

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ 4-НОНИЛФЕНОЛА В ПРИРОДНЫХ ВОДАХ МЕТОДОМ высокоэффективной ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

**Предложена методика определения 4-нонилфенола в природных водах, основанная на излечении его хлористым метиленом при pH 2 и использовании йодида калия в качестве высаливателя, с последующим анализом методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена оценка содержания 4-нонилфенола в природных водах Приморского края.**

## Введение

Соединения группы алкилфенолов присутствуют в сточных водах крупных промышленных центров, и их содержание может достигать высоких значений в прибрежных морских акваториях [1]. Соединения этого класса оказывают негативное влияние на живые организмы. Одним из представителей класса алкилфенолов является 4-нонилфенол, запрещенный к сбросу в Российской Федерации [2]. По данным исследований, проведенных в различных регионах, содержание алкилфенолов в природных водах и донных отложениях варьирует от 0,1 до 1000 нг/кг [3–6]. Аналитическое определение алкилфенолов затрудняется из-за их невысокой концентрации в исследуемых объектах, разбавлением и зачастую высоким солевым фоном образца. Поэтому перед определением 4-нонилфенола необходимо его предварительное концентрирование. Методы выделения и концентрирования алкилфенолов обычно сводятся к применению экстракции органическими растворителями [7]. Целью настоящей работы является исследование влияния различных факторов (экстрагирующего растворителя, кислотности среды, высаливателя) на полноту экстракции 4-нонилфенола из растворов с высоким солевым фоном и определение его содержания в природных водах.

## Материалы и методы исследования

Для контроля кислотности среды использовали pH-метр «HANNA pH-2010». Разделение компонентов анализируемых смесей проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Shimadzu LC-10 ADV» (Япония), с флуоресцентным детектором RF-10AXL (длины волн: возбуждения – 230 нм, эмиссии – 320 нм), колонка Discovery C18 (25 см × 0,46 см, 5 мкм). Элюент ацетонитрил:вода (90:10 об./об).

Для проведения экстракции применяли: хлористый метилен (хч), четыреххлористый углерод (осч), бензол (хч), гексан (хч), н-пентанол (хч). Основной стандартный раствор концентрацией 1000 мкг/мл (Сисх) готовили растворением точной навески 4-нонилфенола в ацетонитриле и хранили при температуре -18 °С не более 10 сут. В качестве модельной среды использовали искусственную морскую воду (ИМВ), приготовленную согласно [8]. Для этого навески сухих солей (табл. 1) растворяли в 500 мл дистиллированной воды.

**Таблица 1**

Содержание солей в ИМВ (в пересчете на 10 л воды)

Компонент	Навеска, г
NaCl	276,0
MgSO <sub>4</sub> · 6H <sub>2</sub> O	69,0
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	13,8
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	54,0
KCl	6,0
NaHCO <sub>3</sub>	2,1

**А.С. Кондакова\***,  
аспирант Школы  
естественных наук,  
ФГАОУ ВПО  
Дальневосточный  
федеральный  
университет

**А.П. Черняев**,  
кандидат химических  
наук, старший  
научный сотрудник,  
ФГУП  
«ТИНРО-Центр»

**Л.И. Соколова**,  
кандидат химических  
наук, профессор  
кафедры физической  
и аналитической химии  
Школы естественных  
наук ФГАОУ ВПО  
Дальневосточный  
федеральный  
университет

\* Адрес для корреспонденции: kondakovasasha@mail.ru

Полученный раствор помещали на ультразвуковую баню на 5 мин и разбавляли дистиллированной водой до 10 л. Экстракцию проводили из пробы воды объемом 1 л. В две параллельные пробы вносили по 100 мкл раствора 4-нонилфенола с концентрацией 1000 мкг/мл, третья – контрольная. 4-нонилфенол экстрагировали двумя порциями растворителя по 20 мл. Органический слой отделяли от анализируемой пробы с помощью делительной воронки. Полученные экстракты фильтровали через слой безводного сульфата натрия и упаривали досуха на ротаторном испарителе при пониженном давлении на водяной бане. Полученный сухой остаток перерастворяли в 1 мл ацетонитрила. Для изучения влияния кислотности среды на полноту экстракции готовили серию модельных растворов с различным значением pH. Исследование влияния высаливателей проводили добавлением солей калия с концентрацией 0,2 моль/л. В 1 л ИМВ, содержащей 100 нг 4-нонилфенола добавляли концентрированную соляную кислоту до pH 2, затем вносили рассчитанную навеску соли (табл. 2).

