

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

(наименование института полностью)

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»

(наименование кафедры)

04.03.01 «Химия»

(код и наименование направления подготовки, специальности)

«Медицинская и фармацевтическая химия»

(направленность (профиль)/ специализация)

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему Использование ацетонитрила в качестве гидрофильного растворителя для экстракции ароматических соединений при их анализе методом ВЭЖХ

Студент

Е.С. Морозова

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

О.Б. Григорьева

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Консультанты

Е.Ю. Аношина

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Допустить к защите

Заведующий кафедрой д.х.н., профессор Г.И. Остапенко

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

(личная подпись)

« _____ » _____ 2018 г.

Тольятти 2018

АННОТАЦИЯ

Данная выпускная квалификационная работа посвящена изучению использования ацетонитрила в качестве экстрагента ароматических соединений.

Работа изложена на 40 страниц и включает в себя 3 таблицы. Список используемой литературы составил 42 источника.

Объектами исследований в данной работе являются фенол и бенз(а)пирен.

Целью работы являлось установление возможности использования ацетонитрила в экстракции ароматических соединений при их анализе методом ВЭЖХ.

В литературном обзоре рассматривались возможности использования ацетонитрила в качестве экстрагента, а также в качестве элюента, особенности предварительного концентрирования при анализе ВЭЖХ, важные требования к экстрагентам для достижения наилучшего извлечения, варианты различных растворителей для экстракций и особенности объектов исследования.

В экспериментальной части описаны методики выполнения хроматографического анализа, проведения экстракции гидрофобными и гидрофильными растворителями, нахождения критического содержания ацетонитрила для расслаивания системы ацетонитрил – водно-солевой раствор, и перечислен список реагентов и оборудования, которые использовались.

В результатах и их обсуждениях приводится пояснение того, что ацетонитрил является лучшим экстрагентом для последующего определения методом ВЭЖХ, и приводятся коэффициенты извлечения фенола различными экстрагентами.

ABSTRACT

The title of the graduation work is “The use of acetonitrile as a hydrophilic solvent for the extraction of aromatic compounds by HPLC analysis”. This work is devoted to the study of the use of acetonitrile as an extractant of aromatic compounds.

The aim of the work is to study the potential of acetonitrile for the extraction of aromatic compounds during their analysis by HPLC. The objects of the research are phenol and benz(a)pyrene.

The graduation work consists of an introduction, 3 chapters, a conclusion, list of 42 references and including 6 foreign sources. The text of the work contains 1 figure, 3 formulas and 2 tables.

The first part of the work is dedicated to the literature review of the potentials of using acetonitrile as an extractant and also as an eluent, especially for concentrating in HPLC analysis. Also important requirements for extractants for achieving the best extraction, variants of different solvents for extractions and features of the objects of the study are examined.

The second part of the work describes the process of chromatographic analysis, hydrophobic and hydrophilic solvents and available critical content of acetonitrile for delamination of the acetonitrile-water-salt system. The part contains a list of used reagents and equipment.

The results of the work explain that acetonitrile is the best extractant for the further determination by HPLC and gives the phenol extraction factors for various extractants.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	8
1.1. Предварительное концентрирование при анализе методом ВЭЖХ	8
1.2. Экстракция органических соединений как метод концентрирования. .	10
1.2.1. Экстракция гидрофобными растворителями.	14
1.2.2. Экстракция гидрофильными растворителями.	14
1.3. Особенности ацетонитрила.....	17
1.3.1. Ацетонитрил как элюент.....	17
1.3.2. Ацетонитрил как экстрагент.....	20
1.4 Объекты исследования: фенол, бенз(а)пирен	24
1.5. ДИРФ-режим в хроматографии.....	26
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	28
2.1. Реагенты и оборудование.....	28
2.2. Методика проведения хроматографического анализа	28
2.3. Методика проведения экстракций гидрофобными растворителями.....	29
2.4. Нахождение критических значений содержания ацетонитрила для расслаивания системы ацетонитрил - водно-солевой раствор	29
2.5. Методика проведения экстракций ацетонитрилом	29
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ.....	31
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	35
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	36

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

ПДК	Предельно допустимая концентрация
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
МТБЭ	Метилтретбутиловый эфир
ЖХ-МС	Жидкостная хроматография с масс-селективным детектором
ЖЖЭ	Жидкостно-жидкостная экстракция
ТФЭ	Твердофазная экстракция
ОФ ВЭЖХ	Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография
НФ ВЭЖХ	Нормально-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография
УФ ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектором
УФО	Ультрафиолетовое облучение
ДИРФ-режим	Режим динамически индуцированного раздела фаз

ВВЕДЕНИЕ

Органические загрязнители и супертоксиканты (высокотоксичные вещества) к которым относятся и многие ароматические соединения, такие, например, как фенол и бенз(а)пирен, обладают низким значением ПДК и требуют особых чувствительных и прецизионных методов для их обнаружения. Зачастую, такие вещества требуют также предварительного концентрирования, пробоподготовка для их обнаружения может быть трудоемкой и продолжительной.

Одним из методов концентрирования является экстракция, а методом анализа и контроля – метод ВЭЖХ. Широко используемый в качестве элюента в ОФ ВЭЖХ ацетонитрил, может быть неплохим гидрофильным экстрагентом, удобным для последующего анализа методом жидкостной хроматографии, минуя этап рекстракции, необходимый при использовании гидрофобных реагентов.

В литературе имеется ряд работ, посвященных применению ацетонитрила как экстрагента с сульфатом аммония в качестве высаливателя. В ОФ ВЭЖХ часто используется дигидрофосфат калия, для создания необходимого значения рН или в ДИРФ режиме. Представляется интересным оценить комбинацию ацетонитрила с дигидрофосфатом калия для концентрирования с последующим определением методом жидкостной хроматографии.

Главной целью работы является установление возможности использования ацетонитрила в экстракции ароматических соединений при последующем их анализе методом ВЭЖХ.

Задачами дипломной работы являлись:

- ознакомление литературы по методам экстракции при пробоподготовке и концентрировании, в том числе при анализе методом жидкостной хроматографии;
- определение критического содержания ацетонитрила, при котором происходит расслаивание системы ацетонитрил-водно-солевой раствор;

- ВЭЖХ контроль за количественными характеристиками процесса экстракции.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Предварительное концентрирование при анализе методом ВЭЖХ.

Методы аналитической химии в основном делят на две большие группы. К первой группе относят методы разделения и концентрирования различных компонентов (изотопов, элементов, молекул, фаз), а ко второй – методы определения или обнаружения так же различных компонентов анализируемого объекта.

При описании разделения и концентрирования, обычно различают три понятия: разделение, концентрирование и выделение. При этом под разделением понимают процесс, при котором компоненты в смеси отделяются друг от друга. Под концентрированием понимают процесс, при котором отношение количества микрокомпонентов к содержанию макрокомпонента. При разделении компоненты могут быть различной концентрации по отношению друг к другу, а при концентрировании – содержание компонентов сильно различается. Выделение – это процесс, который может относиться как к разделению, так и к концентрированию, и заключается он в выводе отдельных компонентов в самостоятельную фазу. Методы проведения разделения и концентрирования, как правило, схожи. Это может быть экстракция, управляемая кристаллизация, методы электрохимии и сорбция, осаждение, соосаждение и испарение и т.п.

