

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ANALYTICAL CHEMISTRY

УДК 543.054 + 614.37

Поступила в редакцию 04.03.2016

Received 04.03.2016

А. В. Юхник, С. М. Лещев

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

**СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИУРАМА Д И ТИУРАМА Е ПРИ ИССЛЕДОВАНИЯХ
РЕЗИН МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Разработана методика совместного определения тиурама Д и тиурама Е в водных вытяжках при санитарно-химическом анализе резин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разделение проводили на колонке Hypersil Gold длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, зернением фазы 5 мкм, в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и бидистиллированной воды (80 : 20, об./об.), скорость подвижной фазы составляла 0,4 см³/мин, а рабочая длина волны УФ детектора 280 нм. Были определены такие хроматографические параметры, как время удерживания, асимметрия пика, коэффициенты разделения и селективности. Показано, что методика линейна в диапазоне 0,005–0,05 мкг/мл. С использованием калибровочной прямой и стандартного отклонения аналитического сигнала рассчитывали нижний предел количественного определения, который составил 0,003 и 0,004 мкг/мл для тиурама Д и тиурама Е соответственно. Установлено, что различие значений дисперсий средних результатов двух выборок, полученных в условиях внутрिलाбораторной точности при определении содержания тиурама Д и тиурама Е в модельных образцах, незначимо. Разработанная методика была апробирована при санитарно-химических исследованиях образцов игрушек и изделий медицинского назначения из резин.

Ключевые слова: тиурам Д, тиурам Е, методика, санитарно-химические исследования, резина, высокоэффективная жидкостная хроматография.

A. V. Yukhnik, S. M. Leschev

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

**SIMULTANEOUS DETERMINATION OF THIURAM D AND E IN SANITARY-CHEMICAL ANALYSIS
OF RUBBER BY HPLC**

A method for simultaneous determination of thiuram D and E in aqueous extracts in the sanitary-chemical analysis of rubber by high performance liquid chromatography has been developed. Separation was performed using column Hypersil Gold 250 mm, internal diameter 4.6 mm, graining phase 5 μm, a mixture of acetonitrile–bidistilled water (80 : 20 v/v) was used as a mobile phase at a flow rate of 0.4 ml·min⁻¹, UV detection was at 280 nm. The chromatographic parameters such as retention times, peak asymmetry, resolution factor and selectivity factor, have been determined. It has been shown that the method is linear in the range of 0.005 mkg/ml–0.05 mkg/ml. Using the calibration curve and standard deviations analytical signal, limits of quantification have been calculated, being 0.003 mkg/ml and 0.004 mkg/ml for thiurams D and E, respectively. It has been found that the difference between values of the average result variances of two samples obtained under conditions of intermediate precision in determining the content of thiuram D and thiuram E in model samples, is insignificant. The developed method has been tested in the sanitary-chemical analysis of sample toys and medical products from rubber.

Keywords: thiuram D, thiuram E, method, sanitary-chemical analysis, rubber, high performance liquid chromatography.

Введение. Тиурам Д и тиурам Е являются наиболее распространенными ускорителями вулканизации группы тиурамсульфидов (рис. 1). В результате вулканизации тиурамсульфидами получают резины, обладающие высокой теплостойкостью, сопротивлением накоплению остаточных деформаций и стойкостью к тепловому старению.

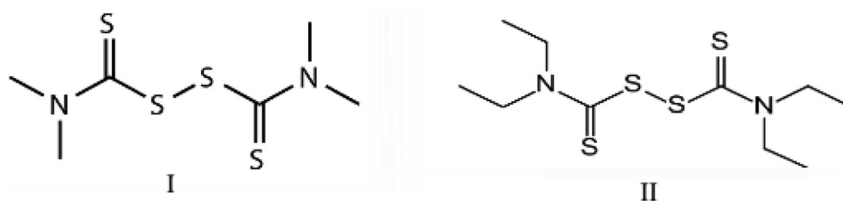


Рис. 1. Структурные формулы тиурама Д (I) и тиурама Е (II)

Fig. 1. Structural formulas of thiuram D (I) and thiuram E (II)

Тиурамы относятся к соединениям 2-го класса опасности, обладают сенсibiliзирующим действием, в связи с чем при контакте с ними могут развиваться дерматиты и экземы. Более длительное их воздействие приводит к раздражению желудочно-кишечного тракта, поражению центральной нервной системы, эндокринных желез, печени и сердца. Тиурам Д угнетает продукцию лейкоцитов, в больших дозах проявляет мутагенное и канцерогенное действия.

