**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛА В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ
БАРЕНЦЕВА И КАРСКОГО МОРЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
И ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА**

И.С. Халиков¹, В.И. Баранов²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-производственное объединение «Тайфун» (ФГБУ «НПО «Тайфун»), г. Обнинск, ул. Победы, 4
E-mail: khalikov@rpatyphoon.ru

² Южное отделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института океанологии им. П.П. Ширшова Российской академии наук (ЮО ИО РАН), г. Геленджик, ул. Просторная, 1г
E-mail: baranovvlad@mail.ru

Проведена оптимизация условий определения фенола в методе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью флуориметрического детектора. С целью эффективного извлечения фенола из донных отложений разработан способ пробоподготовки с использованием 25% ацетонитрила под действием ультразвука. Степень извлечения фенола составила 90–100% при добавлении фенола от 10 нг/г до 2000 нг/г. Предел обнаружения фенола (отношение сигнал/шум = 3) в пробах донных отложений с учётом навески составил примерно 1 нг/г. Для оценки применимости предложенного способа определения фенола проанализированы 122 пробы донных отложений арктических морей. Среднее содержание фенола в обследованных районах Баренцева моря (12,4 нг/г, n = 52) было больше в 1,5 раза, чем в Карском (8,2 нг/г, n = 70).

Ключевые слова: фенол, флуориметрический детектор, ВЭЖХ, донные отложения, Баренцево и Карское море

Поступила в редакцию: 27.04.2018.

Введение. Загрязнение объектов природной среды различными токсичными веществами является в настоящее время одной из глобальных экологических проблем. Потребность в современных надежных методах определения поллютантов становится всё более острой, так как данные анализа всё чаще служат для принятия решений о регулирующих мерах и санкциях.

Нефтегазовые месторождения шельфа и прибрежной зоны Баренцева и Карского морей являются важнейшим стратегическим ресурсом, во многом определяющим перспективы развития Арктической зоны Российской Федерации в XXI веке [1]. Для условий арктических морей помимо экономической эффективности при реализации проектов разработки ресурсов нефти и газа необходимо обеспечить также их экологическую безопасность.

Фенол и его производные [2, 3] являются широко распространенными экотоксикантами различных природных объектов. В естественных условиях образование фенола связано с биохимическим синтезом и трансформацией органического вещества. Основными источниками антропогенного поступления фенола в водные объекты являются сточные воды многих отраслей промышленности – целлюлозно-бумажной, текстильной, нефтехимической, лакокрасочной, органического синтеза и др., атмосферный перенос и аварийные разливы нефтепродуктов.

Донные отложения являются наиболее консервативным компонентом природных водных объектов [4, 5] и содержат информацию о загрязненности и особенностях водосборного бассейна. Химический состав донных отложений в отличие от гидрохимических показате-

лей, характеризующих состояние воды преимущественно на момент опробования, более устойчив во времени и поэтому надежнее отражает загрязнение водных объектов.

Следует отметить, что фенол имеет тенденцию быстро (в течение нескольких дней) деградировать в объектах природной среды, например в почве, под влиянием аэробных и анаэробных микроорганизмов до углекислого газа и метана [6–9].

Одной из задач экологического мониторинга донных отложений нефтегазовых месторождений является регистрация фоновых (текущего) уровня загрязнения и наблюдение за его изменением. Титриметрические и фотометрические методы определения «фенольного индекса» [2, 10] недостаточно специфичны и чувствительны и их использование не позволяет количественно определять индивидуальные фенолы. При решении многих аналитических и природоохранных задач требуется установить концентрацию конкретного фенола, а не суммарного содержания фенолов. Из современных методов фенолы чаще всего определяют методом газовой хроматографии с предварительной дериватизацией и более удобным для полярных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [11–17].

Фенол способен флуоресцировать при возбуждении УФ-излучением, поэтому для его определения возможно использование флуориметрического детектора с высокой чувствительностью и селективностью.