Концентрирование разделяют на абсолютное и относительное. При абсолютном концентрировании микрокомпоненты переходят из большего объема образца в меньший, их концентрация при этом увеличивается. Так происходит, например, при испарении матрицы при анализе вод, минеральных кислот и органических растворителей [1]. При относительном концентрировании, в отличие от абсолютного, концентрации компонентов сильно различаются. Цель такого концентрирования – это замена матрицы.

К примеру, при определении меди и цинка в арсениде галлия, матричные элементы можно экстрагировать активным

кислородсодержащим растворителем, а потом определить микрокомпоненты любым методом [2].

Одно из главных мест среди приемов современной аналитической химии занимает концентрирование микроэлементов. При решении аналитической задачи, аналитик сталкивается с такими задачами, как отбор пробы, ее подготовка к определению, непосредственное определение и обработка результатов. Зачастую процесс концентрирования является основополагающим и важным при подготовке пробы. Кроме концентрирования могут проводиться операции растворения, разложения, маскирование и разделение [3]. Выбор схемы и операций определяется задачами и природой пробы и методов определения компонентов пробы. Одним из главных достоинств концентрирования считают то, что таким методом пробоподготовки можно снизить относительные пределы обнаружения макрокомпонентов. Снижение может достигать во многих случаях: инверсионная вольтамперометрия [4], атомно-эмиссионный с предварительным концентрированием [5] и экстракционно-фотометрический методы анализа [6].

Недавно была разработана новая методика определения метил-, этил-, метоксиэтил-, этоксиэтил-, фенил- и неорганической ртути в пробах природных вод [7]. Соединения ртути, разделяемые методом ВЭЖХ на колонках с октадецилсиликагелем, были предварительно переведены в комплекс с пирролидиндитиокарбаматом натрия, диэтилдитиокарбаматом натрия и гексаметиленаммонием. Стандартные отклонения находились в диапазоне от 6,9 – 11,8%. Извлечение составляло 86%, 78%, 88%, 83%, 79% и 84% для метил-, этил-, метоксиэтил-, этоксиэтил-, фенил- и неорганической ртути для обогащения из 300 мл пробы воды. Предел обнаружения метилртути составляет 0,5 п.п. Эта новая процедура предварительной концентрации в режиме онлайн была протестирована с использованием проб дождя, питьевой воды, поверхностных и технологических вод.

1.2. Экстракция органических соединений как метод концентрирования.

Экстракция – это метод концентрирования и разделения, при котором растворенное вещество распределяется между двумя несмешивающимися фазами (часто одна фаза - это водный раствор, а вторая – органический растворитель). Главные преимущества экстракционного метода:

- 1) возможность варьирования избирательности разделения;
- 2) возможность работы с анализатами на различных уровнях концентраций;
- 3) простота аппаратного оформления и технологического использования;
- 4) возможность автоматизации и осуществления непрерывного процесса;
- 5) высокие показатели производительности.

Экстракционные методы выделения веществ нашли широкое применение при анализе компонентов некоторых индустриальных и природных объектов. Экстракция выполняется быстро, при этом достигается высокая эффективность разделения и концентрирования, легко совместима с разнообразными методами анализа [8].

Экстрагенты должны удовлетворять строгим требованиям:

- обладать способностью извлекать необходимое соединение или группу веществ,
- плохо растворяться в воде, но, с другой стороны, мало растворяться в экстрагенте,
- иметь температуру кипения выше 50°C,
- отличаться от плотности анализируемого раствора,
- не взаимодействовать с другими компонентами в растворе,
- быть чистым и легко регенерируемым.

Основная и главная характеристика каждого экстракционного процесса – это коэффициент распределения.

Коэффициент распределения D – это отношение общей (если вещество представлено в различных химических формах) концентрации компонента в органической и водной фазах при установившемся равновесии:

$$D = \frac{\sum C_{\text{орг.}}}{\sum C_{\text{водн.}}}$$

Для любой системы при одинаковой температуре коэффициент распределения может изменяться в зависимости от концентрации компонента, а также в некоторых пределах концентраций оставаться практически неизменным.

Экстракция является селективной в случаях, когда в органическую фазу одновременно экстрагируют два и более компонента, и скорости перехода веществ из одной фазы в другую сильно различаются. Это обуславливается разными химическими свойствами компонентов. Селективной экстракция будет и в случае, когда межфазовый переход одного из компонентов лимитируется химическим взаимодействием, а другого – диффузией. Из этого следует, что экстракцией так же можно разделять смеси веществ, которые отличаются химическими свойствами. Можно увеличивать скорость извлечения одного из компонентов и уменьшать скорость извлечения других, изменяя обстоятельства, влияющие на химические свойства, и, таким образом, повышать селективность разделения [9].

Фактор извлечения R или степень экстракционного извлечения связан с константой распределения D :

$$R = \frac{D}{D + r}$$

где r – отношение объемов водной и органической фаз ($V_{\text{водн.}}/V_{\text{орг.}}$).

Анализируя данную зависимость, очевидно, что степень извлечения вещества прямо пропорциональна константе распределения и обратно пропорциональна отношению объемов.

Если экстрагируют вещество многократно одними и теми же объемами растворителя, то после m таких обработок степень извлечения выражается формулой:

$$R_m = 1 - \frac{r}{D + r}^m$$

Зачастую для желаемого извлечения требуется многократная обработка, в результате которой получается сильно разбавленный раствор определяемых веществ в органическом растворителе. При дальнейшем выпаривании этого растворителя с целью концентрирования мы можем потерять летучие органические вещества. Коэффициент распределения можно повысить в 2 – 5 раз, применяя высаливание, т. е. прибавляя большие количества хлорида или сульфата натрия и др.

В данной статье [10] авторами для определения тимола и карвакрола (фенольного соединения) была разработана новая дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция с улучшенным поверхностно-активной дисперсией с применением ВЭЖХ. В этом способе экстракционный растворитель (CHCl_3) диспергировали в водные образцы через вихревую мешалку и добавляли поверхностно-активное вещество (TritonX-100). Предварительные эксперименты проводились для выбора лучшего экстракционного растворителя и поверхностно-активного вещества. Влияние эффективных переменных было исследовано с использованием скринингового проекта Плакетта-Бугмена, а затем значимые переменные были оптимизированы с использованием центральной составной конструкции в сочетании желаемыми функциями. Работая при оптимальных условиях, указанных как: 140 мл CHCl_3 , 0,08% (мас./об., Triton X-100), время экстракции 3 мин, центрифугирование 6 мин при 4500 об/мин, рН 7, 0,0% (мас. / Об.) NaCl позволяют достичь высокий и

разумный линейный диапазон более 0,005-4,0 мг L21 с R2 5,9998 (n 5 10). Отделение тимола и карвакрола было достигнуто в течение <14 мин с использованием колонки C18 и изократической бинарной подвижной фазы ацетонитрил-вода (55:45, об./об.) со скоростью потока 1,0 мл 21мин. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция с улучшенным поверхностно-активной дисперсией применяется для успешного определения карвакрола и тимола в разных видах тимьяна и фармацевтических образцах с относительным стандартным отклонением <4,7% (n=5,5).

