



УДК 543.544

Определение бисфенола А, триклозана и нонилфенола в материалах и экстрактах методом ТСХ, совмещенным с цифровой цветометрией

Рудаков О.Б.¹, Хорохордина Е.А.¹, Чан Хай Данг¹, Рудакова Л.В.²¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный архитектурно-строительный университет», Воронеж²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет», Воронеж

Поступила в редакцию 27.03.2016 г.

Разработан способ определения свободных экотоксикантов – бисфенола А, триклозана и нонилфенола, способных мигрировать из материалов бытового и строительного назначения в жидкие среды с применением метода нормально-фазовой ТСХ, совмещенного с цифровой цветометрией. Цветометрические параметры хроматографических пятен преобразовывали в интегральный показатель в виде лепестковых диаграмм, в качестве аналитических сигналов принимали относительный параметр удерживания R_f , периметр, площадь лепестковой диаграммы и критерий подобия диаграмм – коэффициент близости векторных массивов. При подготовке проб использовали низкотемпературную жидкостно-жидкостную экстракцию смесями ацетонитрил – этилацетат (85:15) и ацетонитрил – ИПС – этилацетат (80:5:15), охлажденными до -10°C .

Ключевые слова: бисфенол А, триклозан, нонилфенол, тонкослойная хроматография, цифровая цветометрия, низкотемпературная жидкостно-жидкостная экстракция

Determination of bisphenol A, nonylphenol and triclosan in materials and extracts by TLC combined with a digital colorimetry

Rudakov O.B.¹, Khorokhordina E.A.¹, Thran Hai Dang¹, Rudakova L.V.²¹Voronezh State Architecture and Civil Engineering, Voronezh²Voronezh State Medical University, Voronezh

It was developed the method for determination of toxicants (bisphenol A, triclosan, and nonylphenol) which can migrate from the household and construction materials to liquid phase. This method is carried out using normal phase TLC combined with a digital colorimetry. Colorimetric parameters of the chromatographic spots presented as polar diagrams, they were used as an integral indicator. As the analytical signal used the retention parameter R_f , perimeter and area of this diagrams and the criterion of similarity of diagrams (the factor of proximity of vector arrays). The low-temperature liquid-liquid extraction by a mixture of acetonitrile – ethyl acetate (85:15) and acetonitrile - IPA – ethyl acetate (80: 5: 15) which cooled to temperature of -10°C used for preparing of samples.

For TLC of phenols the plates of Sorbfil were used as the stationary phase. The mixture of chloroform - ethyl acetate - acetic acid (50: 50: 1) was used as mobile phase. Chromatographic spots were colored with chromophoric agents: the mixture of ferrum (III) chloride - potassium ferricyanide (blue spots) and the solution of KMnO_4 in diluted CH_3COOH (yellow spots on the pink background). Improved methods for determining of phenolic toxicants by TLC combined with a digital colorimetry has satisfactory metrological characteristics and the increase of information through the use of digital technologies.

Keywords: bisphenol A, triclosan, nonylphenol, thin layer chromatography, digital colorimetry, liquid-liquid extraction

Введение

В настоящее время полимерные материалы во все возрастающих масштабах применяют в строительстве, в приборостроении, в пищевой и фармацевтической отраслях. Нередко эти материалы технического и бытового назначения изготовлены из недорогих полимеров, в которых содержание свободных вредных веществ – мономеров, пластификаторов, стабилизаторов, консервантов и антиоксидантов может превышать безопасные для здоровья человека концентрации, поэтому аналитический контроль экотоксикантов в этих материалах стал насущной и злободневной проблемой [1-8].

Такие производные фенолов как бисфенол А, триклозан, нонилфенол входят в состав многих композиционных полимерных материалов либо как мономер (бисфенол А), либо как антиоксидантные или консервирующие добавки (нонилфенол, триклозан). Так, бисфенол А является одним из ключевых мономеров в производстве эпоксидных смол и поликарбонатных пластиков, а также отвердителем и стабилизатором в полимерных материалах. Триклозан, как хлорпроизводное фенола, является известным антибактериальным агентом широкого спектра действия, обладает противовоспалительными свойствами, действует на грамм-положительную и на грамм-отрицательную флору, а также на грибковые микроорганизмы, поэтому его активно используют в качестве антибактериальной добавки в полимеры. Концентрация триклозана в полимерных материалах обычно составляет от 0,1 до 1%. Нонилфенол (4-нонилфенол) – отвердитель и стабилизатор, ПАВ, пластификатор, также широко применяется в получении полимерных материалов.