В то время как чувствительность и скорость определения загрязняющих веществ хроматографическими методами растут, матричные компоненты не позволяют провести анализ образцов без предварительного выделения целевых аналитов. Известные способы определения фенолов в донных отложениях или почве предусматривают их экстрагирование с применением различных растворителей, водно-органических и водных растворов [16, 18, 19]. Анализ фено-

ла сопряжен с рядом трудностей, основной которой является низкая степень извлечения при экстракционном концентрировании из-за его высокой гидрофильности.

Перспективным направлением в повышении степени извлечения фенола без концентрирования является методология пробоподготовки QuEChERS, сокращение от достоинств метода (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe – Быстрый, Простой, Дешевый, Эффективный, Надежный, Безопасный), которая получила широкое распространение и становится всё более популярной в мире для анализа загрязняющих веществ в различных объектах окружающей среды [20, 21]. В последнее время область применения этого метода постоянно расширяется, имеются публикации по использованию модифицированных схем для определения разных соединений в объектах природной среды [22, 23].

Целью настоящей работы являлась разработка простого и эффективного способа извлечения фенола из донных отложений и использования флуориметрического детектирования в методе ВЭЖХ. В качестве примера были выбраны донные отложения Баренцева и Карского морей, поэтому одной из задач было определение фенола в этих образцах.

Материалы и методы. Материалом для исследований послужили пробы донных отложений Баренцева и Карского морей, которые были отобраны в июне-октябре 2016 г. во время экспедиционных работ ММБИ КНЦ РАН и ФГБНУ «ПИНРО» (г. Мурманск).

Расположение лицензионных участков месторождений углеводородов приведены в обзорной карте Баренцева и Карского морей [24]. Пробы донных отложений были высушены при температуре не более 40°C, растерты в ступе до однородного порошка и просеяны через сито диаметром 1 мм.

Гранулометрический анализ донных отложений выполняли методом лазерной дифракции с помощью анализатора размера частиц SALD-2300 (Shimadzu).

Для идентификации и количественного определения фенола использовали метод ВЭЖХ с флуориметрическим детектором «RF-20A» и детектором на диодной матрице «SPD-M20A». Хроматографический анализ проводили на хроматографе «LC-20 Prominence» (Shimadzu, Япония), состоящего из вакуумного дегазатора DGU-20A₃, насоса LC-20AD, автосамплера SIL-20A и термостата CTO-20A. Для разделения веществ применяли обращенно-фазовую колонку Envirosep PP (125 x 3,2 мм, 5 мкм) и защитным картриджем C18 (4 x 2 мм) производства фирмы Phenomenex (США), в условиях изократического элюирования смесью ацетонитрила (для ВЭЖХ, «Компонент-Реактив») и 0,1% раствора фосфорной кислоты (20% ацетонитрила по объёму), при скорости потока 0,5 мл/мин и температуре колонки 40°C. Объем вводимой аликвоты – 20 мкл. Время удерживания фенола в этих условиях составляло 3,1 мин. В качестве стандарта использовали индивидуальный раствор фенола в метаноле (500 мкг/мл) от фирмы Supelco, с содержанием основного компонента 99,9%. Путем последовательных разбавлений готовили градуировочные растворы фенола в 20% ацетонитриле в диапазоне концентраций от 0,001 до 0,5 мкг/мл. В качестве аналитического сигнала использовали площадь пика.

Результаты и их обсуждение. Оптимизация детектирования фенола и его извлечения из донных отложений. Проведена оптимизация скорости потока, состава фазы и детектирования с помощью флуориметрического детектора «RF-20A» путём сравнения и подбора различных длин волн возбуждения и излучения с применением программного обеспечения «LC Solution», в результате чего, были выбраны условия $E_{ex}(275 \text{ нм})/E_{em}(300 \text{ нм})$ для определения фенола. Следует отметить, что с использованием этих условий можно определять также метилированные производные фенола.

