Индикация и идентификация опасных веществ

УДК 543.632.9 DOI: 10.25514/CHS.2022.1.21011

Методика измерений массовых концентраций агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц в водных матрицах

А. А. Кузовкова ✉, ***М. С. Турко, Т. П. Крымская***

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь, e-mail: zav_lsi@rspch.by

Поступила в редакцию: 11.05.2022 г.; после доработки: 19.05.2022 г.; принята в печать: 23.05.2022 г.

Аннотация – В химической промышленности при производстве материалов и изделий используют различные вещества, выступающие в роли мономеров, растворителей, катализаторов, стабилизаторов, антиоксидантов и т. д. В частности, при изготовлении полимерных материалов широко используется агидол-40 как антиоксидант, ацетофенон как растворитель, вулкацит-П-экстра Н и сульфенамид Ц как вулканизаторы. Данные вещества могут мигрировать из материалов и изделий в водные матрицы. В мире не существует методики их совместного определения. Впервые разработана методика одновременного определения агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н и сульфенамида Ц в водных матрицах. Определение проводят с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с детектированием при 240 нм и метода абсолютной калибровки. Предварительно вещества двукратно экстрагируют из 50 см^3 водной вытяжки дихлорметаном по 30 см^3, полученный экстракт концентрируют под вакуумом, сухой остаток растворяют в ацетонитриле (1 см^3). В качестве стационарной фазы используется колонка Nucleodur C18 Pyramid (Macherey-Nagel) (250 мм × 3,0 мм, зернение 5,0 мкм; температура термостата 25°С). Смесь воды с ацетонитрилом и 2-пропанолом в соотношении 4:74:22 (по объему) используется как подвижная фаза. Предел количественного определения массовой концентрации вулкацита в водной вытяжке из товаров потребления составляет 0,31 мг/дм^3, сульфенамида Ц – 0,08 мг/дм^3, агидола-40 – 0,13 мг/дм^3, ацетофенона – 0,02 мг/дм^3.

Ключевые слова: массовая концентрация, высокоэффективная жидкостная хроматография, УФ-детектирование.

Indication and identification of hazardous substances

UDC 543.632.9 DOI: 10.25514/CHS.2022.1.21011

Measurement method of agidol-40, acetophenone, vulkacite-P-extra N, sulphenamide C mass concentrations in aqueous matrices

Anna A. Kuzovkova ✉, ***Marina S. Turko, and Tatyana P. Krymskaya***

Republican Unitary Enterprise “Scientific Practical Centre Of Hygiene”, Minsk, Republic of Belarus, e-mail: zav_lsi@rspch.by

Received: May 11, 2022; Revised: May 19, 2022; Accepted: May 23, 2022

Abstract – In the chemical industry various substances are used in the production of materials and products, acting as monomers, solvents, catalysts, stabilizers, antioxidants, etc. In particular, in the production of polymeric materials agidol-40 is widely used as an antioxidant, acetophenone as a solvent, vulkacit-P-extra H and sulfenamide C as vulcanizers. These substances can migrate from materials and products into water matrices. There is no method of their joint determination in the world. For the first time a method for the simultaneous determination of agidol-40, acetophenone, vulkacite-P-extra H, and sulfenamide C in aqueous matrices has been developed. The determination is carried out by high-performance liquid chromatography (HPLC) with detection at 240 nm and absolute calibration method. Preliminarily the substances are extracted twice from 50 cm^3 of an aqueous extract with dichloromethane, 30 cm^3 each, the resulting extract is concentrated under vacuum, the dry residue is dissolved in acetonitrile (1 cm^3). A Nucleodur C18 Pyramid (Macherey-Nagel) column (250 mm × 3.0 mm, grain size 5.0 μm; thermostat temperature 25°C) is used as a stationary phase. A mixture of water with acetonitrile and 2-propanol in a ratio of 4:74:22 (v : v) is used as a mobile phase. The limit of quantitative detection of vulcacit in water extracts from consumer goods is 0.31 mg/dm^3, sulphenamide C – 0.08 mg/dm^3, agidol-40 – 0.13 mg/dm^3, acetophenone – 0.02 mg/dm^3.

Keywords: mass concentration**,** high-performance liquid chromatography, UV detection.

ВВЕДЕНИЕ

В химической промышленности при производстве материалов и изделий используют различные вещества, выступающие в роли мономеров, растворителей, катализаторов, стабилизаторов, антиоксидантов и т. д. В частности, агидол-40 (сухой порошок или крупнокристаллические гранулы) широко применяется как адсорбент и абсорбент, окислитель и восстановитель, процессинговая добавка (ускоритель, активатор), антиоксидант, стабилизатор (в том числе как ультрафиолетовый стабилизатор, защищающий изделия от деградации при воздействии ультрафиолета) при производстве товаров потребления, в частности пластиковых и резиновых изделий, в том числе игрушек для детей, игровых площадок, спортивных товаров. Может входить в состав пищевой упаковки, бумажных тарелок, одноразовых столовых приборов и др. [1]. Из-за своих адсорбирующих свойств агидол-40 может использоваться как средство для впитывания жидкости; благодаря своим адгезивным свойствам входит в состав клеев и связующих веществ различного назначения; применяется в средствах по уходу за автомобилями; используют в качестве наполнителя в красках, текстиле, пластмассе и т. д.; входит в состав изоляционных материалов для защиты зданий от шума, холода и т. д., а также в электроизоляционных материалах; используют при производстве различных смазочных материалов (в том числе для двигателей), тормозных жидкостей, масел и т. д. [1]. Агидол-40 по системе Международного союза теоретической и прикладной химии (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) имеет название 4-[[3,5-би[(3,5-дитертбутил-4-гидроксифенил)метил]-2,4,6-триметилфенил] метил]-2,6-дитертбутилфенол, его CAS-номер (Chemical Abstracts Service number) 1709-70-2 [1]. Для человека агидол-40 может представлять опасность при случайном проглатывании, при контакте с кожей и глазами, при вдыхании. Для широких

слоев населения агидол-40 может быть опасен при использовании товаров, изготовленных из несертифицированных полимерных материалов, а также некачественной бытовой химии. Агидол-40 токсичен с долгосрочными последствиями для водных организмов [2].

Ацетофенон (бесцветная жидкость), помимо того, что используют в химической промышленности в качестве специального растворителя для пластмасс и смол, катализатора в полимеризации олефинов и фотосенсибилизатора в органическом синтезе, применяют при производстве пищевых продуктов и табачных изделий как ароматизатор, в парфюмерно-косметической продукции как отдушку (имеет сладкий резкий запах цветов апельсина или жасмина). По системе IUPAC ацетофенон имеет название 1-фенилэтанон, его CAS-номер 98-86-2 [3]. У человека при прямом воздействии ацетофенон может вызывать раздражение кожи или глаз, в высоких концентрациях пары могут быть наркотическими [3]. На широкие массы населения ацетофенон может воздействовать через загрязненные атмосферный воздух, почву, питьевую воду [5–6] и некачественные товары потребления [7, 8]. В мире разрабатываются технологии по очистке воды от ацетофенона на основе различных подходов, в частности импульсного коронного разряда [6].

Сульфенамид Ц (сухой порошок или крупнокристаллические гранулы кремового цвета) используется в химической промышленности как ускоритель вулканизации резин (вулканизатор) [9, 10]. По системе IUPAC сульфенамид Ц имеет название *N*-(1,3-бензотиазол-2-илсульфанил)циклогексанамин, его CAS-номер 95-33-0 [9]. Сульфенамид Ц может вызывать у человека аллергическую кожную реакцию. Очень токсичен для водных организмов [9].

Вулкацит-П-экстра Н (белый порошок без запаха) используется в химической промышленности как ускоритель вулканизации быстрого действия, применяется при производстве пластиковых полимеров и резин [11, 12]. По системе IUPAC вулкацит-П-экстра Н, имеет следующее название: цинк-N-этил-N-фенилкарбамодитиоат (по-английски Zinc N-ethyl-N-phenylcarbamodithioate). Его CAS-номер: 14634-93-6 [13]. Вулкацит-П-экстра Н по параметрам острой токсичности при однократном внутрижелудочном введении отнесен к малоопасным веществам (4 класс опасности). Вызывает слабое раздражение кожи и слизистых оболочек глаз, не проникает через неповрежденные кожные покровы. Оказывает сенсибилизирующее действие. Может обладать репротоксическим, тератогенным и мутагенным действием [12, 13]. Очень токсичен для водных организмов с долгосрочными последствиями [13]. Мигрирует в воду из бутадиен-нитриловых вулканизаторов после 3-дневной экспозиции при 20 °С на уровне 0,08 мг/дм^3 [14].

Уровни миграции агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н и сульфенамида Ц из товаров потребления в водные вытяжки регламентируются рядом Технических регламентов Евразийского экономического союза (далее – ЕАЭС), в частности, ТР ТС 007/2011 «О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков» (далее – ТР ТС 007/2011) [7], ТР ТС 008/2011 «О безопасности игрушек» (далее – ТР ТС 008/2011) [8]. В соответствии с ТР ТС 007/2011 и ТР ТС 008/2011 значения минимально

допустимых количеств миграции в водные вытяжки вышеперечисленных веществ из товаров, изготовленных из полимерных материалов и предназначенных для детей и подростков, составляют для вулкацита-П-экстра Н – 1,0 мг/дм^3, для сульфенамида Ц – 0,4 мг/дм^3, для агидола-40 – 1,0 мг/дм^3, для ацетофенона – 0,1 мг/дм^3.

В настоящее время в Республике Беларусь и странах ЕАЭС определение концентраций ацетофенона, сульфенамида Ц и вулкацита-П-экстра Н в водных вытяжках из товаров потребления проводят по [15] с использованием метода тонкослойной хроматографии. Данный метод характеризуется длительным временем анализа, при этом не отличается высокой чувствительностью и специфичностью. Для определения уровней миграции агидола-40 в водные вытяжки из товаров потребления в Республике Беларусь и странах ЕАЭС методики не существует.

В мире, в принципе, не разработана методика одновременного определения ацетофенона, агидола-40 (Irganox 1330), сульфенамида Ц, вулкацита-П-экстра Н в какой-либо матрице каким-либо способом, но представлены методы определения ацетофенона и агидола-40 (Irganox 1330).

Методы определения ацетофенона, как правило, основаны на использовании газовой хроматографии с хромато-масс-спектрометрическим детектором с предварительным концентрированием аналита органическим растворителем [16–19]. Однако разработаны и методы определения ацетофенона на основе ВЭЖХ. В частности, на сайте компании Macherey-Nagel [20] представлена информация об условиях ВЭЖХ ацетофенона на обратно-фазовой колонке. Также бразильские ученые разработали метод определения ацетофенона и других кетонов в алкогольной продукции с предварительным получением их 2,2-динитрофенилгидразонов и последующей ВЭЖХ [21].

В мире существует масса научных работ по одновременной ВЭЖХ антиоксидантов, используемых при производстве полимерных материалов: агидола-40 (Irganox 1330, Ehtanox 330), Irganox 1010, Irganox 1076 и Irgafos 168. Например, на сайте компании Sigma-Aldrich [22] представлена информация об условиях ВЭЖХ агидола-40 (Ehtanox 330), Irganox 1010, Irganox 1076 и Irgafos 168. В статье [23] представлена сводная таблица, где отражены все имеющиеся подходы и методики определения фенольных антиоксидантов в полимерных материалах методом ВЭЖХ.

Из анализа литературных данных следует, что метод ВЭЖХ, который характеризуется высокой чувствительностью и селективностью, и жидкостная экстракция являются возможным решением для одновременного определения, по крайней мере, ацетофенона и агидола-40, в водных вытяжках.

Целью наших исследований явилась разработка методики определения массовых концентраций агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н и сульфенамида Ц в водных матрицах на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием в УФ-свете.

Данная методика будет востребована при проведении санитарно-гигиенических испытаний товаров, изготовленных из полимерных материалов и предназначенных для детей и подростков, на соответствие требованиям

ТР ТС 007/2011 и ТР ТС 008/2011. Методика также может быть использована для определения агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н и сульфенамида Ц в любых водных матрицах, включая питьевую воду.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

При разработке методики измерений массовых концентраций агидола-40, вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона в водных вытяжках из товаров потребления и проведении экспериментальных исследований показателей точности данной методики использовали следующие реактивы: вулкацит-П-экстра Н с массовой долей основного вещества не менее 98,0% (производство «TCI», Япония); сульфенамид Ц с массовой долей основного вещества не менее 98,0% (производство «TCI», Япония); ацетофенон с массовой долей основного вещества не менее 98,0% (производство «Acros Organics», Бельгия); агидол-40 с массовой долей основного вещества не менее 98,0% (производство «Sigma Aldrich», США); вода дистиллированная; ацетонитрил для ВЭЖХ (производство «Carlo Erba», Франция); дихлорметан для ВЭЖХ (производство «Carlo Erba», Франция); 2-пропанол для ВЭЖХ (производство «Carlo Erba», Франция).

Разработку методики вели с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity, оснащенного диодно-матричным детектором с диапазоном длин волн регистрации спектров и сигналов 190 – 450 нм, хроматографической колонкой Nucleodur C18 Pyramid (длиной 250 мм, внутренним диаметром 3,0 мм, зернением 5,0 мкм, производство «Macherey-Nagel», Германия), программным обеспечением Agilent ChemStation Rev.B.04.01 (производство «Agilent Technologies», США).

При проведении исследований по оцениванию рабочих характеристик методики измерений устанавливали показатели прецизионности и правильности. Показатели прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) определяли для каждого вещества для всего диапазона определения. Статистические данные получены по результатам измерений модельных проб водных вытяжек: в 50 $см^3$ водных вытяжек из товаров потребления, изготовленных из резино-латексных композиций, вносили по 1,0 $см^3$: 1) градуировочного раствора с массовой концентрацией вулкацита-П-экстра Н 25 $мкг/см^3$, сульфенамида Ц 10,0 $мкг/см^3$, ацетофенона 2,5 $мкг/см^3$, агидола-40 25 $мкг/см^3$; 2) градуировочного раствора с массовой концентрацией вулкацита-П-экстра Н 50 $мкг/см^3$, сульфенамида Ц 20 $мкг/см^3$, ацетофенона 5,0 $мкг/см^3$, агидола-40 50 $мкг/см^3$; 3) градуировочного раствора с массовой концентрацией вулкацита-П-экстра Н 100 $мкг/см^3$, сульфенамида Ц 40 $мкг/см^3$, ацетофенона 10,0 $мкг/см^3$, агидола-40 100 $мкг/см^3$.

Водные вытяжки из товаров потребления, изготовленные из резино-латексных композиций, получали как описано в главе 3 Инструкции по применению № 016-1211 «Методы оценки гигиенической безопасности отдельных видов продукции для детей» [24] со ссылкой на п.3.71 ГОСТ 25779-90 [25]: модельная среда – дистиллированная вода; соотношение массы образца

к объему модельной – 1:10; измельчение образца на фрагменты размером 1 см × 1 см; экспозиция – 3 ч; температура экспозиции – 37°С.

Далее проводили пробоподготовку и хроматографический анализ согласно разработанной методике измерений (описано ниже). В ходе внутрилабораторных исследований показателей прецизионности разработанной методики для каждого вещества на каждом уровне измерений в условиях промежуточной прецизионности с двумя изменяющимися факторами «персонал, выполняющий измерения» и «время» было проведено по 16 определений. Каждое определение включало 2 единичных результата испытаний, полученных в условиях повторяемости. Общее количество измерений в условиях промежуточной прецизионности для каждого вещества на 3-х уровнях измерений составило 96.

Показатель повторяемости S_r,%, устанавливали как максимальное относительное стандартное отклонение повторяемости из значений, рассчитанных для каждого уровня. Показатель промежуточной прецизионности $S_{r_{I(\text{ТО})}}$,%, определяли как максимальное относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности из значений, рассчитанных для каждого уровня.

Предел повторяемости, r, %, и предел промежуточной прецизионности, R,%, устанавливали по формулам

$$r = 2{,}8 \times S_r, \quad (1)$$

$$R = 2{,}8 \times S_R. \quad (2)$$

Правильность метода оценивали показателем степени извлечения. Степень извлечения вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 изучали в процессе внутрилабораторных исследований в условиях повторяемости путем анализа модельных проб. В качестве модельных проб использовали: 1) водные вытяжки из товаров потребления, изготовленных из резино-латексных композиций; 2) водные вытяжки из товаров потребления, изготовленных из резино-латексных композиций, с известной массовой концентрацией вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40, полученные путем внесения в 50 см^3 водной вытяжки по 1,0 см^3: а) градуировочного раствора с массовой концентрацией вулкацита-П-экстра Н 25 мкг/см^3, сульфенамида Ц 10,0 мкг/см^3, ацетофенона 2,5 мкг/см^3, агидола-40 25 мкг/см^3; б) градуировочного раствора с массовой концентрацией вулкацита - П-экстра Н 50 мкг/см^3, сульфенамида Ц 20 мкг/см^3, ацетофенона 5,0 мкг/см^3, агидола-40 50 мкг/см^3. Далее проводили пробоподготовку и хроматографический анализ согласно разработанной методике измерений (описано ниже).

При проведении исследований показателя правильности методики для каждого вещества для каждого уровня измерений было проведено по 8 определений. Каждое определение включало 2 единичных результата испытаний, полученных в условиях повторяемости. Общее количество измерений в условиях промежуточной прецизионности для каждого вещества на 2-х уровнях измерений составило 32.

Величину степени извлечения метода, Rec_i, получали по формуле

$$Rec_i = \frac{P_i - P_0}{\gamma}, \quad (3)$$

где P_i – результат единичного определения массовой концентрации вулкацита (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в пробе с добавкой, мг/дм^3;

P_0 – массовая концентрация вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в пробе без добавки, мг/дм^3;

γ – массовая концентрация вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40), внесенная в пробу, мкг/см^3.

Рассчитывали среднюю степень извлечения вулкацита, (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) *Rec* в относительных единицах и в %.

Для установления градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации вещества в растворе, готовили шесть серий градуировочных растворов по пяти значениям массовой концентрации вещества по всему диапазону определяемых массовых концентраций: для агидола-40 и вулкацита-П-экстра Н от 25,0 мкг/см^3 до 100,0 мкг/см^3, сульфенамида Ц от 10,0 мкг/см^3 до 40,0 мкг/см^3, ацетофенона от 2,5 мкг/см^3 до 10,0 мкг/см^3. Параметры градуировочной характеристики рассчитывали методом наименьших квадратов.

Для расчета относительной расширенной неопределенности методики была разработана модель измерения массовой концентрации каждого вещества в водной вытяжке *X*, мг/дм^3, которую можно записать в следующем виде:

$$X = \frac{C \times V \times F}{V_1 \times Rec}, \quad (4)$$

где C – массовая концентрация вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в пробе, найденная по градуировочной характеристике, мкг/ см^3;

V – объем ацетонитрильного экстракта, подготовленного к хроматографированию, см^3 (1,0 см^3);

V_1 – объем водной вытяжки, взятый для анализа, (50,0 см^3);

F – фактор повторяемости;

Rec – степень извлечения в относительных единицах.

За результат измерения принимают среднеарифметическое значение двух определений, полученных в условиях повторяемости.

Исходя из модели измерений и анализа измерительной процедуры, можно выделить следующие источники неопределенности массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водной вытяжке:

1. градуировочная характеристика, т.е. случайные колебания при измерении площадей пиков, которые оказывают влияние как на отклики при проведении градуировки, так и на измеряемый отклик *C,y*;
2. градуировочная характеристика, т.е. случайные эффекты, результатом которых являются погрешности приписанных исходных значений массовой

концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в градуировочных растворах *C,x*;

3. возможные расхождения между параллельными определениями (фактор сходимости, F_{cx});
4. правильность метода измерений (степень извлечения);
5. относительная суммарная стандартная неопределенность массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в водной вытяжке *u(X)/X,* %, находится в соответствии с законом распространения неопределенностей через относительные стандартные неопределенности влияющих величин (описаны ниже).

Относительная расширенная неопределенность массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в водной вытяжке *u(X),* %, рассчитывается через умножение относительной суммарной стандартной неопределенности *u(X)/X,* %, на коэффициент охвата *k,* выбранный в предположении нормального распределения измеряемой величины. Коэффициент охвата для нормального распределения равен 2 при уровне доверия 95 %.

Расчеты показателей точности разработанных методик проводили с помощью функций программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований нами был разработан способ совместного определения массовых концентраций вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 (Irganox 1330) в водных вытяжках из товаров потребления. Исследуемые вещества хорошо растворимы в органических растворителях, в частности, в дихлорметане, поэтому способ основан на двукратной экстракции данных веществ из 50 $см^3$ водной вытяжки дихлорметаном по 30 $см^3$ на ротационном встряхивателе, концентрировании полученного экстракта под вакуумом, растворении сухого остатка в ацетонитриле (1 $см^3$) и определении массовых концентраций веществ с применением ВЭЖХ с детекцией в УФ-свете и метода абсолютной градуировки.

При установке условий хроматографирования для совместного определения вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водных вытяжках из товаров потребления опирались на информацию, представленную на сайтах компании Macherey-Nagel [20] об условиях ВЭЖХ ацетофенона и компании Sigma-Aldrich [22] об условиях ВЭЖХ агидола-40 (Ehtanox 330), Irganox 1010, Irganox 1076 и Irgafos 168.

В качестве стационарной фазы нами используется колонка NUCLEODUR® C18 Pyramid производства Macherey-Nagel (размером 250 мм × 3,0 мм, зернение 5,0 мкм), температура термостата колонки – 25°C. На сайте компании Macherey-Nagel [20] для ВЭЖХ ацетофенона рекомендуют использовать хроматографические колонки NUCLEOSHELL® RP 18 (размером 100 мм × 4,6 мм, зернением 2,7 мкм) NUCLEODUR® C18 Gravity (размером 100 мм × 4,6 мм, зернением 1,8 мкм), NUCLEODUR® C18 Gravity (размером 100 мм × 4,6 мм, зернением 3,0 мкм), NUCLEODUR® C18 Gravity (размером 100 мм ×

4,6 мм, зернением 5,0 мкм) при температуре термостата колонки 25°С. Для элюирования ацетофенона применяют смесь ацетонитрила с водой в начальной концентрации ацетонитрила 40 % с последующим повышением за 4 мин разделения до 100 %. Разделение ведут со скоростью потока элюента 1,5 см^3/мин. Детекцию ацетофенона осуществляют при 230 нм.

В качестве подвижной фазы нами применяется смесь воды с ацетонитрилом и 2-пропанолом в соотношении 4:74:22 (по объему), режим элюирования – изократический, скорость потока подвижной фазы – 0,4 см^3/мин, объем ввода пробы в колонку – 5 мм^3, общая длина волны детекции – 240 нм, ширина щели – 4 нм, время анализа – 15 мин. На сайте компании Sigma-Aldrich [22] для ВЭЖХ агидола-40 и других антиоксидантов полимерных материалов при разделении на колонке Ascentis Express C18 (длиной 10 см, диаметром 3 мм, зернением 2,7 мкм) при температуре 40 °С также рекомендуют в качестве подвижной фазы использовать смесь воды, ацетонитрила и 2-пропанола, но разделение ведут со скоростью потока элюента 1,0 см^3/мин в градиентном режиме: изначально используют 2-пропанол в концентрации 43%, в течение 3,6 мин изменяют концентрацию ацетонитрила с 37% до 55%, удерживают ацетонитрил в течение 2,4 мин в концентрации 55%. Объем ввода пробы в колонку составляет 5 мм^3. Детекцию веществ осуществляют при 280 нм.

При установленных нами условиях хроматографирования время анализа составляет 17 мин, время удерживания ацетофенона – (3,2±0,3) мин, вулкацита-П-экстра Н – (4,0±0,3) мин, сульфенамида Ц – (4,5±0,3) мин, агидола-40 – (13,8±0,3) мин. На рисунке 1 представлена хроматограмма разделения смеси стандартных веществ агидола-40 (Irganox 1330), ацетофенона, сульфенамида Ц, вулкацита-П-экстра Н, внесенных в виде добавки в водную вытяжку из товаров потребления, полученная с использованием разработанного способа.

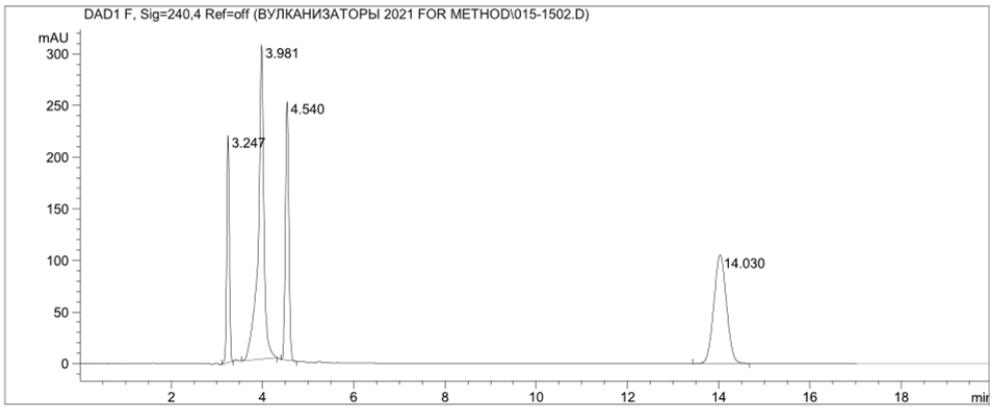


Рис. 1. Хроматограмма разделения смеси стандартных веществ ацетофенона в концентрации 10,0 мкг/см^3 (время удерживания – 3,247 мин), вулкацита-П-экстра Н в концентрации 100,0 мкг/см^3 (время удерживания – 3,981 мин), сульфенамида Ц в концентрации 40,0 мкг/см^3 (время удерживания – 4,540 мин), агидола-40 в концентрации 100,0 мкг/см^3 (время удерживания – 14,030 мин).