Рассматриваемые фенольные соединения способны аккумулироваться в организме и вызывать те или иные нарушения здоровья человека. Для рутинного мониторинга содержания свободных экотоксикантов в материалах необходимы экспрессные, безопасные и экономически обоснованные методы пробоподготовки и анализа.

Для экспрессного тест-контроля при мониторинге содержания фенолов в материалах, изделиях и конструкциях весьма полезным является бюджетный вариант анализа – ТСХ, преимуществом которого является простота приемов и аппаратуры, ее компактность, низкие требования к энергообеспеченности оборудования (лабораторный стол с минимальным количеством химической посуды и реактивов), что обуславливает невысокую стоимость единичного анализа. Этот метод особенно актуален во входящем и выходящем контроле продукции на ее безопасность в небольших цеховых и мобильных лабораториях в условиях ограниченного финансирования исследований.

Для фенольных соединений характерно наличие высокочувствительных цветных реакций, применяемых в ТСХ, этот метод отвечает многим требованиям, предъявляемым к способам мониторинга экотоксикантов. Интенсивное развитие компьютерного софта для получения, обработки и хранения цифровых изображений привело к широкому внедрению в аналитическую практику различных устройств, совмещенных с ПК, в которых видеосигнал используется в качестве аналитического: цифровые фото и видеокамеры, планшетные сканеры [9-11]. Поэтому применение ТСХ в сочетании с цифровой цветометрией (ЦЦМ) в мониторинге производных фенола в различных материалах и средах имеет большую перспективу.

Цель работы – усовершенствовать способ определения бисфенола А, триклозана и нонилфенола методом ТСХ в части применения хромофорных реакций и обработки хроматографических пятен с применением ЦЦМ.

Эксперимент

Для ТСХ анализов использовали пластины марки Sorbfil (Краснодар), размером 12.5×5 см, сорбент – силикагель с зернением 5-12 мкм, в качестве элюента взяли смесь хлороформ – этилацетат – уксусная кислота (50:50:1), для идентификации по величине R_f определили относительное удерживание нескольких фенолов (табл.1). При проявлении пятен использовали следующие хромофорные реакции:

1) обработка пластины пульверизатором смесью хлорид железа (III) – феррицианид калия (синие пятна);

2) обработка пластины пульверизатором 0,1 н. раствором $KMnO_4$ в разбавленной CH_3COOH (желтые пятна на розовом фоне).

Цветометрические характеристики свежеполученных пятен определяли по величине обобщенного показателя – периметру или площади лепестковой диаграммы (ЛД), построенной по величинам интенсивности цветовых компонент $R_1, G_1, B_1, R_2, G_2, B_2$ хроматографических пятен, окрашенных параллельно 2-мя хромофорными реактивами. Индексы 1 и 2 означают 1-ю и 2-ю цветную реакцию.

Для регистрации цифрового изображения использовали стереомикроскоп MEIJ TECHNO RZ с видеомодулем BR-3151LC-UF высокого разрешения с десятибитным каналом формирования, обработку изображения проводили на ПК, оснащенном ПО «Es-Experts ESECams v. 17» и «Es-Experts PICTURE SHOW» фирмы «НПК «ЕС-Экспертс». Данный софт позволяет в интерактивном режиме управлять съемкой объекта, применять различные цифровые фильтры и сохранять последовательность отснятых кадров в виде отдельной сессии. Формат сохранения электронного изображения – *JPEG*, размер изображения – 1 МБ. Количественные измерения параметров цветности и геометрических параметров ЛД проводили в оболочке ПО MS Excel и (или) MathCAD.