**Таблица 2**

Масса высаливателя

Соль	Мг, г/моль	$m_{\text{навески}}, \text{ г}$
KBr	119	23,8
KCl	74,5	14,9
KI	166	33,2

## Результаты и их обсуждение

*Выбор условий хроматографического разделения*

Основную роль в выборе условий хроматографического разделения играют физико-химические свойства определяемого вещества. Алкилфенолы обычно разделяют, используя сорбенты, модифицированные алкильными группами ( $C_8$ ,  $C_{18}$ ). Это позволяет вести анализ высоко полярных соединений, а также широко варьировать полярностью элюента. Хроматографическое определение 4-нонилфенола проводили в обращенно-фазовом режиме. При выборе элюента исследованы различные подвижные фазы: содержащие метиловый, этиловый спирты, ацетонитрил, воду и уксусную кислоту при различном соотношении компонентов. Исследованные элюенты представлены в табл. 3. При использовании водно-спиртовой смеси аналитическое определение затруднено из-за несимметричности пика

**Ключевые слова:**

4-нонилфенол,  
ОФ ВЭЖХ,  
природные воды

4-нонилфенола. Использование фазы ацетонитрил – этиловый спирт – вода – уксусная кислота (50:30:19:1, об/об) также не дало положительных результатов из-за невозможности детектирования пика 4-нонилфенола. По-видимому, понижение значения pH элюента снижает степень диссоциации 4-нонилфенола и увеличивает содержание молекулярной формы, что в свою очередь приводит к увеличению времени удерживания.

При использовании подкисленных элюентов эффективность разделения низкая, а пики несимметричны. Оптимальный вариант достигали при использовании системы ацетонитрил – вода (90:10, об/об), при этом форма пика симметрична, а параметры удерживания оптимальны (рис. 1).

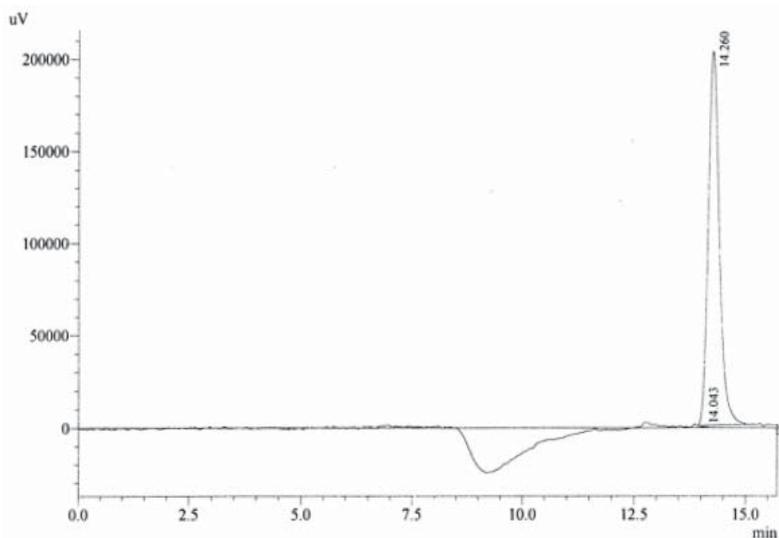
*Выбор длины волны*

Практически все алкилфенолы имеют высокий коэффициент молярного поглощения в ультрафиолетовой области спектра. Выбор длины волны основан на спектре поглощения 4-нонилфенола (рис. 2).

**Таблица 3**

Характеристика подвижных фаз при определении 4-нонилфенола

Подвижная фаза	Фактор емкости 4-нонилфенола $k'$
Этиловый спирт – вода – уксусная кислота (48:50:2)	Вершина пика «размыта»
Ацетонитрил – вода – уксусная кислота (50:49:1)	Вершина пика «размыта»
Ацетонитрил – вода (90:10)	0,66
Ацетонитрил – вода (95:5)	0,33
Ацетонитрил (100)	0,21
Ацетонитрил – этиловый спирт – вода – уксусная кислота (50:30:19:1)	Отсутствие пика на хроматограмме