В связи с тем что полимерные материалы широко применяются при изготовлении товаров детского ассортимента (соски, воздушные шары, игрушки), упаковочных материалов, контактирующих с пищевыми продуктами (полимерные пленки, уплотнительные кольца крышек для консервирования, уплотнители бидонов и т.д.), а также материалов, предназначенных для изготовления медицинских изделий, содержание в них вредных веществ регламентируется.

Нормативный показатель содержания в водных вытяжках из резины и резинопластиковых материалов, контактирующих с пищевыми продуктами, составляет для тиурама Д $0,03 \text{ мг/дм}^3$, для тиурама Е – $0,5 \text{ мг/дм}^3$ [1], а нормативный показатель содержания в водных вытяжках из резинолатексных композиций – $0,5 \text{ мг/дм}^3$ [2].

Существующие в настоящее время методы определения перечисленных соединений в водных вытяжках при санитарно-химических исследованиях резин основаны на тонкослойной хроматографии и не являются достаточно чувствительными и точными для определения концентраций мигрирующих веществ на уровне допустимых количеств миграции в водной среде [1–7]. А методы совместного определения тиурама Д и тиурама Е вовсе отсутствуют.

Разработка и внедрение методики одновременного определения концентраций тиурама Д и тиурама Е в лабораторную практику позволит с высокой степенью достоверности контролировать товары народного потребления по показателям безопасности, что будет способствовать сохранению и укреплению здоровья, а также предотвращению развития различных заболеваний.

Цель наших исследований – разработать методику совместного определения тиурама Д и тиурама Е методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в водных вытяжках из различных резиносодержащих материалов.

Материалы и методы. Определение концентраций тиурама Д и тиурама Е при их совместном присутствии в водных вытяжках осуществляли методом жидкостной хроматографии на хроматографе «Thermo Finnigan Surveyor Plus» с диодно-матричным детектором и колонкой Hypersil Gold длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненной пористыми микрокастицами, силикагель для хроматографии октадецилсилильный с размером частиц 5 мкм (рис. 2). При этом в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и бидистиллированной воды в соотношении 80:20 (об./об.), скорость подвижной фазы составила 0,4 мл/мин, рабочая длина волны детектора 280 нм, а объем вводимой пробы – 100 мкл.

Объектами исследования при разработке методики являлись модельные водные растворы, содержащие тиурам Д и тиурам Е в концентрациях 0,50–5,0 мкг на 100 мл вытяжки. Водные вытяжки для определения тиурамов готовили, согласно Инструкции 4.1.10-15-92-2005 [3], для материалов, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами, и Инструкции 1.1.10-12-41-2006 [5] – для изделий медицинского назначения.

Для приготовления стандартных растворов тиурамов использовали их стандартные образцы с содержанием основного вещества более 99 %. Линейность и диапазон применения устанавливали по серии стандартных растворов, содержащих от $5 \cdot 10^{-3}$ до $5 \cdot 10^{-2}$ мкг/мл тиурама Е и тиурама Д.