Таблица 1. Хроматографические характеристики фенолов, $C=1.0$ мг/см³

Элюент	Аналит	R_f
Хлороформ-этилацетат – уксусная кислота (50:50:1)	Триклозан	0.78
	4-Нонилфенол	0.77
	2-трет-Бутилфенол	0.75
	Бисфенол А	0.73
	орто-Крезол	0.72
	мета-Крезол	0.71
	пара-Крезол	0.71
	Фенол	0.67
	Резорцин	0.65
	Гидрохинон	0.58

Форма ЛД для каждого фенольного соединения имеет индивидуальный профиль, для распознавания геометрического различия ЛД применяли коэффициент близости векторных массивов ε . В качестве эталонной фигуры приняли ЛД фенола ($\varepsilon=0$). Геометрические параметры ЛД рассчитывали по уравнениям (1) и (2):

$$S_j = \sum_{n=1}^c \left(\frac{1}{2} \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \sin \Delta\varphi \right), \quad (1)$$

$$P_j = \sum_{n=1}^c \sqrt{(\alpha_{j,n})^2 (\alpha_{j,n+1})^2 - 2 \cdot \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \cos \Delta\varphi}, \quad (2)$$

где S – площадь, P – периметр фигуры ЛД; $\Delta\varphi$ – углы между соседними радиусами на ЛД.

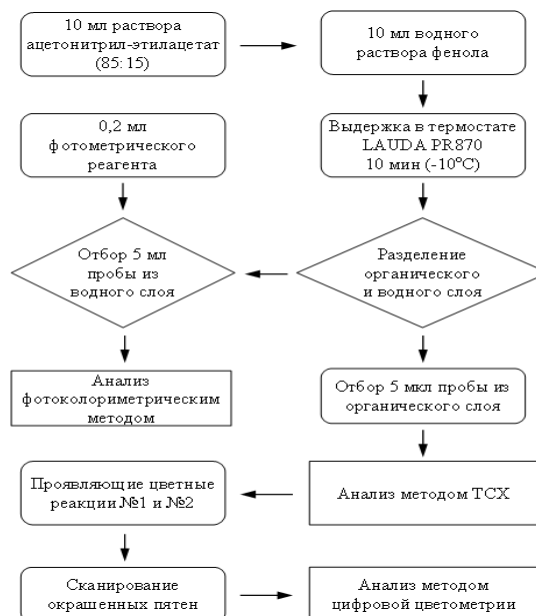


Рис. 1. Блок-схема экстракционно-хроматографической методики определения алкилфенолов методом ТСХ в сочетании с цифровой цветометрией

Для концентрирования экотоксикантов из водных смывов и растворов использовали режим низкотемпературной гидрофильной жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) смесями ацетонитрил – этилацетат (85:15) и ацетонитрил – ИПС – этилацетат (80:5:15), в которых расслоение на две жидкие фазы происходит при выдерживании смеси при -10°C в течение 10-30 мин. Эти смеси лучше растворяют и эффективнее извлекают алкилфенолы, чем чистый ацетонитрил [12]. Соотношение смешанного экстрагента и воды 1:1.

Блок-схема процедуры выполнения анализа по усовершенствованной методике приведена на рис. 1. После проведения ЖЖЭ микрошприцом отбирали из верхнего органического слоя 5 мкл аликвоты и проводили хроматографирование методом ТСХ в сочетании с ЦЦМ.

Обсуждение результатов

Описанная в экспериментальной части экстракционная пробоподготовка имеет универсальный характер, после отделения органического слоя (в нем преобладает органический растворитель) от водного (в нем доля воды выше доли органического растворителя), аликвоту первого можно отправить не только на анализ методом ТСХ, но и ВЭЖХ, либо на анализ спектрофотометрическим способом с использованием аналитической длины волны фенольных соединений в области УФ-спектра 254-290 нм, либо после реакции с хромофорным реагентом раствор можно проанализировать фотоколориметрически при длине волны продукта реакции фенола с фотометрическим реагентом (рис. 1). Например, диазотированный 4-нитроанилин образует с фенольными соединениями продукты реакции, имеющие хороший аналитический сигнал в области 390 нм. Наконец, эту аликвоту можно использовать для ТСХ с определением размера пятен с помощью излучателя УФ-света в хроматогра-

фической камере, или для проявления пятен хромофорными реагентами и последующей обработки их электронных изображений.