В общем случае пробоподготовка QuEChERS включает два этапа: экстракцию гомогенизированной пробы ацето-

нитрилом в присутствии высаливателей и буферирующих смесей (сульфата магния, хлорида натрия, цитратов и ацетата натрия) и очистку экстракта от соэкстрагируемых веществ – жиров, белков, сахаров, кислот, пигментов, лигнина и других примесей, методом дисперсионной твердофазной экстракции с помощью различных сорбентов, например гидрофобного силикагеля с октадецильной фазой (C₁₈), PSA (Primary Secondary Amine) с привитой этилендиамин-N-пропильной группой, GCB (активированного угля) и других [20–23].

В экспериментах по извлечению фенола использовали стандартные растворы фенола (от фирмы «Supelco») и реальные образцы (4 пробы донных отложений) Баренцева и Карского морей. В ходе работы были изучены условия экстракции разных концентраций (10 нг/г, 50 нг/г, 250 и 2000 нг/г) добавленного фенола. Оптимизированы основные параметры подготовки проб донных отложений с применением QuEChERS: выбраны масса образца, экстрагент и его объём, время извлечения, природа и количества сорбентов. При определении фенола в холостых пробах выявлено мешающее влияние различных добавок (высаливателей, буферов и сорбентов) на его содержание.

Наилучшими параметрами обладала следующая пробоподготовка: экстракция фенола из сухих образцов (1–2 г) с использованием 10 мл 25% раствора ацетонитрила в воде под действием ультразвука (5 мин; 25°C) без добавления высаливателей, буферирующих солей и без очистки экстрактов методом дисперсионной твердофазной экстракции с помощью слабоосновного сорбента PSA или C₁₈ и их соотношений. В результате время пробоподготовки и концентрация фенола в холостых пробах уменьшалась в несколько раз. Значительных эффектов матрицы не наблюдалось, и средняя степень извлечения для разных концентраций фенола и видов донных отложений составила от 90 до 100%. Предел обнаружения фенола (отношение сигнал/шум = 3) в пробах донных отложе-

ний с учётом навески составил примерно 1 нг/г. Правильность результатов определения фенола подтверждали методом «введено – найдено». Способ обеспечивал выполнение измерений с погрешностью, не превышающей 30%, при доверительной вероятности 0,95. Этот метод пробоподготовки может служить альтернативой более сложным методам извлечения фенола из донных отложений и вероятно, почв.

Определение фенола в донных отложениях Баренцева и Карского морей. Анализ гранулометрического состава показал преобладание алевритовых

фракций (0,01–0,10 мм) над пелитовыми (размер частиц <0,01 мм) в донных отложениях обследуемых районов Карского и Баренцева морей. Среднее содержание алевритовых фракций составляло около 60%, а пелитовых – 21%.

Результаты по средней концентрации фенола и диапазону содержания в донных отложениях обследованных лицензионных участков (ЛУ) Баренцева и Карского морей приведены в табл. 1. Максимальная концентрация фенола (57,5 нг/г) была выявлена в одной из проб ила Демидовского ЛУ Баренцева моря.

Таблица 1. Содержание фенола в донных отложениях лицензионных участков Баренцева и Карского морей, нг/г

Лицензионный участок, количество проб (n) и определений	Средняя концентрация фенола, нг/г	Минимальная концентрация фенола, нг/г	Максимальная концентрация фенола, нг/г
Демидовский ЛУ, n = 6	18,6	5,0	57,5
Ледовый ЛУ, n = 6	12,6	4,2	22,8
Лудловский ЛУ, n = 15	10,5	3,9	21,0
Медвежий ЛУ, n = 10	15,0	4,8	42,7
Ферсмановский ЛУ, n = 15	10,0	3,1	19,6
Баренцево море, n = 52	12,4	3,1	57,5
Северо-Харасавэйский ЛУ, n=43	9,1	1,0	42,0
Шараповский ЛУ, n = 27	7,2	1,0	20,4
Карское море, n = 70	8,2	1,0	42,0

Минимальные концентрации фенола (1,0 нг/г) определены в пробах песков участков Карского моря с глубиной менее 50 м. Среднее содержание фенола в донных отложениях обследуемых участков Баренцева моря было больше в 1,5 раза, чем в Карском море. Согласно общей литогеохимической закономерности, с увеличением содержания пелитовой фракции с глубиной илистые осадки загрязнены фенолом в большей степени, чем песчаные отложения. Близкое содержание фенола в донных отложениях лицензионных участков Баренцева

моря и Карского моря свидетельствует о сходстве условий осадконакопления и преобразования органического вещества.