Fig. 1. Separation chromatogram of a standard substance mixture of acetophenone at a concentration of 10.0 μg/cm^3 (retention time – 3.247 min), vulkacite-P-extra H at a concentration of 100.0 μg/cm^3 (retention time – 3.981 min), sulfenamide C at a concentration of 40.0 μg/cm^3 (retention time – 4.540 min), agidol-40 at a concentration of 100.0 μg/cm^3 (retention time – 14.030 min).

Предел количественного определения массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н в водной вытяжке из товаров потребления составляет 0,31 мг/дм^3, сульфенамида Ц – 0,08 мг/дм^3, агидола-40 – 0,13 мг/дм^3, ацетофенона – 0,02 мг/дм^3.

На втором этапе исследований на основе вышеуказанного способа была разработана методика измерений «Массовые концентрации вулкацита, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водных вытяжках из товаров потребления. Методика измерений методом ВЭЖХ». Методика устанавливает алгоритм измерений массовых концентраций вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водных вытяжках из товаров потребления в диапазонах массовых концентраций: от 0,5 до 2,0 мг/дм^3 для вулкацита-П-экстра Н; от 0,2 до 0,8 мг/дм^3 для сульфенамида Ц; от 0,05 до 0,2 мг/дм^3 для ацетофенона; от 0,5 до 2,0 мг/дм^3 для агидола-40 методом ВЭЖХ.

Измерение массовых концентраций в водных вытяжках из товаров потребления согласно методике измерений включает следующие операции:

- приготовление градуировочных растворов;
- установление градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в растворе;
- подготовка проб к измерениям;
- хроматографирование на жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектором.

Для установления градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) в растворе, готовят шесть серий градуировочных растворов по пяти значениям массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н (сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40) по всему диапазону определяемых массовых концентраций. Нами была подтверждена линейность в пределах требуемых диапазонов для каждого вещества (рисунки 2 – 5).

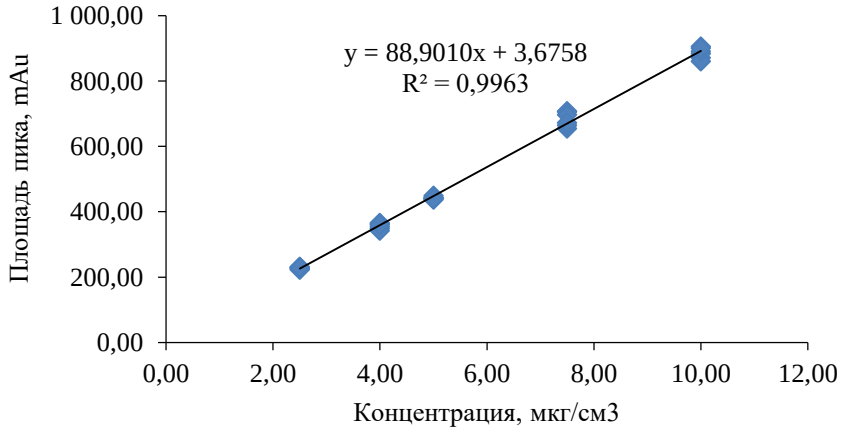


Рис. 2. Градуировочный график зависимости площади пика ацетофенона от его массовой концентрации в растворе в диапазоне 2,5–10,0 мкг/см^3.

Fig. 2. Calibration plot of the dependence of the acetophenone peak area on its mass concentration in solution in the range of 2.5–10.0 μg/cm^3.

Согласно методике измерений контроль градуировочного графика для ацетофенона проводится по 2-ой точке, норматив стабильности равен 4,2%.

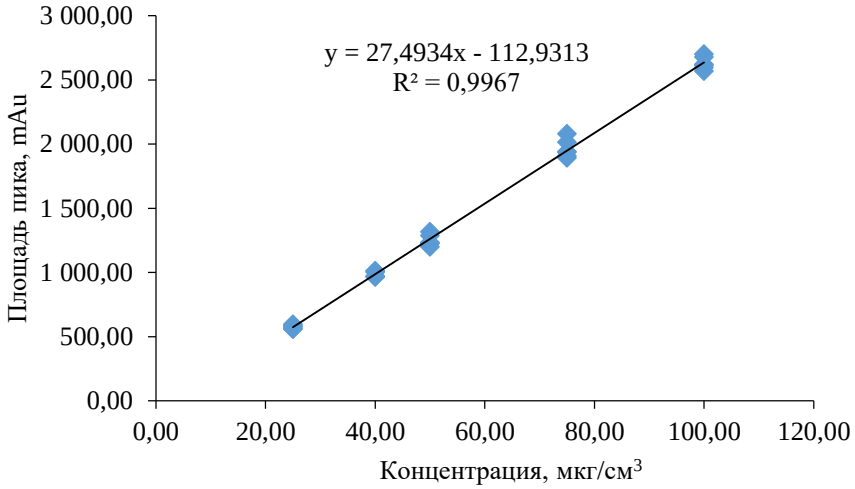


Рис. 3. Градуировочный график зависимости площади пика вулкацита-П-экстра Н от его массовой концентрации в растворе в диапазоне 25,0–100,0 мкг/см^3.

Fig. 3. Calibration plot of the dependence of the vulkacite-P-extra H peak area on its mass concentration in solution in the range of 25.0–100.0 μg/cm^3.

Согласно методике измерений контроль градуировочного графика для вулкацита-П-экстра Н проводится по 2-ой точке, норматив стабильности равен 5,5%.

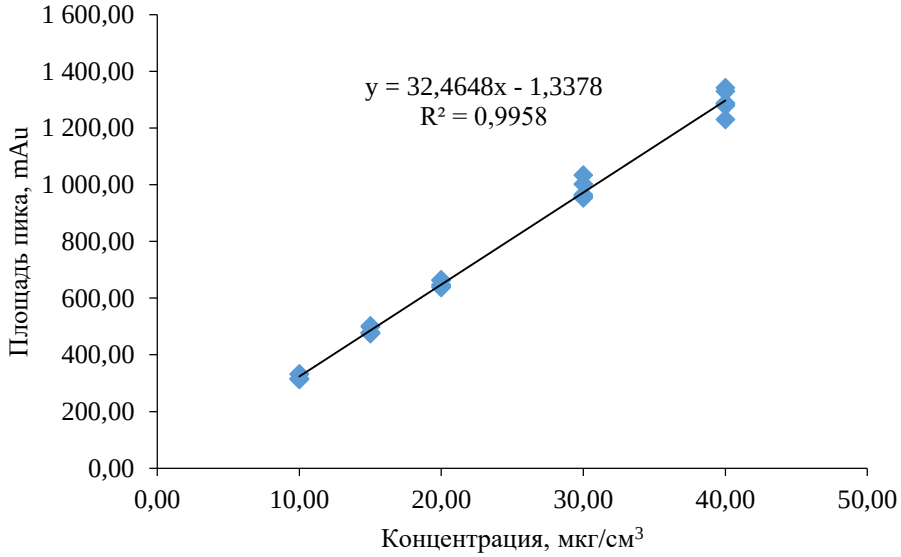


Рис. 4. Градуировочный график зависимости площади пика сульфенамида Ц от его массовой концентрации в растворе в диапазоне 10,0–40,0 мкг/см^3.

Fig. 4. Calibration plot of the dependence of the sulfenamide C peak area on its mass concentration in solution in the range of 10.0–40.0 μg/cm^3.

Согласно методике измерений контроль градуировочного графика для сульфенамида Ц проводится по 2-ой точке, норматив стабильности равен 4,7%.

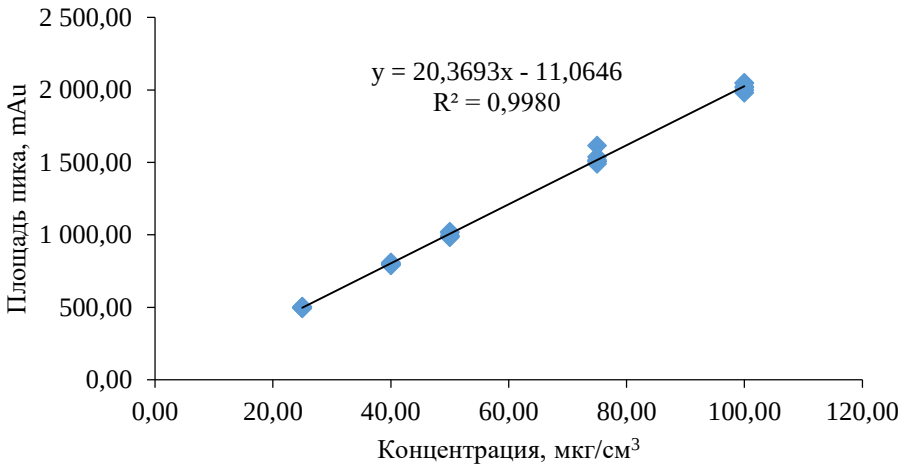


Рис. 5. Градуировочный график зависимости площади пика агидола-40 от его массовой концентрации в растворе в диапазоне 25,0–100,0 мкг/см^3.

Fig. 5. Calibration plot of the dependence of the agidol-40 peak area on its mass concentration in solution in the range of 25.0–100.0 μg/cm^3.

Согласно методике измерений контроль градуировочного графика для агидола-40 проводится по 2-ой точке, норматив стабильности равен 3,1%.

Для прохождения метрологической аттестации методики в Белорусском государственном институте метрологии устанавливали рабочие характеристики (показатели точности измерений и относительную расширенную неопределенность) разработанной методики измерений.

Данные о показателях точности измерений были получены из внутрилабораторного эксперимента в условиях повторяемости и промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами «персонал, выполняющий измерения» и «время». Выбросов в совокупности экспериментальных данных обнаружено не было. Полученные значения показателей точности методики измерений массовых концентраций ацетофенона, сульфенамида Ц, вулкацита-П-экстра Н агидола-40 в водных вытяжках представлены в таблице 1.

Таблица 1. Значения показателей точности методики измерений массовых концентраций ацетофенона, сульфенамида Ц, вулкацита-П-экстра Н, агидола-40 в водных вытяжках в заданных диапазонах измерений

Table 1. Values of accuracy indicators of the measurement method of the acetophenone, sulfenamide C, vulkacite-P-extra N, agidol-40 mass concentrations in aqueous extracts in the given measurement ranges

Определяемое вещество	Диапазон измерений массовой концентрации в образцах для исследования, мг/дм^3	Предел повторяемости, *r*, %	Предел промежуточной прецизионности, *R*, %	Показатель правильности (степень извлечения), *Rec*, %
Ацетофенон	от 0,05 до 0,20	4	33	83,2
Сульфенамид Ц	от 0,2 до 0,8	3	31	96,3
Вулкацит-П-экстра Н	от 0,5 до 2,0	3	13	98,2
Агидол-40	от 0,5 до 2,0	6	34	86,1

Выделив источники неопределенности при определении массовой концентрации вулкацита-П-экстра Н, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водной вытяжке с помощью разработанной методики, была рассчитана относительная расширенная неопределенность методики измерений для каждого вещества (табл. 2).