Как видно из табл. 1 и рис. 2 в условиях нормально-фазовой ТСХ на силикагеле Sorbfil с применением оптимизированного по технико-эксплуатационным свойствам состава подвижной фазы (хлороформ – этилацетат – уксусная кислота, 50:50:1 [13]) удерживание фенолов (R_f) нелинейно зависит от их гидрофобно-гидрофильного баланса (ГГБ), выраженного критерием Ганча-Лео, рассчитанного по алгоритму BioBite ($ClogP$) [9].

Чем выше гидрофобность, тем меньше сорбат удерживается полярной стационарной фазой и легче вымывается из нее. Адсорбция фенолов на поверхности силикагеля происходит, как известно, за счет взаимодействия гидроксильных фенольных групп с силанольными группами. Поверхность силикагеля тонкослойной пластины увлажняется при контакте с парами воздуха, со следами воды в подвижной фазе, это явление приводит к созданию дополнительных условий, благоприятных для удерживания за счет водородных связей между -ОН фенолов и увлажненной поверхностью силикагеля. Поэтому двухатомные фенолы хорошо удерживаются на поверхности пластины. Для *орто*-замещенных фенолов группа -ОН экранируется заместителем, что затрудняет ее взаимодействие с силанольными группами -ОН, облегчает десорбцию фенола, при этом гидрофобный «поплавок» алкилфенольного фрагмента ориентируется в направлении неполярной подвижной фазы.

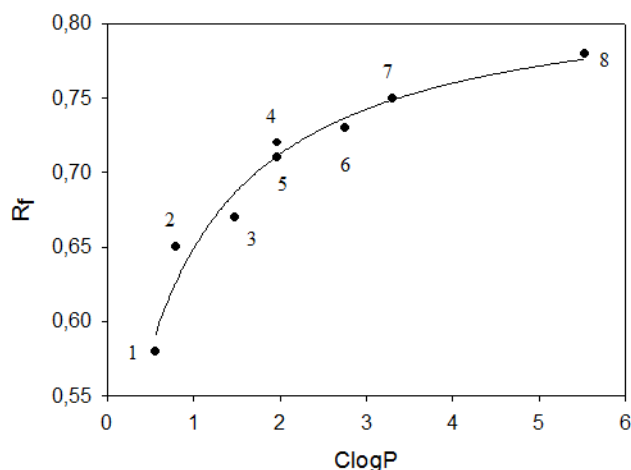


Рис. 2. Зависимость параметров удерживания фенолов от их гидрофобности на силикагеле (Sorbfil), элюент хлороформ – этилацетат – CH_3COOH (50:50:1): 1 - гидрохинон, 2 – резорцин; 3 – фенол; 4 – *орто*-крезол; 5 – *пара*-крезол, *мета*-крезол; 6 - бисфенол А; 7 – 2-трет-бутилфенол; 8 – триклозан

Эти данные хорошо согласуются с хроматографическим поведением фенолов в условиях колоночной нормально-фазовой хроматографии [14]. Следует отметить, что разница между R_f для изомерных крезолов практически отсутствует, и она сравнительно не велика, если различия между параметрами $ClogP$ также не велики, это затрудняет идентификацию фенолов только по параметрам удерживания.

На рис. 3 приведены ЛД для фенола, бисфенола А, триклозана и нонолфенола, полученные при проявлении пятен 2 хромофорными реакциями на тонком слое сорбента Sorbfil для разных концентраций аналитов. Видно невооруженным глазом, что ЛД образуют индивидуальный профиль, характерный для каждого фенола. В табл. 2 даны результаты расчетов геометрических параметров ЛД, из которых следу-

ет, что при оцифровке видеосигнала бисфенол А, триклозан и нонилфенол заметно отличаются по своим интегральным цветометрическим характеристикам от фенола, но в меньшей степени между собой.