В России и других странах в настоящее время не имеется экологических стандартов качества донных отложений по загрязненности фенолом в своих законодательствах.

Заключение. Предложен способ определения фенола в донных отложениях с использованием метода ВЭЖХ и флуориметрического детектирования и подобраны оптимальные условия проведения измерений. Для модельных смесей

по методу «введено-найдено» установлена степень извлечения фенола из донных отложений 90–100%. Этот способ позволяет определять фенол в донных отложениях при его содержании около 1 нг/г.

Минимальные концентрации фенола (1,0 нг/г) определены в пробах песков участков Карского моря с глубиной менее 50 м, а максимальные концентрации (до 57,5 нг/г) в более глубоководных илистых осадках Баренцева моря.

Настоящий способ флуориметрического определения фенола в донных отложениях может быть использован в различных химико-аналитических исследованиях, при проведении мониторинга и инженерно-экологических изысканиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глухарева Е.К. Перспективы добычи и транспортировки нефтегазовых ресурсов запада российской Арктики // Проблемы прогнозирования. 2011. № 5. С. 65–75.
2. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. 447 с.
3. Кондратьева Л.М., Гаретова Л.А., Чухлебова Л.М. Микробиологическая оценка экологического риска трансграничного загрязнения реки Амур. Владивосток: Дальнаука, 2002. 198 с.
4. Дауэальтер В.А. Геоэкология донных отложений озер. Мурманск: Изд-во МГТУ, 2012. 242 с.
5. Страхов Н.М. Избранные труды. Общие проблемы геологии, литологии и геохимии. М.: Наука. 1983. 640 с.
6. Baker M.D., Mayfield C.I. Microbial and nonbiological decomposition of chlorophenols and phenol in soil // Water Air Soil Pollut. 1980. Vol. 13. P. 411–424.
7. Scott H.D., Wolf D.C., Lavy T.L. Apparent absorption and microbial degradation of phenol by soil // J. Environ. Qual. 1982. Vol. 11. P. 107–112.
8. Fedorak P.M., Hruday S.E. Nutrient requirements for the methanogenic degradation of phenol and p-cresol in anaerobic draw and feed cultures // Water Res. 1986. Vol. 20. P. 929–934.
9. Mineralization potential for phenol in subsurface soils / D.C. Dobbins, J.R. Thornton-Manning, D.D. Jones [et al] // J. Environ. Qual. 1987. Vol.16. P. 54–58.
10. Инструментальные методы анализа функциональных групп органических соединений / Пер. с англ. Под ред. С. Сиггиа. М.: Мир, 1974. 464 с.
11. Воробьева Т.В., Терлецкая А.В., Куцевская Н.Ф. Стандартные и унифицированные методы определения фенолов в природных и питьевых водах и основные направления их совершенствования // Химия и технология воды. 2007. Т. 29, № 4. С. 370–390.
12. Сурсякова В.В., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И. Разработка методик определения фенолов в питьевой и природной водах методами капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия. 2010. Т. 3, № 3. С. 268–277.
13. Коренман Я.И., Груздев И.В., Кондратенко Б.М. Газохроматографическое определение хлорфенолов в питьевой воде с предварительной двухстадийной химической модификацией // Химия и технология воды. 2000. Т. 22, № 3. С. 290–297.
14. Vermeulen A., Welvaert K., Verammen J. Evaluation of a dedicated gas chromatography-mass spectrometry method for the analysis of phenols in water // Journal of Chromatography A. 2005. Vol. 1071, № 1–2. P. 41–46.
15. Zhang P.-P., Shi Z.-G., Feng Y.-Q. Determination of phenols in environmental water samples by two-step liquid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography // Talanta. 2011. Vol. 85. P. 2581–2586.
16. Dean J.R., Santamaria-Rekondo A., Ludkin E. Accelerated solvent extraction of phenols from soil // Analytical Communications. 1996. Vol. 33. P. 413–416.
17. Extraction and preconcentration techniques for chromatographic determination of chlorophenols in environmental and