Таблица 2. Бюджет неопределенности измерения массовой концентрации ацетофенона, сульфенамида Ц, вулкацита-П-экстра Н, агидола-40 в водных вытяжках в заданных диапазонах измерений при доверительной вероятности P = 0,95 и коэффициенте охвата k = 2

Table 2. Uncertainty budget for measuring the acetophenone, sulfenamide C, vulkacite-P-extra N, agidol-40mass concentration in aqueous extracts in the given measurement ranges at a confidence level P = 0.95 and a coverage factor k = 2

Влияющая величина		Значение оценки	Относительный вклад неопределенности	
Случайные колебания при измерении сигнала *C*, %	для ацетофенона	*C*	$\frac{u(C,y)}{C}$	2,9
	для сульфенамида Ц			3,2
	для агидола-40			2,2
	для вулкацита-П-экстра Н			5,2
Случайные эффекты, результатом которых являются погрешности приписанных исходных значений массовой концентрации вещества в градуировочных растворах *C*, %	для ацетофенона	*C*	$\frac{u(C,x)}{C}$	4,9
	для сульфенамида Ц			2,4
	для агидола-40			1,0
	для вулкацита-П-экстра Н			1,0
Пробоподготовка		–	u_n	0,008369
Фактор сходимости F_{cx}	для ацетофенона	*X*	$\frac{u(F_{cx})}{X}$	1,061
	для сульфенамида Ц			0,849
	для агидола-40			0,354
	для вулкацита-П-экстра Н			0,778
Правильность метода *Rec, %*	для ацетофенона	*Rec*	$U_{извл.отн.}$	8,6
	для сульфенамида Ц			2,9
	для агидола-40			6,9
	для вулкацита-П-экстра Н			1,3
Относительная расширенная неопределенность U, %				
для ацетофенона		21		
для сульфенамида Ц		10		
для агидола-40		15		
для вулкацита-П-экстра Н		11		

Методика прошла метрологическую аттестацию в Белорусском государственном институте метрологии, имеет номер АМИ.МН 0020-2021 и свидетельство об аттестации методики (метода) измерений №020/2021 от 06 декабря 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами разработана методика измерений АМИ.МН 0020-2021 «Массовые концентрации вулкацита, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водных вытяжках из товаров потребления. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии». Методика устанавливает алгоритм выполнения измерений массовых концентраций исследуемых веществ в водных вытяжках из товаров потребления для ацетофенона в диапазоне массовых концентраций от 0,05 до 0,20 мг/дм^3 с пределом повторяемости 4%, пределом промежуточной прецизионности 33%, средней степенью извлечения 83,2%, относительной расширенной неопределенностью 21%; для сульфенамида Ц в диапазоне массовых концентраций от 0,2 до 0,8 мг/дм^3 с пределом повторяемости 3%, пределом промежуточной прецизионности 31 %, средней степенью извлечения 96,3%, относительной расширенной неопределенностью 10%; для вулкацита-П-экстра Н в диапазоне массовых концентраций от 0,5 до 2,0 мг/дм^3 с пределом повторяемости 3%, пределом промежуточной прецизионности 13 %, средней степенью извлечения 98,2%, относительной расширенной неопределенностью 11 %; для агидола-40 в диапазоне массовых концентраций от 0,5 до 2,0 мг/дм^3 с пределом повторяемости 6%, пределом промежуточной прецизионности 34 %, средней степенью извлечения 86,1%, относительной расширенной неопределенностью 15%. Методика также может быть использована для определения агидола-40, ацетофенона, вулкацита-П-экстра Н и сульфенамида Ц в любых водных матрицах, включая питьевую воду.

Методика измерений АМИ.МН 0020-2021 разработана в рамках задания 02.02. «Разработать методику выполнения измерений концентраций вулкацита, сульфенамида Ц, ацетофенона, агидола-40 в водных вытяжках из товаров потребления и провести скрининговые исследования уровней миграции современных антиоксидантов, ускорителей вулканизации, растворителей из товаров для новорожденных в модельные среды и пищевые продукты» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг» (2019–2021 годы).

ACKNOWLEDGEMENT

The measurement technique AMI.MN 0020-2021 was developed as part of task 02.02. "Develop a methodology for measuring the vulcacite, sulfenamide C, acetophenone, agidol-40concentrations in aqueous extracts from consumer goods and conduct screening studies of the migration levels of modern antioxidants, vulcanization accelerators, solvents from goods for newborns into model media and food products" of the subprogram "Safety of human habitat" SSTP "Scientific and technical support for the quality and accessibility of medical services" (2019–2021).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

CONFLICT OF INTERESTS:
The authors declare no conflict of interests.

Список литературы:

1. Antioxidant 40. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Antioxidant_40 (accessed 05.05.2022).
2. Ionox 330. https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/sid/0001709702 (accessed 05.05.2022).
3. Acetophenone. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7410 (accessed 05.05.2022).
4. Acetophenone. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/acetophenone.pdf (accessed 05.05.2022).
5. Acetophenone (CAS 98-86-2). https://www.scbt.com/p/acetophenone-98-86-2 (accessed 05.05.2022).
6. Wen Y., & Jiang X. (2000). Degradation of Acetophenone in Water by Pulsed Corona Discharges. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, *20*(3), 343–351. https://doi.org/10.1023/A:1007092211228
7. ТР ТС 007/2011. О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков. http://www.eurasiancommission.org/ru/Lists/EECDocs/P_797_1.pdf (дата обращения 05.05.2022).
8. ТР ТС 008/2011. О безопасности игрушек. http://www.eurasiancommission.org/ru/Lists/EECDocs/P_798_3.pdf (дата обращения 05.05.2022).
9. N-Cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide#section=3D-Conformer (accessed 05.05.2022).
10. Thiohexam. https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/95-33-0 (accessed 05.05.2022).
11. Vulkazit P-Extra-N. https://polymer-additives.specialchem.com/product/a-lanxess-vulkacit-p-extra-n (accessed 05.05.2022).
12. Ускоритель вулканизации быстрого действия VULKACIT P EXTRA N / ВУЛКАЦИТ Р ЭСТРА N. https://e-ecolog.ru/crc/RU.77.99.88.008.%D0%95.010329.12.13 (дата обращения 05.05.2022).
13. Zinc N-ethyl-N-phenylcarbamodithioate. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6093375 (accessed 05.05.2022).
14. Sheftel, V.O. (1995) *Handbook of Toxic Properties of Monomers and Additives*. Boca Raton: Lewis Publishers. P. 192.
15. Метод тонкослойной хроматографии для определения уровня миграции индивидуальных химических соединений. *Методические указания по санитарно-гигиенической оценке резиновых и латексных изделий медицинского назначения*. М., 1988. С. 22–53.
16. Method EPA-EAD 1625 Semivolatile Organic Compounds by Isotope Dilution GCMS. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4686/ (accessed 05.05.2022).
17. Method EPA-RCA 8270D Semivolatile Organic Compounds by GC/MS. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4726/ (accessed 05.05.2022).
18. Method USGS-NWQL O-1433-01 Determination of Wastewater Compounds by Polystyrene-Divinylbenzene Solid-Phase Extraction and Capillary-Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/8937/ (accessed 05.05.2022).
19. Method USGS-NWQL O-4433-06 Determination of Wastewater Compounds in Whole Water by Continuous Liquid-Liquid Extraction and Capillary-Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/99999997833/ (accessed 05.05.2022).
20. Highest efficiency in HPLC by core-shell technology. NUCLEOSHELL. P.5 https://www.hplc.eu/Downloads/MN_Nucleoshell.pdf (accessed 05.05.2022).

21. Cardoso D., Bettin S. M., Reche R., Lima-Neto B.S., & Franco D.W. (2003) HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and rum. *Journal of Food Composition and Analysis, 16*(5), 563–573. https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00061-9
22. HPLC analysis of phenolic antioxidants. https://www.sigmaaldrich.com/BY/en/technical-documents/protocol/analytical-chemistry/small-molecule-hplc/hplc-analysis-of-phenolic-antioxidants-g1006542 (accessed 05.05.2022).
23. Dopico-García M.S., Noguerol-Cal R., Castro-López M.M., Cela-Pérez M.C., Piñón-Giz E., López-Vilariño J.M., & González-Rodríguez M.V. (2012) Determination of polyolefin additives by reversed-phase liquid chromatography. *Central European Journal of Chemistry*, *10*(3), 585–610. https://doi.org/10.2478/s11532-012-0001-x
24. Методы гигиенической оценки игр и игрушек, паст для лепки, красок, принадлежностей канцелярских или школьных, изделий галантерейных, изделий санитарно-гигиенических из полимерных материалов, из резины формовых или неформовых для ухода за детьми, и других аналогичных изделий. *Инструкция по применению № 016-1211 «Методы оценки гигиенической безопасности отдельных видов продукции для детей»*. Минск, 2011. Глава 3. С. 4–11.
25. ГОСТ 25779-90. Игрушки. Общие требования безопасности и методы контроля. Минск: Госстандарт, 2010, 36 с.

References:

1. Antioxidant 40. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Antioxidant_40 (accessed 05.05.2022).
2. Ionox 330. https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/sid/0001709702 (accessed 05.05.2022).
3. Acetophenone. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7410 (accessed 05.05.2022).
4. Acetophenone. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/acetophenone.pdf (accessed 05.05.2022).
5. Acetophenone (CAS 98-86-2). https://www.scbt.com/p/acetophenone-98-86-2 (accessed 05.05.2022).
6. Wen Y., & Jiang X. (2000). Degradation of Acetophenone in Water by Pulsed Corona Discharges. *Plasma Chemistry and Plasma Processing, 20*(3), 343–351. https://doi.org/10.1023/A:1007092211228
7. TR CU 007/2011. About the safety of products intended for children and adolescents. http://www.eurasiancommission.org/ru/Lists/EECDocs/P_797_1.pdf (accessed 05.05.2022) (in Russ.).
8. TR CU 008/2011. On the safety of toys. http://www.eurasiancommission.org/ru/Lists/EECDocs/P_798_3.pdf (accessed 05.05.2022) (in Russ.).
9. N-Cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide#section=3D-Conformer (accessed 05.05.2022).
10. Thiohexam. https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/95-33-0 (accessed 05.05.2022).
11. Vulkazit P-Extra-N. https://polymer-additives.specialchem.com/product/a-lanxess-vulkacit-p-extra-n (accessed 05.05.2022).
12. Rapid vulcanization accelerator VULKACIT P EXTRA N. https://e-ecolog.ru/crc/RU.77.99.88.008.%D0%95.010329.12.13 (accessed 05.05.2022) (in Russ.).
13. Zinc N-ethyl-N-phenylcarbamodithioate. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6093375 (accessed 05.05.2022).
14. Sheftel V. O. (1995) *Handbook of Toxic Properties of Monomers and Additives*. Boca Raton : Lewis Publishers. P. 192.

15. Thin layer chromatography method for determining the migration level of individual chemical compounds. *Guidelines for the sanitary and hygienic assessment of rubber and latex medical products.* M., 1988. P. 22–53 (in Russ.).
16. Method EPA-EAD 1625 Semivolatile Organic Compounds by Isotope Dilution GCMS. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4686/ (accessed 05.05.2022).
17. Method EPA-RCA 8270D Semivolatile Organic Compounds by GC/MS. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4726/ (accessed 05.05.2022).
18. Method USGS-NWQL O-1433-01 Determination of Wastewater Compounds by Polystyrene-Divinylbenzene Solid-Phase Extraction and Capillary-Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/8937/ (accessed 05.05.2022).
19. Method USGS-NWQL O-4433-06 Determination of Wastewater Compounds in Whole Water by Continuous Liquid-Liquid Extraction and Capillary-Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry. https://www.nemi.gov/methods/method_summary/99999997833/ (accessed 05.05.2022).
20. Highest efficiency in HPLC by core-shell technology. NUCLEOSHELL. P.5 https://www.hplc.eu/Downloads/MN_Nucleoshell.pdf (accessed 05.05.2022).
21. Cardoso D., Bettin S.M., Reche R., Lima-Neto B.S., & Franco D.W. (2003) HPLC-DAD analysis of ketones as their 2,4-dinitrophenylhydrazones in Brazilian sugar-cane spirits and rum. *Journal of Food Composition and Analysis, 16*(5), 563–573. https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00061-9
22. HPLC analysis of phenolic antioxidants. https://www.sigmaaldrich.com/BY/en/technical-documents/protocol/analytical-chemistry/small-molecule-hplc/hplc-analysis-of-phenolic-antioxidants-g1006542 (accessed 05.05.2022).
23. Dopico-García M.S., Noguerol-Cal R., Castro-López M.M., Cela-Pérez M.C., Piñón-Giz E., López-Vilariño J.M., & González-Rodríguez M.V. (2012) Determination of polyolefin additives by reversed-phase liquid chromatography. *Central European Journal of Chemistry, 10*(3), 585–610. https://doi.org/10.2478/s11532-012-0001-x
24. Methods for the hygienic assessment of games and toys, modeling pastes, paints, stationery or school supplies, haberdashery products, sanitary and hygienic products from polymeric materials, molded or non-molded rubber for child care, and other similar products. *Instructions for use No. 016-1211 "Methods for assessing the hygienic safety of certain types of products for children"*. Minsk, 2011. Chapter 3. P.4–11. (in Russ.).
25. GOST (State Standard) 25779-90. Toys. General safety requirements and control methods. Minsk: Gosstandart, 2010. 36 p. (in Russ.).