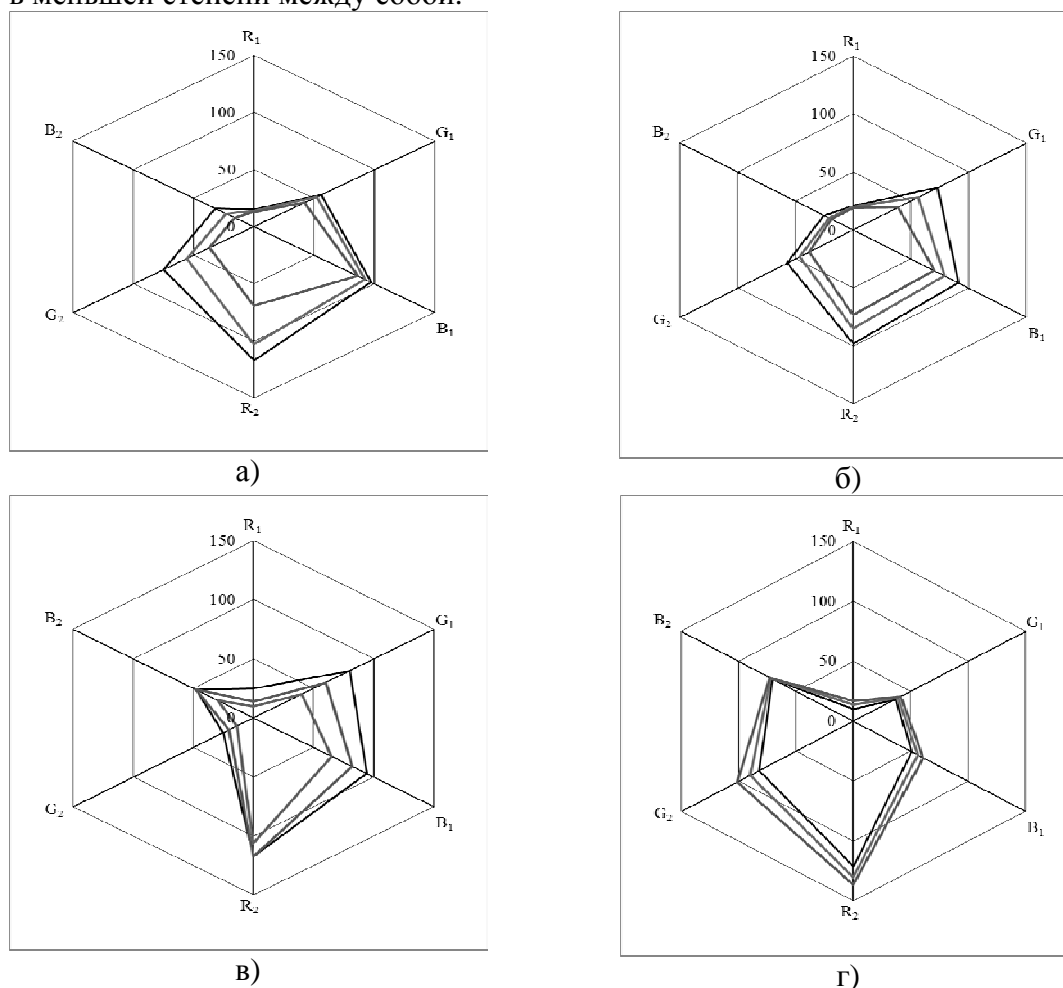


Рис. 3. Зависимость профиля ЛД от концентрации: а) бисфенол А; б) триклозан; в) нонилфенол, г) фенол в диапазоне $C=0,05-0,25$ г/л. Цветометрические измерения проводили на тонком слое сорбента Sorbfil.

Установлены линейные зависимости геометрических параметров ЛД от концентрации бисфенола А, триклозана и нонилфенола со степенью аппроксимации достаточной для линейной градуировки (табл.2).

Достоверность результатов градуировки проверяли методом «введено-найдено» (табл. 3). Суммарная ошибка определения не превышает 10%, что соответствует типовой практике определений методами колориметрии и ТСХ.