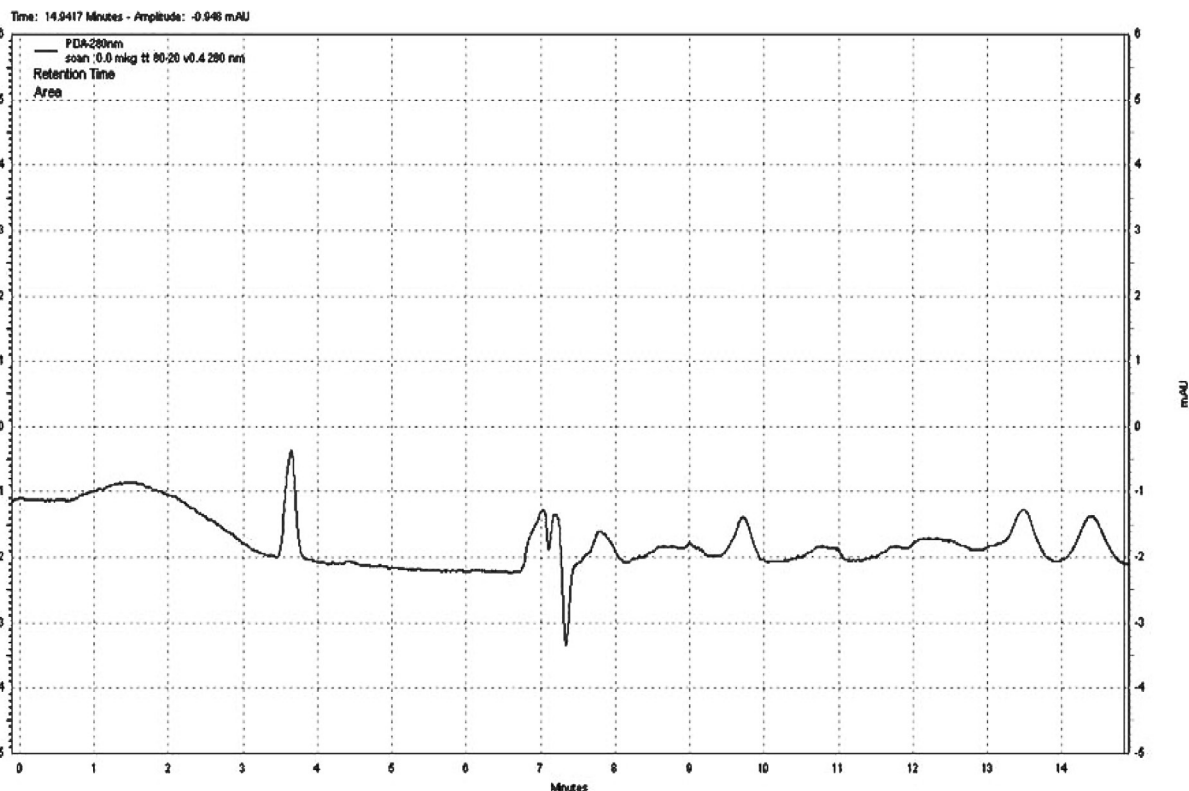


Рис. 2. Хроматограмма водной вытяжки из резины, предназначенной для контакта с пищевыми продуктами

Fig. 2. A chromatogram of the aqueous extract from rubber meant for food contact

Исходный стандартный раствор с концентрацией 100,0 мкг/мл готовили растворением по 10,0 мг каждого стандартного образца тиурама Д и тиурама Е в 10 мл ацетонитрила, а после доведением бидистиллированной водой в мерной колбе до объема 100,0 мл. Рабочие стандартные растворы получали путем соответствующего разбавления исходного стандартного раствора бидистиллированной водой.

Результаты и их обсуждение. Одними из основных элементов жидкостной хроматографии для достижения высокой чувствительности и селективности по веществу являются состав и скорость подвижной фазы. Обычно в обращенно-фазовых системах используют смесь воды и ацетонитрила. Нами при разработке методики одновременного определения концентраций тиурама Д и тиурама Е в водных вытяжках в качестве подвижных фаз были исследованы смеси ацетонитрила и бидистиллированной воды в соотношении 50:50, 70:30, 80:20 и 90:10 со скоростью подвижной фазы от 0,3 до 0,5 мл/мин. Наилучший результат был достигнут при соотношении ацетонитрила и бидистиллированной воды 80:20 (об./об.) и скорости подвижной фазы 0,4 мл/мин (рис. 3). При данных условиях наблюдались четкие симметричные пики, не наблюдалось размывания хроматографических пиков. Коэффициенты асимметрии, рассчитанные для пиков, составляли от 0,9 до 1,1.

Для установления длины волны детектирования снимали спектры стандартных растворов тиурама Д и тиурама Е в области от 210 до 400 нм (рис. 4). Первый максимум поглощения (около 220 нм) характеризуется большим коэффициентом экстинкции, однако использовать его нецелесообразно из-за возрастающего шума базовой линии и мешающего влияния компонентов, так как в данной области поглощает большинство веществ. При детектировании на длине волны 220 нм наблюдается значительное возрастание отклонения и снижение воспроизводимости результатов. Несмотря на то что интенсивность поглощения падает в диапазоне 220–320 нм, область 270–290 нм является пологой, что увеличивает надежность получаемых результатов и уменьшает вероятность ошибок. В связи с чем в качестве длины волны детектирования выбрали 280 нм.

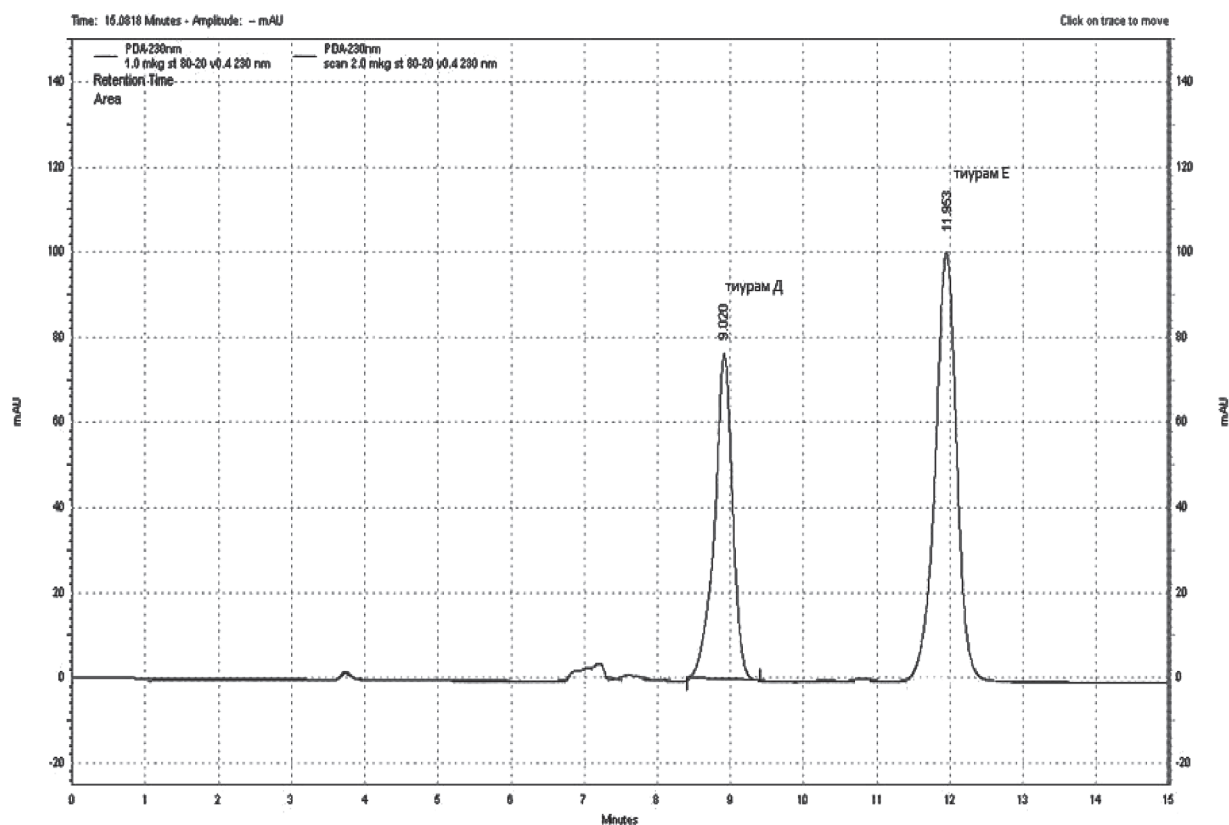


Рис. 3. Хроматограмма стандартного раствора с концентрацией тиурама Д 1,0 и тиурама Е 2,0 мкг/мл