**Рис. 1.** Хроматограмма стандартного раствора 4-нонилфенола.

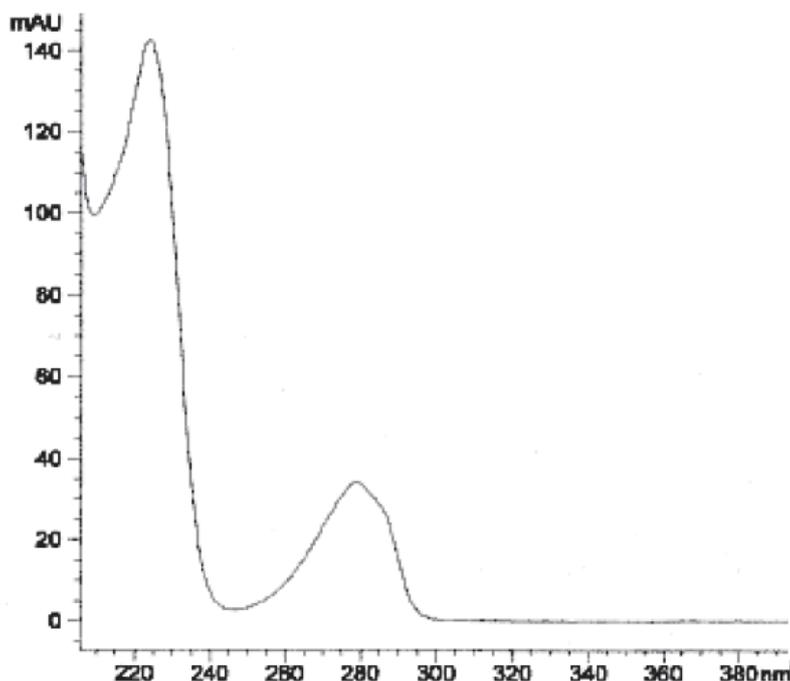


Рис. 2. Спектр поглощения 4-нонилфенола в УФ-области.

Спектр имеет два максимума поглощения в ультрафиолетовой области – 224 и 273 нм. Использование длин волн до 230 нм связано с определенными трудностями, поэтому анализ проводили при длине волны 273 нм.

#### Определение минимально-детектируемого количества

Минимально-детектируемым количеством считали количество 4-нонилфенола, при котором соотношение сигнал:шум не превышало 3;1. Определяли минимально-детектируемые количества 4-нонилфенола для двух детекторов.

Минимально-детектируемое количество 4-нонилфенола при использовании диодной матрицы составило 18,2 нг, при использовании флуоресцентного детектора – 1 нг. Таким образом, при определении 4-нонилфенола использование флуоресцентного детектора позволяет увеличить предел обнаружения анализируемого соединения.

#### Выбор условий экстракции 4-нонилфенола

Определяли степень извлечения 4-нонилфенола при использовании различных экстрагентов. В качестве модельного раствора использовали ИМВ, в качестве экстрагентов – бензол, гексан, н-пентанол, четыреххлористый углерод, хлористый метилен.

На рис. 3 представлен график зависимости степени извлечения 4-нонилфенола от диэлектрической проницаемости используемого растворителя.

Наиболее полное извлечение наблюдалось при использовании н-пентанола, имеющего

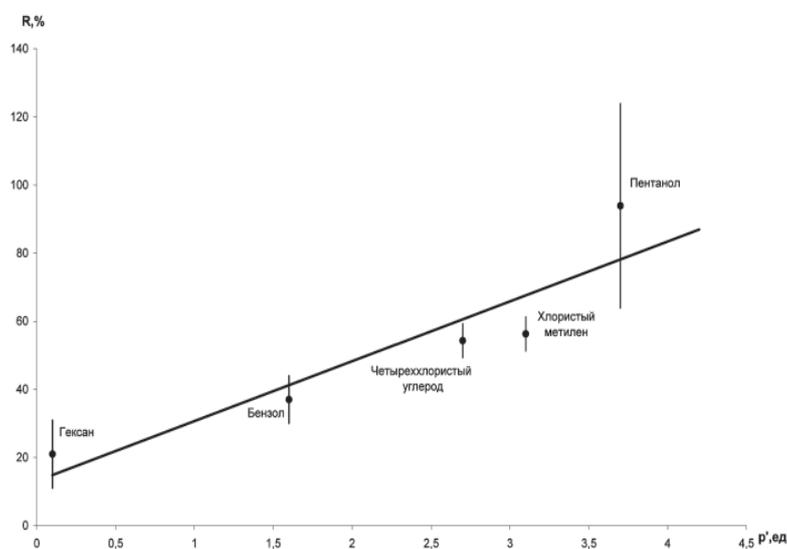
наиболее высокое значение диэлектрической проницаемости. Однако н-пентанол образует плохо разделяющиеся эмульсии, что делает результаты извлечения невоспроизводимыми. Наиболее оптимальным в качестве экстрагента является хлористый метилен – он не образует эмульсий с водой, степень извлечения целевого компонента близка по степени извлечения с н-пентанолом.