Таблица 2. Градуировочные зависимости площади S и периметра P ЛД от концентрации для различных фенольных соединений ($n=5, P=0.95$)

Соединение	Уравнение	R^2
1	2	3
Фенол	$S = [(-68.3 \pm 0.9) \times C + (55.3 \pm 0.7)] \times 10^3$ $P = [(-550 \pm 26) C + (1002 \pm 45)] \times 10^2$	0.998 0.985
Гидрохинон	$S = [(-93.0 \pm 1.6) \times C + (53.7 \pm 1.4)] \times 10^3$ $P = [(-8.4 \pm 0.4) C + (10.0 \pm 0.5)] \times 10^2$	0.942 0.926

1	2	3
орто-трет-Бутилфенол	$S = [(-90.7 \pm 1.7) \times 10^3 \times C + (52.9 \pm 1410)] \times 10^3$ $P = [(-8.7 \pm 0.2) C + (10.0 \pm 0.5)] \times 10^2$	0.942 0.953
Бисфенол А	$S = [(-34.2 \pm 1.1) C + (15.0 \pm 0.9)] \times 10^3$ $P = [(-7.4 \pm 0.2) C + (5.1 \pm 0.3)] \times 10^2$	0.991 0.983
Триклозан	$S = [(-28.0 \pm 2.0) C + (12.6 \pm 1.5)] \times 10^3$ $P = [(-6.50 \pm 42) C + (4.6 \pm 0.5)] \times 10^2$	0.993 0.998
Нонилфенол	$S = [(-30.3 \pm 2.0) C + (12.9 \pm 1.5)] \times 10^3$ $P = [(-6.2 \pm 0.4) C + (4.8 \pm 0.2)] \times 10^2$	0.996 0.989

Продолжительность анализа с пробоподготовкой составила 50-55 мин, что на 10-15 мин меньше, чем с применением ЖЖЭ ацетонитрилом в присутствии высаливателя [15] **Ошибка! Источник ссылки не найден.** и в 3-4 раза быстрее, чем с применением экстракции с вымораживанием [16]. Новый способ анализа позволяет уменьшить токсичность подвижной фазы и материальные расходы.

Таблица 3. Геометрические параметры цветометрической ЛД для фенольных экотоксикантов

Вещество	C (г/дм ³)	$S \times 10^{-3}$	$P \times 10^{-2}$	ϵ
Фенол	1.00	11.6	4.65	0
Бисфенол А	1.10	4.2	2.67	0.350
Триклозан	1.15	3.0	2.26	0.468
Нонилфенол	1.01	3.2	2.43	0.649

Таблица 4. Результаты определения концентраций бисфенола А, триклозана и нонилфенола в модельных растворах методом ТСХ-ЦЦМ ($n=5$, $P=0.95$)

Вещество	Введено, мг/дм ³	Найдено			
		$C(S)$, мг/дм ³	Относит. ошибка W , %	$C(P)$, мг/дм ³	Относит. ошибка W , %
Бисфенол А	0.100	0.088±0.008	9.53	0.088±0.011	9.12
Триклозан	0.100	0.090±0.004	4.43	0.096±0.005	4.53
Нонилфенол	0.100	0.096±0.004	4.16	0.097±0.004	4.12

Таким образом, сочетание низкотемпературной жидкостно-жидкостной экстракции с применением бинарных и тройных экстрагентов с повышенными технико-эксплуатационными характеристиками с последующим определением методом ТСХ в сочетании с цифровой цветометрией увеличивает информативность анализа за счет увеличения количества регистрируемых аналитических сигналов, положительно характеризуется простотой приемов и оборудования и имеет удовлетворительные метрологические характеристики.

Список литературы

1. Park H.-G., Yeo M.-K. // *Molecular & Cellular Toxicology*. 2012. Vol. 8. No 3. pp. 209-216.
2. Coughlin J.L., Winnik B., Buckley B. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 401, No 3. pp. 995-1002.

