5 (преимущественно хвойное сырье). Сточные воды, прошедшие биологическую очистку (рассеивающий поток), характеризуются пониженным содержанием фенольных компонентов, особенно это касается фенола и гваякола. Использование бесхлорного режима отбелики (пробы 2 и 3) приводит к значительному понижению концентрации фенола и гваякола во всех исследованных потоках сточных вод, практически не влияя на концентрацию 2,6-диметоксифенола.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии / Пер. с англ. под ред. А. Хеншен. – М.: Мир, 1988. – 688 с.
2. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам / Под ред. О. Микеша. – М.: Мир, 1982. – Т. 1. – 400 с.
3. Стыскин Е.Л., Ицксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. – М.: Химия, 1986. – 288 с.
4. Хроматографический анализ в химии древесины / Под ред. В.Н. Сергеевой. – Рига: Зинатне, 1975. – 353 с.
5. Энгельгард Х. Высокоэффективная жидкостная хроматография. – М.: Мир, 1979. – 347 с.
6. Muller H., Engelgardt H., Molnar I. Practical aspects of modern HPLC. – Berlin, 1982. – 254 p.

Архангельский государственный
технический университет
Поступила 1.10.02

K.G. Bogolitsyn, D.R. Kosyakov, A.N. Shkaev, A.S. Pochtvalova
**High-performance Liquid Chromatography of Phenolic Components
of PPI Effluents**

A method of high-performance inverted-phase liquid chromatography has been suggested for use to study qualitative and quantitative composition of phenolic components of effluents of pulp-and-paper industry.