#### Влияние pH среды

При изучении влияния pH среды на степень извлечения 4-нонилфенола варьировали значения pH от 1 до 14. На рис. 4 представлена кривая зависимости влияния значения pH среды на полноту извлечения 4-нонилфенола и рассчитанные значения степени диссоциации 4-нонилфенола в ИМВ. При значении pH от 1 до 11 степень извлечения не изменяется, при  $\text{pH} > 11$  – уменьшается. По-видимому, недиссоциированные молекулы 4-нонилфенола и его ионы неодинаково экстрагируются органическими растворителями из водных растворов ( $\text{pK}_a = 10,7 \pm 1,0$ ) [9].

При экстракции недиссоциированные молекулы переходят в органическую фазу, а гидратированные ионы остаются в водной фазе. На поведение кривой, описывающей зависимость, оказывает влияние «солевой фон» ИМВ. Наиболее эффективное извлечение наблюдается при значении pH среды до 3, т.к. на этом участке диссоциация 4-нонилфенола практически полностью подавлена и извлечение проходит максимально эффективно. Однако при  $\text{pH} < 2$  наблюдается значительный разброс результатов эксперимента. Оптимальным для экстракции 4-нонилфенола было выбрано значение pH 2.

Рис. 3. Зависимость степени извлечения (R) 4-нонилфенола от полярности ( $\epsilon'$ ) экстрагентов.



**Таблица 4**

Метрологическая характеристика количественного определения 4-нонилфенола

n	f	$\bar{X}$	S <sup>2</sup>	S	S <sub>r</sub>	P, %	t (p, f)	Δ	ε, %
9	8	99,00	24,01	4,9	0,0495	95	2,306	3,77	3,73

где n – количество измерений;  
 f – число степеней свободы (f = n - 1);  
 $\bar{X}$  – среднее значение концентрации 4-нонилфенола, мкг/мл;  
 S<sup>2</sup> – дисперсия выборки;  
 S – среднее квадратичное отклонение;  
 S<sub>r</sub> – относительное стандартное отклонение;  
 P – доверительная вероятность;  
 t (p, f) – коэффициент Стьюдента;  
 Δ – систематическая погрешность (правильность);  
 ε – ошибка определения.

#### Влияние сильных электролитов

Прибавление сильных электролитов к водному раствору исследуемого вещества может понижать или повышать его растворимость в воде. Высаливание объясняется химическим взаимодействием высаливателей и высаливаемых веществ в экстракционных системах. В результате этого могут образовываться соединения или комплексы, хорошо растворимые в воде, которые не экстрагируются органическими растворителями.

В качестве высаливателей использовали соли калия, концентрация солей в модельной среде составляла 0,2 М. Ионы высаливателя с малым радиусом имеют большую плотность заряда, чем ионы с большим радиусом. Поэтому ионы с малым радиусом гидратируются лучше, а их высаливающее действие меньше, чем у крупных ионов. Максимальный радиус из исследуемых анионов-высаливателей имеет йодид-ион, минимальный – хлорид-ион. Причем увеличение

радиуса анионов с 1,81 до 2,16 приводит к увеличению степени извлечения 4-нонилфенола более чем в три раза. Поэтому целесообразно использовать в качестве высаливателя йодид калия.

Метрологическая характеристика количественного определения 4-нонилфенола приведена в табл. 4.

#### Содержание 4-нонилфенола в природных водах Приморского края

Предложенная методика применена для определения содержания 4-нонилфенола в природных водах Приморского края. Пробы воды отбирали в теплый период (апрель-ноябрь 2010 г.) на станциях, представленных на рис. 5.

Пробы природных вод отбирали в стеклянные бутылки, консервировали 1 мл концентрированной соляной кислоты и 1 мл хлороформа. Результаты исследования представлены в табл. 5.

Показано, что наименее загрязненной 4-нонилфенолом из исследуемых акваторий является центральная часть и западное побережье Амурского залива. Восточное побережье в плане загрязнения относительно благополучно, а наиболее загрязненными являются бухта Золотой Рог и р. Объяснения.

Воды залива Петра Великого загрязняются сбросами недостаточно очищенных хозяйственно-бытовых стоков населенных пунктов и сточных вод промышленных предприятий. Основными загрязнителями являются предприятия электроэнергетики, коммунального хозяйства, химической промышленности, машиностроения и металлообработки.

В течение года в воды Амурского залива и прилегающие акватории происходит сброс большого количества сточных вод. По данным государственной статистики в Амурский залив ежегодно поступает 46332,96 тыс. м<sup>3</sup>, в бухту Золотой Рог – 23480,27 тыс. м<sup>3</sup>, из них 8222,83 тыс. м<sup>3</sup> со стоком р. Объяснения. Все сбрасываемые сточные воды отнесены к категории «загрязненные, без очистки» в их состав входят такие загрязняющие вещества, как нефтеуглеводороды (29,9 т/г.), фенолы (2,96 т/г.), СПАВ (86,37 т/г.) и др.

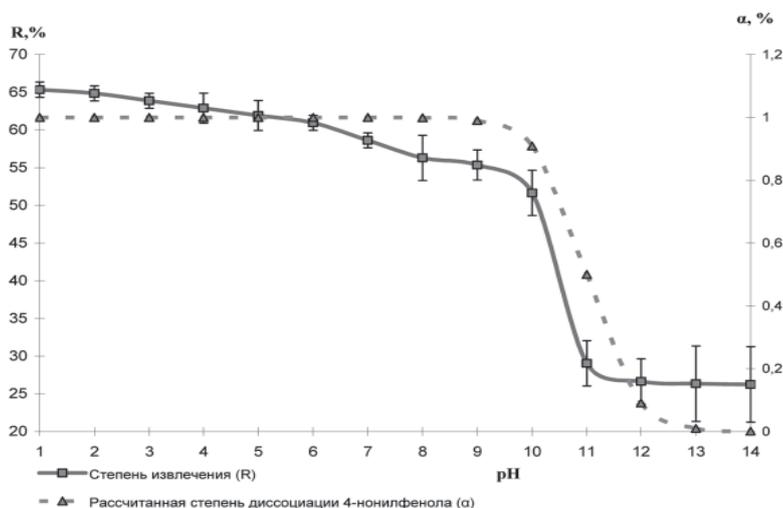


Рис. 4. Влияние pH среды на полноту извлечения 4-нонилфенола.



Рис. 5. Карта расположения станций отбора проб.

Таблица 5

Содержание 4-нонилфенола в природных водах Приморского края

Место пробоотбора, № станции	Содержание (мкг/л)
Бухта Золотой Рог, № 1, 2	1,2
Р. Объяснения, № 3	1,235
Амурский залив, № 4-7	0,44
Р. Кневичанка, № 8	< 0,001
Р. Артемовка, № 9	< 0,001
Р. Шкотовка, № 10	< 0,001
Р. Суходол, № 11	< 0,001

В результате проведенных исследований установлено, что содержание 4-нонилфенола в районе восточного побережья Амурского залива (Спортивная гавань) составляет 0,435 мкг/л. Одним из источников поступления 4-нонилфенола является картонная фабрика, расположенная в г. Уссурийск, постоянно сбрасывающая сильнозагрязненные органическими веществами сточные воды в р. Раздольная. Дополнительными источниками загрязнения могут служить промышленные стоки некоторых других производств, а также хозяйственно-бытовые стоки. Воды р. Раздольная по результатам комплексной оценки в 2003 г. отнесены к «очень грязным», ПДК (предельно допустимая концентрация) по фенолам в ней превышалась до 6 раз. Эта река поставляет в Амурский залив загрязнений в 26–28 раз больше, чем все промышленно-бытовые городские стоки г. Владивосток. Течение несет воды р. Раздольная вдоль восточного побережья, что объясняет присутствие в районе Спортивной гавани относительно невысоких концентраций 4-нонилфенола.

В центральной части Амурского залива и в районе западного побережья содержание 4-нонилфенола находится ниже предела обнаружения. Вероятно, это обусловлено большой площадью, глубиной залива и системой поверхностных и подводных циркуляционных течений, благодаря которым происходит значительное разбавление загрязненных вод, а также значительной удаленностью источников эмиссии 4-нонилфенола.