3. Vela-Soria F., Ballesteros O., Zafra-Gómez A., Ballesteros L. et al. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406. No. 15. pp. 3773-3785.
4. Мюллер А. Окрашивание полимерных материалов / пер. с англ. С.В. Бронникова. СПб.: Профессия, 2007. 280 с.
5. Ferreira A.M.C., Möder M., M. E. F. Laespada // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 399, I. 2, P. 945-953.
6. Chen Zh., Cao G., Song Q. // *Environmental Chemistry Letters*. 2010. Vol. 8, No 1. pp. 33-37.
7. Xue-lei Hu, Zhi-wei Sun, Jing-jing Wang, Min An et al. // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2014. Vol. 93. No 2. pp.204-208.
8. Snedeker S.M. // *Toxicants in Food Packaging and Household Plastics Molecular and Integrative Toxicology*. Springer. 2014. 310 p.
9. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В. Пенополиуретаны. Сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М. Красанд, 2009. 264 с.
10. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. и др. // *Аналитика и контроль*. 2012. Т. 16. № 4. С. 570-579.
11. Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Информационные технологии в аналитическом контроле биологически активных веществ. СПб. Лань. 2015. 361 с.
12. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Преображенский М. ., Рудакова Л.В. // *Журн. физич. химии*. 2016. Т. 90. № 8. С. 1240-1243.
13. Чан Хай Данг. Автореферат дисс. ... канд. хим. наук. Воронеж. ВГУ. 2016. 16 с.
14. Рудаков О.Б. // *Журн. физич. химии*. 2004. Т. 78. № 9. С. 1674-1677.
15. Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Рудакова Л.В. // *Журн. аналит. химии*. 2010. Т. 65. № 2. С. 121-123.
16. Бехтерев В.Н. // *Журн. аналит. химии*. 2008. Т. 63. № 10. С.1045-1049.

References

1. Park H.-G., Yeo M.-K., *Molecular & Cellular Toxicology*, 2012, Vol. 8, No 3, pp. 209-216.
2. Coughlin J.L., Winnik B., Buckley B., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, Vol. 401, No 3, pp. 995-1002.
3. Vela-Soria F., Ballesteros O., Zafra-Gómez A., Ballesteros L. et al., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, Vol. 406, No 15, pp. 3773-3785.
4. Müller A. Staining of polymeric materials, SPb, Profession, 2007, 280 p. [in Russian]
5. Ferreira A.M.C., Möder M., Laespada M.E.F., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, Vol. 399, No 2, pp. 945-953.
6. Chen Zh., Cao G., Song Q., *Environmental Chemistry Letters*, 2010, Vol. 8, No 1, pp. 33-37.
7. Xue-lei Hu, Zhi-wei Sun, Jing-jing Wang, Min An et al., *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, Vol. 93, No 2, pp. 204-208.
8. Snedeker S.M., *Toxicants in Food Packaging and Household Plastics Molecular and Integrative Toxicology.*, Springer, 2014, 310 p.
9. Dmitrienko S.G., Apari V.V., Polyurethane Foam. Sorption properties and application in chemical analysis, M., Krasang, 2009, 264 p. [in Russian]
10. Rudakov O.B., Rudakova L.V., Kudukhova I.G. et al., *Analytics and control*, 2012, Vol. 16, No 4, pp. 570-579. [in Russian]
11. Rudakova L.V., Rudakov O.B., Information technology in the analytical control of biologically active substances, SPb., Lan, 2015, 361 p. [in Russian]
12. Rudakov O.B., Khorokhordina E.A., Preobrazhensky M.A., Rudakova L.V., *Russian Journal of Physical Chemistry*, 2016, Vol. 90, No 8, pp. 1240-1243.
13. Tran Hai Dang. Abstract of Diss. ... candidate. chem. Sciences. Voronezh. VSU. 2016. 16 p. [in Russian]
14. Rudakov O.B., *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2004, Vol. 78, No 9, pp. 1467-1470.
15. Podolina E.A., Rudakov O.B., Phan Vinh Thinh, Rudakova L.V., *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, Vol. 65, No 2, pp. 117-119.
16. Bekhterev V.N., *Journal of Analytical Chemistry*, 2008, Vol. 63, No 10, pp. 1045-1049.

Рудаков Олег Борисович - д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Хорохордина Елена Алексеевна – канд. хим. наук, доцент кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Рудакова Людмила Васильевна – д-р хим. наук, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж

Чан Хай Данг – аспирант кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Rudakov Oleg B. – doctor of chemistry, professor, head of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh, rudakov@vgasu.vrn.ru

Khorokhordina Elena A. – cand. chem. sciences, associate professor at the Department of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh

Rudakova Liudmila V. – doctor of chemistry, head of the chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of Voronezh state medical university, Voronezh, vodoley65@mail.ru

Tran Hai Dang – graduate student, Department of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh