

Stanovení fenolů ve vodách pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí

Návod

pro výběrovou úlohu pro Pokročilé praktikum (C 230C04) z instrumentální analytické chemie pro posluchače magisterského studia oboru Analytické chemie a Moderních metod analytické chemie (C 230C10) oboru Geochemie a Pokročilého praktika z analytické chemie (C 230C13) pro posluchače bakalářského studia oboru Klinická a toxikologická analýza.

Teoretický úvod

Hydroxyskupinou substituované aromatické uhlovodíky tvoří jednu z hlavních skupin znečišťujících látek v životním prostředí. Fenol a jeho substituované deriváty se dostávají především do odpadních vod z výroby fenolformaldehydových pryskyřic, laků, pesticidů, léčiv, z procesů zahrnujících zpracování uhlí a ropy, jsou obsaženy v průmyslových kapalinách, jsou hojně používány jako antioxidanty, objevují se v půdách jako degradační produkty pesticidů a jsou splachovány do povrchových vod¹. Systematické monitorování složek životního prostředí je zaměřeno především na škodlivé fenolické deriváty jako jsou chlorované fenoly a naftoly, hydroxyderiváty bifenyly apod. Na druhé straně roste i zájem o stanovení alkylsubstituovaných fenolů, které hrají důležitou roli v kontrole a prevenci vzniku rakovinotvorného bujení, jako výsledku svých antioxidačních vlastností². Vzhledem k polárnímu charakteru fenolů je k jejich stanovení vhodná kapalinová chromatografie s chemicky vázanými reverzními fázemi. I když nejčastěji se při stanovení fenolů používá fotometrická detekce při vlnové délce kolem 270 nm, elektrochemická detekce nabízí některé nezanedbatelné výhody. Protože většina fenolů je elektrochemicky snadno oxidovatelná při potenciálech +0,7 až +1,2 V (vs. Ag/AgCl srovnávací elektrodě), má elektrochemická detekce obvykle vyšší citlivost než detekce fotometrická a navíc se uplatňuje i její větší selektivita, která často dovoluje přímá stanovení i ve složitých environmentálních matricích, které by jinak vyžadovaly složitou předúpravu vzorku.

Cílem této úlohy je v dané mobilní fázi nalézt optimální podmínky pro elektrochemickou detekci fenolu pomocí nového typu platinového tubulárního detektoru³ a za těchto podmínek stanovit metodou standardního přídávku koncentraci fenolu ve vzorku pitné vody i neupravované vltavské vody. V případě neupravované vody je nutno použít ochrannou předkolonku.

Experimentální část

A. Přístroje a zařízení

Pro měření s fotometrickou a elektrochemickou detekcí se použije vysokoúčinný kapalinový chromatograf složený z lineárního čerpadla HPP 5001 (Laboratorní přístroje, Praha), smyčkového dávkovacího analytického ventilu typu C s 20●l smyčkou (ECOM, Praha), kolona Lichrosorb[®] RP-18 150 x 3 mm, 5 ●m (Merck, Praha), ochranné předkolony Separon SGX C18, 30 x 3, 5 ●m (Tessek, Praha), UV detektoru LCD 2040, ampérometrického detektoru ADLC 2 (oba Laboratorní přístroje, Praha) s pracovní elektrodou tvořenou platinovým tubulárním detektorem (KACH PŘF UK), Ag/AgCl srovnávací elektrodou a platinovou plíškovou elektrodou (obě Monokrystaly, Turnov). K vyhodnocení signálů se použije počítačem řízená stanice CSW 1.7 umožňující dvoukanálové vyhodnocování. Fotometrický detektor se nastaví na vlnovou délku 265 nm. ADLC 2 detektor se použije k odvětvování potenciálů +0,7 až +1,3 V. Dávkuje se pomocí injekční stříkačky s Luerovým nástavcem. K dispozici jsou všechny potřebné návody, a to jak pro vysokotlaké čerpadlo, tak pro oba detektory i řídicí software.

B. Reagencie

Mobilní fáze se připraví smísením 50 objemových částí methanolu, p.a. a 50 objemových částí vodného 0,05 M octanu sodného upraveného koncentrovanou kyselinou octovou na pH 4,8 (vše Lachema, Brno). Nedoplňovat! Průtoková rychlost mobilní fáze se nastaví na 0,3 ml.min⁻¹ ($t_{r, \text{fenolu}} = \text{ca } 6-7 \text{ min}$). K elektrochemickému přečištění platinového tubulárního detektoru se použije roztok $5 \cdot 10^{-2} \text{ M H}_2\text{SO}_4$ (p.a., Lachema, Brno). Zásobní vodný roztok fenolu má koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, nastříkované roztoky se zředí deionizovanou vodou na koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.

C. Pracovní postupy

1. Aktivace tubulárního detektoru

Před započítáním měření se platinový tubulární detektor přečistí a zaktivuje po naplnění $5 \cdot 10^{-2} \text{ M H}_2\text{SO}_4$ střídavou polarizací mezi potenciály $-0,3$ a $+1,4 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), a to celkem 10krát, při aplikaci příslušného potenciálu vždy po dobu 5 až 10 sekund. Vše za tříelektrodivého zapojení při ponoření všech tří elektrod do roztoku kyseliny. Po aktivaci se tubulární

detektor zapojí do chromatografického systému v sérii za fotometrický detektor.

2. Nalezení optimálních podmínek detekce

Po ustavení rovnovážných podmínek v chromatografickém systému (ca 20 min. od započetí čerpání mobilní fáze) se změří hydrodynamický voltamogram fenolu nástřiky 20 μ l $1 \cdot 10^{-4}$ M fenolu ve vodě při odvětvovaných potenciálech +0,7 až +1,3 V, s krokem 0,2 V. Měření při všech potenciálech se provádí duplicitně. Současně se provádí i UV fotometrická detekce fenolu při vlnové délce 265 nm. Z naměřeného hydrodynamického voltamogramu se určí vhodný potenciál pro detekci fenolu (ca +0,9 až +1,1 V) pro dané experimentální podmínky.

3. Stanovení fenolu metodou standardního přídávku

Za daných experimentálních podmínek se stanoví metodou standardního přídávku obsah fenolu ve vzorku vodovodní, případně neupravované vltavské vody, která byla pouze zfiltrována přes fritu S3 a obsahuje určité množství přidaného fenolu. Po nadávkování vzorku do chromatografického systému a naměření odpovídajících chromatogramů (* = 265 nm, E = +1,1 V) se porovnáním s chromatogramy získanými při měření hydrodynamických voltamogramů určí vhodné množství $1 \cdot 10^{-3}$ M fenolu pro jeho standardní přídavek k 10 ml vzorku tak, aby přídavek odpovídal 50 až 150 % výšky či plochy původního signálu. Měření se provede třikrát a koncentrace fenolu ve vzorku se vypočte jak porovnáním ploch, tak i výšek odpovídajících signálů.

Závěr

Výsledky získané pomocí elektrochemické i UV fotometrické detekce se mezi sebou porovnají a okomentují, rovněž tak i oba použité způsoby vyhodnocování množství analytu ve vzorku pomocí ploch a výšek naměřených signálů. Všechny naměřené chromatogramy budou uloženy do 1 složky se jménem studenta a odevzdaný protokol bude obsahovat seznam jednotlivých naměřených souborů rozdělených na skupinu obsahující chromatogramy naměřené při získávání hydrodynamického voltamogramu a skupinu obsahující analytickou část stanovení obsahu fenolu ve vzorku metodou standardního přídávku.

¹ Štulík K., Pacáková V.: Elektroanalytická měření v proudících kapalinách, str. 249, SNTL, Praha 1989.

² Ho, C.-T., Lee C.Y., Huang M.T.: Phenolic Compounds in Food and Their Effect on Health, 506, ACS Press, Washington 1992.

³ Cvačka J., Opekar F., Barek J., Zima J.: Electroanalysis 12(1), 39 (2000).