Была исследована процедура двухфазной микроэлементной мембранной экстракции для предварительной концентрации выбранных нестероидных противовоспалительных препаратов в водных растворах [11]. Агарозную пленку использовали в качестве интерфейса между донорной и акцепторной фазами в микроэлементной мембранной экстракции, что позволяло селективно экстрагировать аналиты перед высокоэффективной жидкостной хроматографией - ультрафиолетовым детектированием. Заряженные аналиты переходили из основного водного раствора образца через агарозную пленку в 1-октанол в качестве акцепторной фазы с потенциалом 9В. Методика поверхностной реакции с применением центральной композитной конструкции показала хорошие корреляции между временем экстракции и приложенным напряжением ($r^2 > 0,9358$). В оптимизированных условиях экстракции метод показал хорошую линейность в диапазоне концентраций 0,5-500 мкг L-1 с коэффициентами определения, $r^2 \geq 0,9942$ и хорошие пределы обнаружения (0,14-0,42 мкг L-1) и пределы количественной оценки (0,52-1,21 мкг L-1). Результаты также показали высокие коэффициенты обогащения (62-86) и хорошие относительные восстановления (72-114%) с приемлемой воспроизводимостью ($RSD \leq 7,5\%$ n=3). Метод был успешно применен для определения нестероидных противовоспалительных препаратов из образцов водопроводной и речной воды. Предлагаемый метод оказался

быстрым, простым и требовал низкого напряжения и малого количества органического растворителя, поэтому брали растворитель экологически чистым.

1.2.1. Экстракция гидрофобными растворителями.

Извлечение, или экстракция, основано на разной растворимости вещества в двух несмешивающихся жидкостях. Зачастую подвергают к экстрагированию водные растворы. Раствор при этом помещается в делительную воронку, в которую также помещают экстрагирующую жидкость [12].

Ученые рассматривают все больше новых задач, которые решаются с применением экстракций. Такие задачи требуют расширения круга экстрагентов. До 80-х годов прошлого века в качестве экстрагентов применяли ароматические и алифатические углеводороды, их галоген- и нитропроизводные, эфиры уксусной кислоты (бутилацетат - гептилацетат), гидрофобные спирты (пентиловый - дециловый), а также бинарные смеси подобных экстрагентов.

Как показывают исследования, в самых эффективных системах (гидрофобный растворитель – вода) коэффициенты распределения органических соединений различных химических классов (величина D) составляет в основном меньше 100-1000 [13].

1.2.2. Экстракция гидрофильными растворителями.

Бывают разные способы экстракции. В одних из них экстрагентом являются растворители, которые полностью смешиваются с водой (такие, как ацетон, изопропанол, пропанол или этанол), или частично (изобутанол, бутанол, метилэтилкетон). Также используют водные растворы полиэтиленгликолей и различных водорастворимых полимеров.

В случаях использования гидрофильных растворителей, следует добиваться образования отдельной органической фазы (расслаивания) искусственно. Этого можно достигнуть или понижая температуру такой смеси, или вводя в систему определенного количества солей. Такие

нейтральные соли называют высаливателями. Высаливателями служат некоторые неорганические соли натрия, калия или аммония. Например, сульфаты, хлориды, нитраты, карбонаты. Для веществ, используемых в качестве высаливателей, характерны следующие свойства: они обладают высокими гидратными числами, а также по-разному растворимы в растворителе и в воде (растворимость в органическом растворителе должна быть минимальной). Такая экстракция может оказаться эффективной, она характеризуется оптимальным временем достижения равновесия, повышением степени извлечения и коэффициентов концентрирования. При этом часто не требуется рекстракция, и после экстракции можно сразу проводить определения выделенных веществ электрохимическим методом или методом атомно-абсорбционной спектроскопии непосредственно в экстрактах. В качестве недостатка гомогенной экстракции можно назвать большое количество воды и солей в экстракте [14].

Примеры использования экстракции гидрофильными растворителями встречаются и в последних публикациях: так коллектив ученых из Воронежа исследовали экстракцию тирозина и триптофана [15]. Данные соединения имеют малую растворимость в воде, поэтому извлечение из водных сред затруднено. Использование гидрофобных растворителей при этом малоэффективно, коэффициенты распределения находятся в интервале 0.03 – 0.17, степень извлечения не может превысить 0.30 % – 1.67 % Триптофан и тирозин экстрагировали при помощи трехкомпонентной смеси гидрофильных растворителей (бутиловый спирт - ацетон - этилацетат). Были отмечены следующие преимущества такого экстрагента: улучшенная растворяющая способность по отношению к аминокислотам, возможность отдельного титрования кислот в экстракте, отсутствие побочных реакций, хорошая точность определения веществ. Полученные экстракты дают возможность непосредственного определения рассмотренных аминокислот такими физико-химическими методами, как атомно-эмиссионная спектроскопия или электрохимическими методами.

При титрометрическом определении при этом, может быть исключена стадия реэкстракции. Становится возможным также селективное определение изомеров и гомологов. В работе [16] также были предсказаны количественные параметры межфазного распределения тирозина и триптофана.

Ряд работ были посвящены задаче выделения фенола из водных сред, в том числе из сточных вод, которая оказалась весьма актуальной, так как фенолы обладают высокой токсичностью, а подходящий экстрагент для их извлечения ранее не был найден. Такой реагент, в полной мере должен удовлетворять предъявляемым требованиям по экстракционной способности, стоимости, доступности, пожаро- и взрывоопасности и др. В статье [17] были рассмотрены различные экстрагенты для выделения фенола из водных сред и сточных вод. Была обсуждена эффективность экстрагентов с учетом процессами их регенерации, химической устойчивостью и различными технологическими параметрами. В итоге все же оказалось, что эффективным экстрагентом для извлечения фенола может являться метилтретбутиловый эфир (МТБЭ).

Проведенные исследования по экстракции фенолов с использованием гидрофобных и гидрофильных реагентов показали эффективность последних. Стоит отметить так же расширение методов детектирования экстрактов при применении подобных экстрактов. Важным преимуществом при этом является возможность исключения реэкстракции. Как правило, при этой стадии появляются дополнительные погрешности. Отсутствие данной стадии также экономит время анализа. К преимуществам также относится возможность проводить дальнейший анализ физико-химические методами, например, кондуктометрическим, потенциометрическим и амперометрическим титрованием.

На базе теоретических исследований был создан комплекс экстракционно-электрохимических методов для отдельного определения малых количеств ароматических соединений в области окружающей среды.

Они нашли широкое применение для селективного определения гомологов, изомеров, моно- и полизамещенных соединений. Методы характеризуются воспроизводимостью, точностью получаемых результатов, быстротой и простотой аппаратного оформления. Такие разработки доступны практически каждой лаборатории.

Ковтун и Руденко смогли исследовать влияние состава водной фазы на извлечении 8-оксихинолината германия. Экстракция повышается за счет присутствия нитратов щелочных металлов. Важные значения, такие как коэффициенты распределения германия растут в ряду NH_4^+ , K^+ , Li^+ и с увеличением концентрации нитрата в водной фазе. Ученые объясняют это влияние связыванием воды, что приводит к понижению растворимости оксихинолината германия в водной фазе и переход его в органическую фазу. Чем выше гидратное число катиона и концентрация соли, тем больше степень связывания воды катионом растворенной соли [18].

1.3. Особенности ацетонитрила

1.3.1. Ацетонитрил как элюент

Ацетонитрил – это химическое соединение с формулой CH_3CN , представляющие собой бесцветную жидкость, так как обычный органический нитрил (цианистый водород является наиболее простым нитрилом, но цианидный анион не классифицируется как органический). Его получают в основном как побочный продукт из производства акрилонитрила. Его используют как полярный апротонный растворитель в органическом синтезе и в очистке бутадиена [19].

Его используют в лаборатории в качестве среднеполярного растворителя, смешивающего с водой и рядом органических растворителей, но не с насыщенными углеводородами. Также он имеет подходящий диапазон жидкости и высокую диэлектрическую постоянную 38,8. При дипольном моменте 3,92 D ацетонитрил может растворить множество различных ионных и неполярных соединений, а также может быть использован в качестве подвижной фазы для ВЭЖХ и ЖХ-МС.

Ацетонитрил является апротонным полярным органическим растворителем, который имел ограниченное применение до 80-х годов прошлого. Однако, уникальные свойства ацетонитрила позволили применять его в аналитической химии и число работ с его участием неуклонно растет. Ацетонитрил применяют для жидкостно-жидкостной экстракции и в качестве элюента для хроматографии. [20].

Высокая полярность ацетонитрила не делает его близким по свойствам к спиртам и воде, химическая природа ацетонитрила отличается от последних. До настоящего времени представляют большой интерес, но до сих пор не исследованы двойные смеси ацетонитрила с различными органическими растворителями. Среди этих растворителей есть, в том числе, и протонодонорные, такие, как метанол. В отличие от самоассоциатов воды и спиртов за счет двойных связей, сольваты ацетонитрила с метанолом и водой другие. По результатам исследования [21] смесь ацетонитрил – вода является трехкомпонентной системой. Причина этого – различные формы ацетонитрила. Воздействие на физические и химические свойства смесей ацетонитрил – вода оказывают образование сильных водородных связей и создание слабополярных самоассоциированных форм ацетонитрила [22].

В работе [23] показано, что смесь ацетонитрил – вода, выдержанные от получаса до нескольких часов при температуре ниже комнатной могут расслаиваться. Зафиксировано, что разделение фаз наблюдается при температурах ниже $-1,32\text{ }^{\circ}\text{C}$. Такое разделение характерно для широких пределов концентрации ацетонитрила, а именно от 31% об. до 89% об. ($\varphi = 0,31-0,89$). В этих условиях ацетонитрил распределен между двумя фазами. Верхняя фаза содержит 88% об. CH_3CN , а нижняя фаза состоит из 65% об. воды. Показано, что такое свойство CH_3CN может быть применимо для пробоподготовки. В работе [24] рассматриваются возможности ацетонитрила для депротеинизации сырого образца, извлечения белка из органического растворителя, для селективной ЖЖЭ сравнительно

низкомолекулярных соединений, триклозана, фенолов, или бисфенола из смесей, в том числе из молочных продуктов. Также это свойство поможет удалить избыток ацетонитрила из биологического материала и из подвижных фаз в ВЭЖХ.

В научной литературе встречается много исследований ацетонитрила и его водных растворов. Тем не менее, даже в таких данных как температура замерзания чистого ацетонитрила, нет согласия. Эти данные колеблются от -46°C до -41°C . Ученый Ревельский И.А. [24] считал, что почти все результаты определения физико-химических свойств индивидуальных и смешанных растворителей не верны, так как в них не учитывалось наличие примесей и следов влаги.

В работе [22] измерены температуры замерзания ацетонитрила различной концентрации в его смесях с водой. Получен сложный и нелинейный профиль кривых температуры замерзания смесей. Показано, что начиная с 90% об. ацетонитрила в воде, температура замерзания заметно уменьшается. Минимальная температура замерзания, обнаруженная в работе [22] $-44,9^{\circ}\text{C}$ наблюдается в такой смеси, которая состоит из 98% об. ацетонитрила. Точку замерзания 100%-го ацетонитрила ученые данной работы зафиксировали как $-43,4^{\circ}\text{C}$. Таким образом, было показано, что температура замерзания ацетонитрила зависит от содержания примесей и от количества воды. Изменение характера замерзания бинарной смеси ацетонитрил-вода связывают с изменением полярности системы в интервале от 90% до 100% об. CH_3CN . Это свойство ацетонитрила важно в ОФ ВЭЖХ.

В работе [22] ученые на примере хроматографического поведения стероидов показали, как в данных узких пределах составов бинарных смесей ацетонитрила с водой происходит изменение времени удерживания сорбатов. Такая зависимость от состава элюента более характерно для НФ ВЭЖХ. В данном режиме неподвижная фаза более полярна, чем элюент. Эта закономерность показывает, что полярность элюента сильно меняется,

по мере приближения концентрации ацетонитрила к 100%. Таким образом, чистый ацетонитрил с малым содержанием воды можно рассматривать как неполярный элюент, но его полярность легко изменяется при добавлении небольшого объема воды.

Бинарная смесь ацетонитрил – вода прозрачна в широком диапазоне длин волн [20], что дает возможность использовать УФ-детектор для обнаружения аналитических сигналов самых различных органических соединений при выполнении анализа методом УФ-ВЭЖХ или спектрофотометрического анализа. При этом в ацетонитриле должны отсутствовать примеси акрилонитрила и различных ненасыщенных соединений с сопряженными кратными связями, т.е. ацетонитрил должен обладать квалификацией «чистый для ВЭЖХ», «чистый для спектроскопии».

1.3.2. Ацетонитрил как экстрагент

Уникальные экстракционные свойства ацетонитрила, а также его хроматографические и спектрофотометрические свойства обуславливают интерес к нему при разработке и усовершенствовании методик анализа веществ, в том числе и биологически активных соединений. Особенно интересен ацетонитрил как гидрофильный экстрагент. Изучение экстракционной эффективности ацетонитрильной смеси при низких температурах, подбор тройных смесей, которые могут образовывать две жидкие фазы при охлаждении, являются одним из актуальных направлений их исследования.

Ацетонитрил обладает более высоким постоянным потоком, чем спирты, поскольку при любых равных условиях зависимость коэффициента проницаемости спиртов ниже, чем у чистого ацетонитрила. Она снижается для эквиобъемных составов аномального растворителя – воды. Так же ученые заметили, что для таких составов характерно значительное понижение растворимости буферных растворов [20].

В работе [26] исследовались возможности тройной системы для экстракции фенола. Показано, что в экстракционных системах вода - ацетонитрил – высаливатель с высоким содержанием ацетонитрила в ацетонитрильную фазу фенолы распределяются намного хуже, чем в водную фазу. Причиной этого может быть изменение химического сродства ацетонитрила к производным фенола при приближении концентрации его к 100%.

В работе [27] была изучена возможность применения ацетонитрила в качестве экстрагента для извлечения фенолов из водных сред холодной экстракцией. Создавались благоприятные условия для образования двух фаз.

Показано, что расслаивание системы ацетонитрил-вода при -10°C происходит для систем с содержанием ацетонитрила от 0,38 до 0,87. При этом возможно подобрать состав растворителя пробы, который максимально близок к составу подвижной фазы. Расслоение системы может наблюдаться и при более высоких температурах, но тогда требуется создавать определенные условия (термостаты с тонкой регулировкой определенной температуры).