Fig. 3. A chromatogram of the standard solution with thiuram D and thiuran E concentrations 1.0 and 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively

Линейность устанавливалась как зависимость полученного аналитического отклика от фактического содержания определяемого вещества в анализируемом растворе. Критерием приемлемости был коэффициент корреляции линейной зависимости площадей пиков тиурама Д и тиурама Е от их фактического содержания. Строили градуировочные графики в диапазоне концентраций от 0,0050

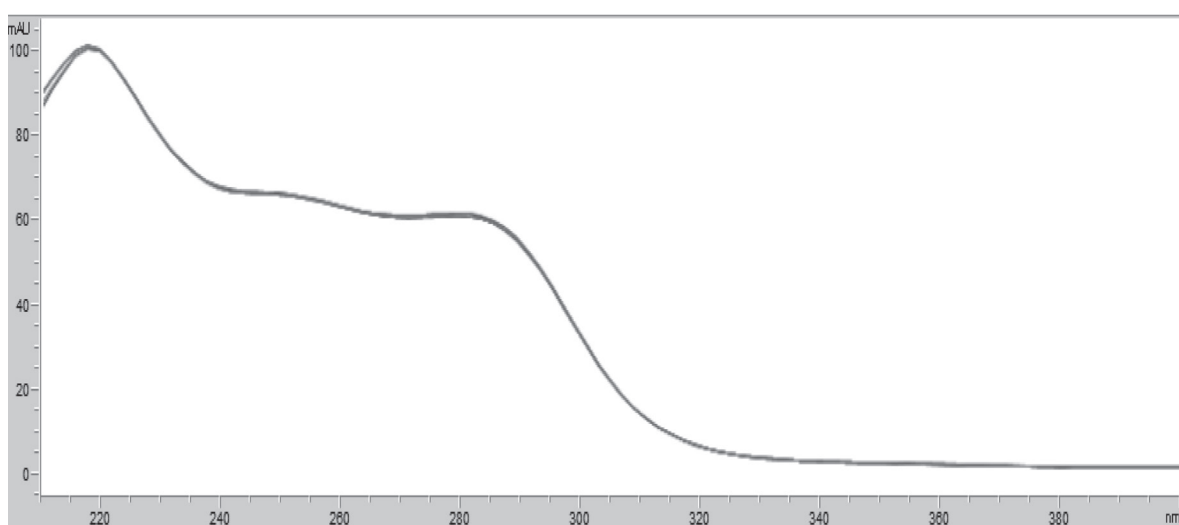


Рис. 4. Спектры поглощения тиурама Д и тиурама Е. Спектры тиурамов идентичны в связи со схожестью их химического строения

Fig. 4. Absorption spectra of thiuram D and thiuran E. The spectra are identical, due to similarity of structures

до 0,050 мкг/мл. С использованием полученного массива данных строили калибровочные зависимости с использованием 5 уровней калибровки по методу наименьших квадратов. В результате были получены линейные зависимости с уравнениями вида $y = 3060000x + 420$ с коэффициентом корреляции 0,9998 для тиурама Д и $y = 3510000x + 620$ с коэффициентом корреляции 0,9995 для тиурама Е.

С использованием калибровочной прямой и стандартного отклонения аналитического сигнала рассчитывали нижний предел количественного определения, который составил 0,0030 мкг/мл для тиурама Д и 0,0040 мкг/мл для тиурама Е.