food samples / P. Morais, T. Stoichev, M. Clara [et al] // *Talanta*. 2012. Vol. 89. P. 1–11.

18. *Comparison* of microwave-assisted extraction and Soxhlet extraction for phenols in soil samples using experimental designs / A. Egizabal, O. Zuloaga, N. Etxebarria [et al] // *Analyst*. 1998. Vol.123. P. 1679–1684.

19. *An organic* solvent-free microwave-assisted extraction some priority pollutants of phenols in lake sediments / L. Wang, W. Huang, X. Shao [et al] // *Analytical sciences*. 2003. Vol. 19. P. 1487–1490.

20. *Fast* and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction / partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for the determination of pesticide residues in produce / M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Stajnbaher [et al] // *J. AOAC Int.*. 2003. Vol. 86. No.2. P. 412–431.

21. *Халиков И.С.* Пробоподготовка QuEChERS для определения загрязняющих веществ в объектах природной среды // *Вестник научных конферен-*

ций. 2016. № 5–2(9). С. 111–112.

22. *Application* of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based method for the simultaneous extraction of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in agricultural soils, analyzed by using gas chromatography–triple quadrupole-mass spectrometry/mass spectrometry / J.A. Páddilla-Sánchez, P. Plaza-Bolaños, R. Romero-González [et al] // *Journal of Chromatography A*. 2010. Vol. 1217, P. 5724–5731.

23. *Multiresidue* analysis of aromatic organochlorines in soil by gas chromatography-mass spectrometry and QuEChERS extraction based on water/dichloromethane partitioning. Comparison with accelerated solvent extraction / F. Rouviere, A. Bulete, C. Cren-Olive [et al] // *Talanta*. 2012. Vol.93. P. 336–344.

24. *Кольские* карты 2006-2012. Обзорная карта Баренцева и Карского морей – URL:

<http://www.kolamap.ru/arh/shtokman.html>
(Дата обращения: 18.04.2018).

DETECTION OF PHENOL IN BOTTOM SEDIMENTS OF THE BARENTS AND KARA SEAS WITH THE HELP OF HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND FLUOROMETRIC DETECTOR

I.S. Khalikov¹, V.I. Baranov²

¹ Federal State Budgetary Institution “Research and Production Association “Typhoon” (“RPA “Typhoon”), Russian Federation, Obninsk, Pobedy St., 4

² South Branch of P.P.Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Russian Federation, Gelendzhik, Prostornaya St., 1-g

Optimization of phenol detection by method of high performance liquid chromatography (HPLC) with the use of a fluorometric detector has been carried out. To effectively extract phenol from bottom sediments a method for sample preparation with the use of 25% acetonitrile under the action of ultrasound has been worked out. The limit of phenol extraction made 90–100% with addition of phenol from 10 ng/g to 2000 ng/g. The degree of phenol detection (the ratio signal/noise = 3) in the samples of bottom sediments made about 1 ng/g. To assess the applicability of the method proposed for phenol determination, 122 samples of bottom sediments from the Arctic seas were analyzed. Average phenol content in the regions of the Barents sea studied (12,4 ng/g, n = 52) was 1,5 times higher than that in the Kara sea (8,2 ng/g, n = 70).

Keywords: phenol, fluorometric detector, HPLC, bottom sediments, Barents and Kara seas.