Такое расслаивание смеси ацетонитрила с водой с образованием двух фаз при низкой температуре представляет большой интерес и практическую значимость для предварительного концентрирования при анализах методом ВЭЖХ. Ацетонитрил является базовым растворителем при приготовлении элюента в ОФ ВЭЖХ. Это наиболее важно в анализе биологического материала, анализе выделяемых метаболитов и неустойчивых биологически активных соединений. В статье [26] приведены коэффициенты распределения D и степени извлечения R фенола и его производных в системе вода – ацетонитрил при температуре -10°C . В работе была проведена ЖЖЭ фенолов ацетонитрилом в присутствии соли $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Так же был разработан способ жидкостно-жидкостной экстракции парацетамола из водных растворов с помощью экстрагента ацетонитрила. Данный способ был испытан на стадии предварительного концентрирования в обнаружении парацетамола в водных растворах с последующим методом ВЭЖХ, а также фотоколориметрическим методом [28].

В работе [29] было исследовано поверхностное и межфазное натяжение в смеси ацетонитрил-вода (азеотроп) и водно-солевой раствор. Процентное содержание: 0,84:0,16:17,5. Диапазон рассматриваемых температур 293—303К. Значения поверхностного и межфазного натяжения были рассмотрены также при введении в систему добавки фенола. Данная экстракционная система была рекомендована для пробоподготовки при определении фенола методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Ученые предоставили новые особенности пробоподготовки малорастворимого производного аденина VMA-99-82 [30]. Им удалось разработать эффективный метод количественного извлечения данного вещества из биологической жидкости. С помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) количественного определения и обнаружения производного аденина соединения VMA-99-82 возникали некоторые аналитические проблемы, характерные при работе с малорастворимыми веществами. В результате проведенных исследований ученые установили, что соединение VMA-99-82 не растворимо практически во всех растворителях, применяемых в хроматографии. Так же задалась дополнительная аналитическая задача – подбор оптимального сольвента. Сольвент нужно подобрать с учетом допустимости введения его в хроматографическую систему, и в это же время обеспечить степень растворимости. Это необходимо для того, чтобы использовать раствор соединения VMA-99-82 в качестве абсолютного стандарта. В итоге после экспериментального подбора для исследуемой субстанции подобрали

растворитель – смесь 90%-го этанола и ацетонитрила в соотношении 1:1. Диметилсульфоксид можно так же рассматривать в качестве растворителя, так как обеспечивает аналогичную степень растворимости. Конечным выбором растворителя стала смесь этанола и ацетонитрила (1:1), так как обладает благоприятными физико-химическими свойствами для введения в хроматографическую систему, а также имеет большую стойкость при хранении раствора изучаемого соединения. Другие растворители в эксперименте показывали низкую степень растворимости соединения VMA-99-82 по сравнению с вышеуказанными сольвентами.

Ученые разработали эффективный способ одновременного определения нужных и важных веществ пестицидов различных химических классов в печени рыб методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектированием, используя быструю методику подготовки проб [31]. Был подобран оптимальный объем и состав реагентов для экстракции, проводили обработку ультразвуком, задали наиболее подходящее время центрифугирования, учитывали природу и состав сорбентов, которые обеспечивают максимальные показатели степеней извлечения изучаемых веществ из системы, а также их очистку от других веществ. В качестве экстрагента решили использовать ацетонитрил. Так как ацетонитрил гидрофильный растворитель, то экстрагирование необходимо было проводить в присутствии буфера (трехзамещенный и двухзамещенный лимоннокислый натрий) После экстракции экстракт был очищен от соэкстрагируемых веществ (жиров, белков, сахаров, органических и жирных кислот, пигментов и других примесей) с помощью насыпных сорбентов Bondesil PSA (алкилированный амин, содержащий две аминовые функциональные группы вторичную и первичную) и C18E (обращено-фазовый сорбент на основе силикагеля с привитыми октадецилсилановыми группами). Степень извлечения изучаемых нужных веществ пестицидов из печени рыб составила около 79%. Предел обнаружения определяемых веществ

пестицидов составил от 0,4 до 0,97 мг/кг. Также величина относительного стандартного отклонения результатов анализа составляла 0,01-0,14

В работе [32] изучались особенности жидкостно-жидкостной экстракции некоторых замещенных фенолов (алкилфенолов и двухатомных фенолов) в различных растворителях. Были рассмотрены гидрофобные, гидрофобно-гидрофильные и гидрофильные индивидуальные и смешанные растворители. Так же были разработаны экстракционные способы концентрирования и извлечения фенольных соединений из конденсированных сред для определенных методик определения: спектрофотометрических, электрохимических и жидкостно-хроматографических.

1.4 Объекты исследования: фенол, бенз(а)пирен

По изучению литературы по гидрофильной экстракции было заметно, что для ее изучения в основном берут объект исследования фенол. Они интересны тем, что присутствуют в бытовых сточных водах и в разнообразных производственных сточных водах и очистить воду от фенолов очень затруднительно [33]. Одним из высокотоксичных загрязнителей является фенол (ПДК = 0,001 мг/л), так как он обладает большим спросом на производстве по разнообразным красителям, пестицидов, лекарственных препаратов и других веществ. К подобным токсичным веществам относят карбоновые кислоты. Они содержатся во многих чистящих и моющих средствах, из-за чего и превышает допустимость наличия фенолов в сточных водах.

Для извлечения таких загрязнителей как фенол часто используют сорбционные методы [34], но можно применять и другие методы такие, как озонирование, использование каталитического окисления, воздействие УФО и др.

Была изучена учеными сорбция фенола и щавелевой кислоты на природных сорбентах – низинном и верховом торфах Орловского месторождения Томской области и активированном угле древесного

происхождения. Благодаря таким исследованиям были определены физико-химические характеристики сорбентов, исследовано влияние кислотности среды, концентрации сорбируемых веществ, навески сорбента, времени контакта сорбента с раствором на избирательность сорбции. По оценке возможности удаления фенола и щавелевой кислоты из водных растворов исследуемыми сорбентами был обнаружен самый оптимальный вариант сорбции [35].

Фенолы обладают высокой токсичностью [36], чем так же вызывают большой интерес. Главной задачей для ученых – это оптимальный и лучший вариант выбора экстрагента для извлечений токсичных веществ из вод. ЖЖЭ фенолов углеводородами различного строения не эффективна, так, например, при экстракции фенола гексаном коэффициент распределения 0.12, толуолом – 2.5 [37].

Коренман Я.И. с сотрудниками провел много исследований по экстракциям фенолов. Ими был произведен целый фундаментальный цикл исследований по экстракционным равновесиям фенола и его производных. Можно освоить самые важные закономерности экстракции фенолов из водных растворов различными растворителями. [38, 39]

Фенол – это широкий представитель классов соединений, что позволяет изучать экстракцию его гомологов, изомеров, родственных соединений со схожими природными характеристиками и т.п. [13]

Бенз(а)пирен является полициклическим ароматическим углеводородом (ПАУ), имеет высокую токсичность и относится к веществам класса опасности 1 (чрезвычайно опасные). Многие ученые были озадачены по его извлечению, так как было замечено, что природа загрязнена им.

Среда загрязняется бенз(а)пиреном за счет органических вяжущих материалов, которые используются при строительстве дорог, отработанные газы двигателей внутреннего сгорания, а также шин. Было доказано учеными на изучении степных растений Ростовской области, что главным источником бенз(а)пирена является атмосферное загрязнение, а не

удобрения [40]. Так же есть и природные следствия образования бенз(а)пирена – лесные пожары, извержение вулканов.

Так же выявлено уже давно, что в составе смолы табачного дыма содержится бенз(а)пирен. Он является мощнейшим канцерогеном и мутагеном, который оказывает очень вредное воздействие на молекулу ДНК и аналогично он вреден для самого человека в самых малых по дозе концентрациях, так как он может накапливаться в среде организма [41].