Содержание 4-нонилфенола в бухте Золотой Рог составляет 1,22 мкг/л. Специфика данной бухты в отношении антропогенного воздействия заключается в том, что она является одной из староосвоенных и поэтому наиболее подвержена влиянию городских стоков. В бухту поступают сточные воды городской канализации. Огромное негативное воздействие оказывают городские порты и судоремонтные заводы, сбрасывающие в воду технические масла, топливо и хозяйственно-бытовые стоки. Существенный вклад в загрязнение бухты вносит р. Объяснения, в водах которой содержание 4-нонилфенола составляет 1,235 мкг/л. Одним из основных источников загрязнения им, вероятнее всего, является ТЭЦ-2. С электростанции в реку без специальной очистки поступает огромное количество сточных вод от охлаждения и продувочных вод из систем обратного водоснабжения, зачастую загрязненные компонентами трансформаторных масел. Известно, что многие составные части материалов трансформаторов изготавливаются из фенолформальдегидных смол, содержащих 4-нонилфенол. Замена трансформаторов и их разрушение, возможно, приводит к неконтролируемому попаданию токсичных компонентов в окружающую среду.

## Заключение

В результате проведенных исследований была предложена методика определения содержания 4-нонилфенола в природных водах с использованием в качестве экстрагента хлористого метилена, при pH 2 и в присутствии йодида калия в качестве высаливателя с последующим анализом методом ОФ ВЭЖХ. Предложенная методика использована для определения содержания 4-нонилфенола в природных водах Приморского края. Существующие концентрации 4-нонилфенола в водах Амурского залива не способны оказывать существенное негативное влияние на эндокринную систему гидробионтов, а тем более вызывать их гибель. В бухте Золотой Рог и р. Объясне-

ния содержание 4-нонилфенола находится на субкритическом уровне, способном вызывать изменения в структуре сообществ морских организмов. Гидробионты являются одним из основных звеньев в пищевой цепочке, по которой токсиканты попадают в организм человека, чем вызывается необходимость проведения полноценных мониторинговых работ, выявление и классификацию источников загрязнения природной среды алкилфенолами.

### *Литература*

1. Berryman D. Nonylphenolic compounds in drinking and surface waters downstream of treated textile and pulp and paper effluents: a survey and preliminary assessment of their potential effects on public health and aquatic life / Berryman D., Houde F., DeBlois C., O'Shea M. // *Chemosphere*. 2004, V. 56. P. 247–255.
2. Постановление Правительства РФ № 251 от 24.03.2000.
3. Li D. Seasonal flux of nonylphenol in Han River, Korea / Li D., Kim M., Shim W.J., Yim U.H., Oh J., Kwon Y. // *Chemosphere*, 2004, V. 56. P. 1–6.
4. Li Z. Seasonal and spatial distribution of nonylphenol in Shihwa Lake, Korea / Li Z., Li D., Oh J., Je J. // *Chemosphere*. 2004. V. 56. P. 611–618.
5. Pojana G. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon / Pojana G., Gomiero A., Jonkers N., Marcomini A. // *Environment International*, 2007. V. 33. P. 929–936.
6. Peng X. Simultaneous determination of endocrine-disrupting phenols and steroid estrogens in sediment by gas chromatography–mass spectrometry / Peng X., Wang Z., Yang C., Chen F., Mai B. // *Journal of Chromatography A*, 2006. V. 1116. P. 51–56.
7. Helaleh M. Gas chromatographic-mass spectrometric method for separation and detection of endocrine disruptors from environmental water samples / Helaleh M., Takabayashi Y., Fujii S., Korenaga T. // *Analytica Chimica Acta*, 2001. V. 428. P. 227–234.
8. Тихий океан. Химия Тихого океана. / Под общ. ред. В.Г. Крота. М.: Наука, 1966. 360 с.
9. Vazquez-Duhalt R. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant / Vazquez-Duhalt R., Marquez-Rocha F., Ponce E., Licea A., Viana M. // *Applied Ecology and Environmental Research*, 2005. V. 4 (1). P. 1–25.



A.S. Kondakova, A.P. Chernyaev, L.I. Sokolova

## DETERMINATION OF 4-NONYLPHENOL IN NATURAL WATER BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

A method of 4-nonylphenol determination in natural water was suggested. It is based on 4-nonylphenol extraction by methylene chloride (pH 2) and potassium iodide is used as salting-out agent after that reversed phase high-performance liquid chromatography is carried out. 4-nonylphenol concentrations in natural water of Primorski Krai were estimated.

**Key words:** 4-nonylphenol, RP HPLC, natural water