Правильность методики испытаний оценивали по трем уровням концентраций, входящих в диапазон применения методики. Подтверждение правильности полученных данных осуществляли путем вычисления смещения $|\bar{x} - \mu|$ и проверки значимости отличия случайной величины x от константы μ (принятого эталонного значения в модельной смеси) [8]. Использовали модельные растворы с содержанием тиурама Д и тиурама Е в количествах 0,010, 0,030 и 0,050 мкг/мл. В результате полученных данных (табл. 1) доказано, что выборка для измеренных значений концентрации однородна, так как выполняется неравенство $(Q_{n-1})_{\max} / R < Q(P; n) = Q(0,95; 3) = 0,94$, и смещение результата измерения, отнесенное к абсолютному СКО среднего значения, не превышает табличного значения критерия Стьюдента [8].

Таблица 1. Результаты теста «Правильность»

Определяемое содержание, мкг/л	$\frac{(X_i - X_{i-1})_{\max}}{R}$		$\frac{ \bar{x} - \mu \cdot \sqrt{n}}{S(x)}$	
	для тиурама Д	для тиурама Е	для тиурама Д	для тиурама Е
0,010	0,52	0,74	3,99	2,53
0,030	0,67	0,90	3,78	3,19
0,050	0,67	0,84	2,46	2,12
Критерий	< 0,94		< 4,3	

Внутрилабораторная точность методики испытаний подтверждалась оценкой результатов испытаний в разные дни. Результаты испытаний проверяли на однородность выборки и статистические характеристики, вычисленные для однородной выборки, использовали для оценки внутрилабораторной точности. Устанавливали значимость различия между двумя средними значениями, для чего использовали модифицированный тест Стьюдента. Для применения модифицированного теста Стьюдента предварительно устанавливали, есть ли значимое различие между величинами двух дисперсий с помощью теста Фишера. Для проведения испытаний внутрилабораторной точности из модельных растворов с концентрацией тиурама Д и тиурама Е по 0,010 мкг/мл готовили 2 группы по 6 проб. В результате полученных данных (табл. 2) была подтверждена внутрилабораторная точность. Различие значений дисперсий средних результатов двух выборок, полученных в условиях внутрилабораторной точности при определении содержания тиурама Д и тиурама Е в модельных образцах, незначительно. Отношение значений дисперсий не превышало табличного значения коэффициента Фишера $F_{\text{табл}}(P; f_1; f_2) = 10,97$ [8]. Рассчитанное значение коэффициента Стьюдента не превышало табличного значения $t_{\text{табл}}(0,95; f) = 2,23$ [8].

Таблица 2. Результаты теста «Внутрилабораторная точность»

Показатель	$F_{\text{табл}}(P, f_1, f_2)$	$\frac{ \bar{x}_1 - \bar{x}_2 }{\bar{S}(x)} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$
Полученные значения для тиурама Д	2,07	0,28
Полученные значения для тиурама Е	1,43	0,26
Критерий	< 10,97	< 2,23

Заключение. Разработана методика (по заданию отраслевой научно-технической программы «Современные условия жизнедеятельности и здоровьесбережение» Министерства здравоохранения Республики Беларусь) совместного определения тиурама Д и тиурама Е методом ВЭЖХ в водных вытяжках при санитарно-химических исследованиях резин. Методика была апробиро-

вана в лаборатории хроматографических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» при санитарно-химических исследованиях образцов игрушек и изделий медицинского назначения из резин и признана рационализаторской [9].

Список использованных источников

1. Технический регламент Таможенного союза 005/2011 «О безопасности упаковки».
2. Технический регламент Таможенного союза 008/2011 «О безопасности игрушек».
3. Инструкция 4.1.10-15-92-2005. Санитарно-химические исследования резин и изделий из них, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами.
4. СанПиН 2.4.7.14-34-2003. Игрушки и игры. Гигиенические требования безопасности. Методы контроля. Требования к производству и реализации.
5. Инструкция 1.1.10-12-41-2006. Гигиеническая оценка изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления.
6. Методические указания по санитарно-гигиенической оценке резиновых и латексных изделий медицинского назначения. – М., 1988.
7. Методические указания МУ 11-11-15 РБ 2002. Порядок и организация проведения гигиенической экспертизы производственной и специальной одежды. Показатели гигиенической безопасности и методы определения.
8. Государственная фармакопея Республики Беларусь. – Молодечно, 2012. – Ч. II. – Т. 1.
9. Рационализаторское предложение № 1941. ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены».