Нужно быть с данным веществом крайне осторожным, так как он может проникать в организм человека через кожный покров, дыхательную и желудочно-кишечную систему, а даже в утробе матери через плаценту в организм ребенка. 3,4-Бензпирен может создавать с другими подобными компонентами и образовывать прочные комплексные соединения. Это было доказано, когда ученые со всего мира проводили исследования влияния данного вещества на животный организм.

Бенз(а)пирен в основном определяют в воздухе. Данное вещество на больших нефтеперерабатывающих заводах улавливают с помощью аэрозольного фильтра или сорбента, которых обрабатывается экстрагентами. Далее технологи удаляют растворитель выпариванием и с помощью метода ВЭЖХ дается возможность определить количество бенз(а)пирена. Затрудненность данного определения является самоизвлечение бенз(а)пирена из осадка на фильтре органическим растворителем. От выбора растворителя зависит степень извлечения данного вещества. В качестве экстрагента берут в основном летучие растворители, так как бенз(а)пирен в нем легко растворим и уходит меньше времени на упаривание растворителя.

1.5. ДИРФ-режим в хроматографии

ДИРФ-режим (режим динамически индуцированного раздела фаз) – это вид хроматографии, где подвижная фаза состоит из воды, органического растворителя (в основном берут ацетонитрил) и соли, которая близка к гетерогенной смеси (разделение фаз). Данный вид

перспективно использовать в гидрофильной хроматографии, но также его реализуют в обращенно-фазовой хроматографии.

ДИРФ-системы обладают гибкими и чувствительными свойствами по отношению к самому эксперименту, так как при определении хроматографическим методом можно обнаружить образование тонких пленок одного из компонентов этой системы. Благодаря такому методу, можно применять для исследования структуры самих жидких сред вблизи точки расслоения фаз. Так же объекты исследования могут являться хиральные (оптически активные) фазы, которые дают положительный параметр – селективность разделения пары энантиомеров [42].

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Реагенты и оборудование

1. Жидкостной хроматограф со спектрофотометрическим детектором фирмы Agilent Technologies 1220
2. Хроматографический шприц на 50 мкл Agilent 1220;
3. Колонка хроматографическая ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6×100мм), произведенная в Agilent;
4. Ультразвуковая ванна «Сапфир»;
5. Аналитические весы;
6. Ацетонитрил для ВЭЖХ;
7. н-Гексан для ВЭЖХ;
8. Дихлорметан х.ч.;
9. Бензол ч.д.а.;
10. Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4) ч.д.а.;
11. Дистиллированная вода;
12. Фенол ч.д.а.;
13. Бенз(а)пирен ГСО 7515-90.

2.2. Методика проведения хроматографического анализа

Для обнаружения и определения данных объектов исследования (фенол, бенз(а)пирен) использовали ВЭЖХ анализ. Данный анализ осуществляли на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1220, который оборудован УФ-спектрофотометрическим детектором. Для обнаружения фенола создали оптимальные условия: длина волны составляла 254нм, элюент – ацетонитрил - вода в соотношении 2:8. За счет большого времени удерживания бенз(а)пирена было необходимо изменить элюент, и он составил соотношение 8:2. Пробы были введены в объеме 20 мкл.

Следует учесть, что при экстракциях гидрофобными растворителями (н-гексан, бензол и т.д.) в пробу необходимо было добавлять изопропанол

(50 мкл пробы + 50 мкл изопропанола), чтобы добиться полного смешения пробы с элюентом.

2.3. Методика проведения экстракций гидрофобными растворителями

Приготавливали раствор фенола с его концентрацией 10^{-2} М на 100 мл. Раствор помещали в делительную воронку. Затем в делительную воронку помещали 10 мл н-гексана, экстрагировали (взбалтывали) в течении 15 минут. Дали время для отстаивания (приблизительно 5-10 минут) для того, чтобы суспензия образовала две фазы. Отбирали пробу из органической фазы 50 мкл, затем к этой пробе добавили 50 мкл изопропанола. Провели хроматографический анализ. Проводили вычисления по полученной предварительно градуировке по фенолу.

2.4. Нахождение критических значений содержания ацетонитрила для расслаивания системы ацетонитрил - водно-солевой раствор

В пяти стаканах на 50 мл готовили растворы дигидрофосфата калия по 20 мл с разными концентрациями: 5-, 10-, 15-, 20-, 25-%. К данным растворам по каплям прибавляли ацетонитрил. Когда визуально было замечено расслаивание, фиксировали затраченный объем ацетонитрила. Так же при последующем добавлении растворителя фиксировали затраченный объем на выпадение осадка. Произвели перевод в проценты.

2.5. Методика проведения экстракций ацетонитрилом

Экстракцию ацетонитрилом исследовали на примере 2-х объектов: фенола и бенз(а)пирена.

Для извлечения фенола готовили его раствор с концентрацией 10^{-2} М на 92мл. Как было выяснено, по нахождению критических значений оптимальным являлся 15% раствор соли для системы ацетонитрил-водно-солевой раствор. Добавляли 8 мл ацетонитрила для экстрагирования. После

проведения однократной экстракции (время проведения составляло 15 минут) добавляли еще 3 мл для расслаивания. Далее проводили хроматографический анализ.

В случае бенз(а)пирена брали иную исходную концентрацию. Бенз(а)пирен являлся ГСО 7515-90, с концентрацией 100 мкг/мл. Образец ГСО (1,5 мл) был растворен в 92 мл воды. Был произведен хроматографический анализ. После этого добавили 6,5 мл ацетонитрила и 15г дигидрофосфата калия. Провели экстракцию в течении 15 минут. Затем для расслаивания добавили 3 мл ацетонитрила. Отобрали пробу из органической фазы и провели хроматографический анализ.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

При анализе многих ароматических соединений, входящих в группу супертоксикантов зачастую используются методы предварительно концентрирования. Анализ подавляющего большинства соединений впоследствии идет методом ОФ ВЭЖХ. В данном режиме хроматографирования в качестве элюента используются водно-органические смеси. При экстракции гидрофобными растворителями для полного смешения сорбата с элюентом необходима реэкстракция из гидрофобного растворителя. Реэкстракция зачастую требуется и при использовании других физико-химических методов, не только хроматографии. Поэтому, безусловно, вызывает интерес вопрос использования в качестве гидрофильного экстрагента ацетонитрила, который являясь одновременно подвижной фазой в ВЭЖХ, не будет требовать удаления его из пробы. В качестве высаливателя было бы логично использовать соль, которая также применима в ВЭЖХ. Таким соединением является дигидрофосфат калия, он используется в хроматографии и для создания необходимой рН (буфер) и при реализации особого режима – режима динамически индуцированного раздела фаз (ДИРФ).

В нашей работе мы решили оценить возможности использования ацетонитрила в качестве гидрофильного экстрагента при использовании в качестве высаливателя дигидрофосфата калия. В качестве экстрагируемых соединений были выбраны фенол и бенз(а)пирен. Следили за количеством извлекаемых компонентов с помощью метода ВЭЖХ.

Для определения коэффициентов извлечения фенола методом ВЭЖХ использовали метод абсолютной градуировки. На рис.1 приведена полученная градуировочная зависимость.

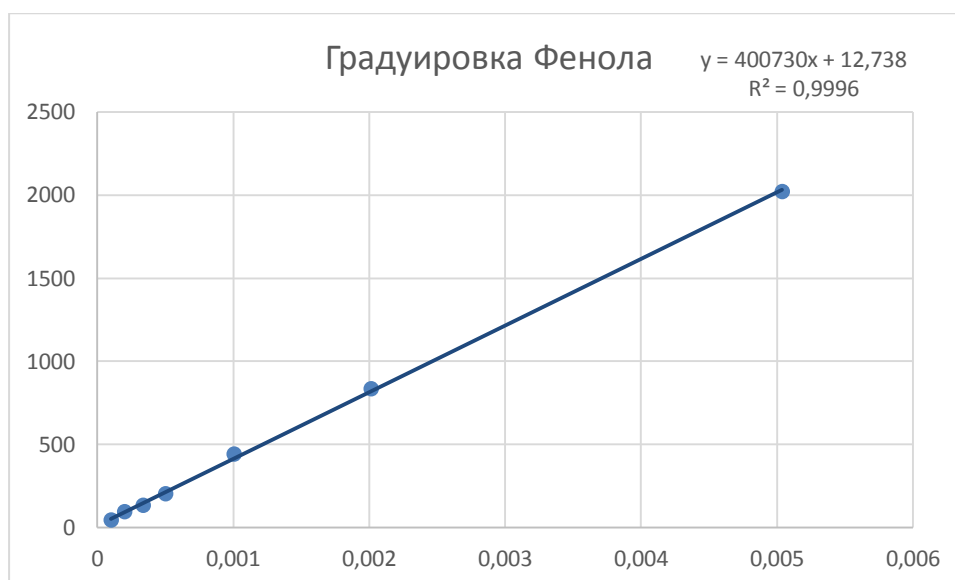


Рисунок 1 – Градуировочная зависимость площади пика от концентрации фенола

Уравнение, которое описывает эту зависимость, имеет вид:

$$Q = 400730 \cdot C + 12,738,$$

где Q – площадь пика, а C – массовая концентрация фенола (г/мл).

Полученное уравнение использовали для определения концентрации фенола в органической фазе после однократной экстракции.

В таблице 3.1. приведены количественные характеристики экстракции. Были оценены концентрации фенола до экстракции (по приготовлению) и после (анализ ВЭЖХ) и рассчитан коэффициент извлечения. Экстрагирование проводили в течении 15 минут. Экстракция была однократной.

Таблица 3.1 - Экстракция фенола в различных растворителях (n=3, P=0.95)

Экстрагент	Концентрация фенола до экстракции, г/мл	Концентрация фенола после экстракции в органической фазе, г/мл	Коэффициент распределения	Степень извлечения, %
Н-Гексан	0.00975	0.00148	0.15±0.01	1.5±0.1
Дихлорметан	0.00961	0.04692	4.88±0.17	48.5±1.21

Бензол	0.00977	0.02031	2.08±0.08	20.6±0.52
Ацетонитрил	0.01029	0.05665	5.51±0.19	54.6±1.26

Как видно, дихлорметан экстрагировал значительно лучше по сравнению с остальными гидрофобными растворителями. Это объясняется тем, что дихлорметан обладает большим сходством с фенолом.

В таблице 3.2 приведены условия (критические значения), соответствующие концентрации ацетонитрила, при которой происходит расслаивание системы ацетонитрил-водный раствор дигидрофосфата натрия, в зависимости от концентрации соли в системе.

Таблица 3.2 - Критические значения содержания ацетонитрила для системы ацетонитрил - водно-солевой раствор

Концентрация KH_2PO_4 , %	Содержание ацетонитрила для расслаивания		Содержание аценитрила для выпадения осадка	
	мл	%	мл	%
5	5.3	21.0	6.2	23.7
10	3.6	15.3	4.1	17.0
15	1.6	7.4	2.0	9.1
20	0.9	4.3	1.6	7.4
25	0.5	2.4	1.0	4.8

Исходя из этих значений, определенных экспериментальными путем, и были выбраны условия проведения экстракции, соотношение объемов экстрагента и водно-солевого раствора.

В работе также было проведено экстрагирование бенз(а)пирена. Данное соединение является супертоксикантом, нормы ПДК на него крайне низки. В воде его содержание не должно превышать 0,000001 мг/л, в питьевой – в 2 раза меньше. В продуктах питания не более 0,001 мг/кг. В ВЭЖХ он определяется с помощью флуориметрического детектора с предварительной экстракцией гексаном.

Выполнение экстракции в тех же условиях, что и экстракции фенола, позволило так же хроматографически зафиксировать повышение содержания бенз(а)пирена в органической фазе. Коэффициент распределения составил 3,55. Дальнейшее исследование экстракции бенз(а)пирена, выполненной многократно, может дать ответ на вопрос возможно ли определение бенз(а)пирена с использованием ВЭЖХ хроматографа с УФ-детектированием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По анализу литературных данных были изучены методы экстракции при пробоподготовке и концентрировании, в том числе при анализе методом жидкостной экстракции.

Было определено критического содержание ацетонитрила, при котором происходит расслаивание системы ацетонитрил – водно-солевой раствор (дигидрофосфат калия), на основе которого была выбрана оптимальная концентрация соли для водно-ацетонитрильного раствора.

Также был произведен ВЭЖХ контроль за количественными характеристиками процесса экстракций, на основе которых сделан вывод, что ацетонитрил для экстракций является лучшим экстрагентом ароматических соединений для последующего определения методом ВЭЖХ.

Система ацетонитрил – дигидрофосфат калия может быть использована для концентрирования ароматических соединений с последующим определением методом ВЭЖХ или другими методами, минуя реэкстракцию.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Другов Ю.С., Родин А.А. Анализ загрязненной почвы и опасных отходов : практическое руководство. : Бином. Лаборатория знаний, 2013. С. 13-15.
2. Хлудков С.С. Диффузия примесей в арсениде галлия, диффузионные структуры и приборы // Вестник Томского государственного университета. 2005. С. 84-94.
3. Карпов Ю.А., Савостин Ю.А. Методы пробоотбора и пробоподготовки : Бином. Лаборатория знаний, 2015. С. 130-235.
4. Прохорова Г.В. Адсорбционная инверсионная вольтамперометрия: анализ природных и биологических объектов / Г.В. Прохорова, В.М. Иванов, Д.А. Бондарь // Вестник Московского университета – 1998. – С. 219-223.
5. Васильева И.Е. Сорбционно-атомно-эмиссионное определение золота, платины и палладия в горных породах и рудах с использованием сорбента ПСТМ-ЗТ / И.Е. Васильева, Ю.Н. Пожидаева, Н.Н. Власова, М.Г. Воронков, Ю.А. Филипченко // Аналитика и контроль. – 2010. – Т.14. №1 – С. 16-24.
6. Залов А.З. Экстракционно-фотометрическое определение марганца (II) о-гидрокситиофенолом и аминафенолами / А.З. Залов // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2015. – С. 61-71.
7. Falter R. Determination of mercury species in natural waters at picogram level with on-line RP C18 preconcentration and HPLC-UV-PCO-CVAAS / R. Falter, H. E Scholer // Fresenius' Journal of Analytical Chemistry. – 1995. – P. 34-38.
8. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика) : учебник для вузов. Книга 1, 2001. С. 240-263.
9. Основы аналитической химии (под ред. Ю.А. Золотова) / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И.Фадеева и др. : учебник для вузов, 1999. – С. 219-238.