References

1. (2011) Tekhnicheskii Reglament Tamozhennogo Soyuz 005/2011 «O bezopasnosti upakovki» [Technical Regulations of the Customs Union 005/2011 «On safety of packaging»]
2. (2011) Tekhnicheskii Reglament Tamozhennogo Soyuz 008/2011 «O bezopasnosti igrushek» [Technical Regulations of the Customs Union 005/2011 «On safety of toys»]
3. (2005) Instruktziya 4.1.10-15-92-2005. Sanitarno-khimicheskie issledovaniya rezin i izdelii iz nikh, prednaznachennykh dlya kontakta s pishchevymi produktami [Instructions 4.1.10-15-92-2005. Sanitary-chemical studies of rubber and their products intended for food contact]
4. (2003) SanPiN 2.4.7.14-34-2003. Igrushki i igry. Gigienicheskie trebovaniya bezopasnosti. Metody kontrolya. Trebovaniya k proizvodstvu i realizatsii [Sanitary Rules and Standards 2.4.7.14-34-2003. Toys and games. Hygienic safety requirements. Control methods. to the production and sales requirements]
5. (2006) Instruktziya 1.1.10-12-41-2006. Gigienicheskaya otsenka izdelii meditsinskogo naznacheniya, meditsinskoi tekhniki i materialov, primenyaemykh dlya ikh izgotovleniya [Instructions 1.1.10-12-41-2006. Hygienic evaluation of medical devices, medical equipment and materials used to manufacture them]
6. (1988) Metodicheskie ukazaniya po sanitarno-gigienicheskoi otsenke rezinovykh i lateksnykh izdelii meditsinskogo naznacheniya [Guidelines for the sanitary evaluation of rubber and latex products for medical purposes], Moscow, RU
7. (2002) Metodicheskie ukazaniya MU 11-11-15 RB 2002. Poryadok i organizatsiya provedeniya gigienicheskoi ekspertizy proizvodstvennoi i spetsial'noi odezhdy. Pokazateli gigienicheskoi bezopasnosti i metody opredeleniya [Guidelines MU 15.11.11 RB 2002. The procedure and organization of hygienic examination of industrial and working clothing. Indicators of hygienic safety and methods for their determination], BY
8. (2012) Gosudarstvennaya Farmakopeya Respubliki Belarus' [State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus], in 2 vol., vol. 1, Molodechno, BY
9. Ratsionalizatorskoe predlozhenie № 1941. GU «Respublikanskii nauchno-prakticheskii tsentr gigieny» [Rationalization proposal no. 1941. SI «Republican Scientific and Practical Center of Hygiene»], BY

Информация об авторах

Лещев Сергей Михайлович – д-р хим. наук, профессор. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: les_l@tut.by.

Юхник Анна Владимировна – аспирантка хим. фак. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anett89@list.ru.

Information about the authors

Leschev Sergey Mikhailovich – D. Sc. (Chemistry), Professor. Belarusian State University (Leningradskaya str., 14, 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: les_l@tut.by.

Yukhnik Anna Vladimirovna – postgraduate student in Faculty of Chemical. Belarusian State University (Leningradskaya str., 14, 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anett89@list.ru.

Для цитирования

Юхник, А. В. Совместное определение тиурама Д и тиурама Е при исследованиях резин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / А. В. Юхник, С. М. Лещев // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2016. – № 4. – С. 30–35.

For citation

Yukhnik A. V., Leschev S. M. Simultaneous determination of thiuram D and E in sanitary-chemical analysis of rubber by HPLC. Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, chemical series, 2016, no. 4, pp. 30–35.