10. Mehrorang Ghaedi. Application of Optimized Vortex-Assisted Surfactant-Enhanced DLLME for Preconcentration of Thymol and Carvacrol, and Their Determination by HPLC-UV: Response Surface Methodology / Mehrorang Ghaedi, Mostafa Roosta, Saeid Khodadoust and Ali Daneshfar // *Journal of Chromatographic Science*. – 2015. – P. 2-10.
11. Donato M.G. The determination of non-steroidal antiinflammatory drugs in pharmaceuticals by capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic capillary chromatography / M.G. Donato, W. Baeyens, W. Van Den Bossche, P. Sandrab // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol.12 №1. – 1994. – P. 21-26.
12. Артеменко А.И., Тикунова И.В., Ануфриев Е.К. Практикум по органической химии: учеб. пособие для студентов. М. : Высшая школа – 1983. – С. 37.
13. Коренман Я.И. Экстракция органических соединений / Я.И. Коренман // *Соросовский образовательный журнал*. – 1997. - №1 – С. 40-44.
14. Методы разделения и концентрирования : методическое пособие для специального курса. : МГУ имени Ломоносова ; Москва. 2008. С.29-45.
15. Коренман Я.И. Коэффициенты распределения органических соединений : справочник. изд– во Воронеж. гос. ун-та ; Воронеж. 1992. С. 336.
16. Мокшина Н.Я. Моделирование процесса экстракции ароматических аминокислот в анализе фармацевтических препаратов. / Н.Я. Мокшина, С.И. Нифталиев, О.А. Пахомова // *Фундаментальные исследования*. – 2007. - №2 – С. 21-24.
17. Егуткин Н.Л. Экстракция фенола из водных растворов метил-трет-бутиловым спиртом / Н.Л. Егуткин, А.М. Сыркин // *Нефтегазовое дело: электронный научный журнал*. – 2014. - №1 – С. 193-205.

18. Золотов Ю.А., Кузьмин Н.М. Экстракционное концентрирование – Л. : Химия. 1971. 28 с.
19. Павлов О. С., Карсаков С. А., Павлов С. Ю. Развитие процессов разделения C4-углеводородов и очистки 1,3-бутадиена // Теоретические основы химической технологии. – 2011. – Т. 45. – №. 6. – С. 669-678.
20. Рудаков О.Б. Спутник хроматографиста: методы жидкостной хроматографии : Водолей ; Воронеж. 2004. 528 с.
21. Rowlen K.L. Raman spectroscopic study of solvation structure in acetonitrile / water mixtures / K.L. Rowlen, J.M. Harris // Anal. Chem. — 1991 — V.63, №10. — P. 964–969.
22. Zarzycki P. K. Acetonitrile, the polarity chameleon / P.K. Zarzycki, M. B. Zarzycka , M. M. Ślącza // Analytical and Bioanalytical Chemistry. — 2010 — V. 397, №3. — P. 905-908.
23. Pence D.N. Liquid-liquid equilibrium of the acetonitrile – water system for protein purification / D.N. Pence, Gu Tingyue // Separations Technology. – 1996 — V. 6, № 4 — P. 261–264.
24. Tingue Gu. Phase separation of acetonitrile – water mixture in protein purification / Gu Tingue, Gu Yesong, Zheng Yizhou // Separations Technology. — 1994 — V. 4, № 4 — P. 258–260.
25. Изотермы коэффициентов проницаемости бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков [и др.] // Журнал физической химии. — 2009 — Т. 83, № 11 — С. 2165-2168.
26. Жидкостная экстракция смешанными растворителями. Применение в химическом анализе фенолов / Е.А. Хорохордина [и др.]. — Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 2012 – 240 с.
27. Низкотемпературная жидкостная экстракция как способ пробоподготовки фенолов для анализа методом обращенно-фазовой ВЭЖХ / Е.А. Подолина [и др.] // Журнал аналитической химии. — 2010 — Т. 65, № 2 — С. 121-123.

28. Рудакова Л.В. Экстракционно-хроматографическое и экстракционное фотоколориметрическое определение парацетомола в суспензии «Парацетомол детский» / Л.В. Рудакова, Е.А. Хорохордина // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Вып.4. – С. 572-574.
29. Хорохордина Е.А. Поверхностное и межфазное натяжение в компонентах экстракционной системы ацетонитрил - водно-солевой раствор / Е.А. Хорохордина, О.Б. Рудаков, А.М. Черепяхин, И.В. Дубова // Конденсированные среды и межфазные границы Том 11. – 2009. – Вып.4. – С. 344-348.
30. Смирнова Л.А. Особенности пробоподготовки для метода высокоэффективной жидкостной хроматографии количественного определения малорастворимых соединений / Л. А. Смирнова, А. А. Озеров, Е. А. Сучков, А. Ф. Рябуха, К. А. Кузнецов // Волгоградский научно-медицинский журнал 2. – 2013. – С. 14-16.
31. Войкина А.В. Пробоподготовка QUECHERS при определении пестицидов различных химических классов / А.В. Войкина, Л.А. Бугаев // Научный журнал КубГАУ. – 2017. - № 132(08) – С. 1- 11.
32. Подолина Е.А. Экстракционно-экспериментальные способы определения фенолов в конденсированных средах / Е.А. Подолина, Е.Н. Грошев, О.Б. Рудаков // Конденсированные среды и межфазные границы Том 13. – 2011. - №1 – С. 72-79.
33. Чибисова Н. В. Практикум по экологической химии // Калининград: Изд.-во. Калининградский университет. – 1999. - 113 с.
34. Смирнов, А.Д. Сорбционная очистка воды / А.Д. Смирнов. – Л. : Химия, 1982. 168 с.
35. Киселева М.А. Изучение возможности извлечения фенола и щавелевой кислоты из водных растворов природными сорбентами / М.А. Киселева, Л.Б. Наумова, Л.Н. Гаева // Вестник ТГАСУ. – 2014. - №1 – С. 109-118.

36. Грушко Я.М. Вредные органические соединения в промышленных сточных водах. Л.: Химия, 1982. 214 с.
37. Определение нормируемых компонентов в природных и сточных водах. Под ред. М.М. Сенявина, Б.Ф. Мясоедова. М.: Наука. 1987. 199с.
38. Коренман Я. И. Экстракция фенолов. Горький: Волго-вятское книжное издательство, 1973. 216 с.
39. Коренман Я.И., Сельманщук Н.Н. Экстракционное концентрирование примесей органических соединений из природных и сточных вод // Журн. аналит. химии. – 1988. - Т.153, Вып.4. – 592 с.
40. Горобцова О.Н. Содержание 3, 4-бенз(а)пирена в растительности, расположенной в зоне влияния Новочеркасской ГРЭС / О.Н. Горобцова, О.Г. Назаренко, Т.М. Минкина, Н.И. Борисенко // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2006. – №. 3. – С. 63-66.
41. Сироджидинов Ш.А. Бензапирен как основной загрязнитель воздуха / Ш.А. Сироджидинов, М.С. Нигматов // Прогрессивные технологии и экономика в машиностроении: сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции для студентов и учащейся молодежи, г. Юрга, 7-9 апреля 2016 г. Т. 2. - Томск, 2016. – Изд-во ТПУ, 2016. – Т. 2. – С. 481-484.
42. Сапрыкин Л.В. Динамическое модифицирование в практике ВЭЖХ // Химический анализ. – 2005. - №. 1. – С. 20-36.