

АНАЛИЗ ГЕЛЕОБРАЗНЫХ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ КОМПОЗИЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ТРИКЛОЗАН И ТИНОЗАН

Л.А. Носикова¹, доцент, А.Н. Кочетов^{2,@}, химик-аналитик

¹ Кафедра химии и технологии редких и рассеянных элементов,
наноразмерных и композиционных материалов им. К.А. Большакова
МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия

² Испытательная аналитическая лаборатория
ЗАО «МЕТТЭМ-Технологии», Балашиха, 143900 Россия

@ Автор для переписки, e-mail: kochchem@mail.ru

Рассмотрены варианты экстракционного извлечения тинозана и триклозана из гелеобразных дезинфицирующих средств с последующим определением спектрофотометрией в УФ-области. Экстракцию предпочтительнее осуществлять гексаном в нейтральных (слабокислых условиях) или при подкислении, в случае исследования средств с щелочной реакцией. Влияние микропримесей в зависимости от характера поглощения может быть скомпенсировано или делает проведение спектрофотометрического определения невозможным. Корректное определение титульных соединений возможно при анализе изопропанольных растворов средств методом ОФ ВЭЖХ как индивидуально, так и в смесях с другими дезинфицирующими субстанциями фенольного ряда. Спектрофотометрическое определение возможно осуществить только для индивидуальных титульных веществ (экстрагирование гексаном).

Ключевые слова: триклозан, тинозан, спектрофотометрия, дезинфицирующие средства, ОФ ВЭЖХ.

ANALYTICAL DETERMINATION OF TRICLOSAN AND TINOSAN IN DISINFECTANTS GELS

L.A. Nosikova¹, A.N. Kochetov^{2,@}

¹ M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies,
Moscow, 119571 Russia

² CJCS «METTEM-Technology», Balashikha, Moscow region, 143900 Russia

@ Corresponding author e-mail: kochchem@mail.ru

Variants of tinosan and triclosan extraction from jellous disinfectants followed by UV-determination is considered. The best extractant is hexane in a neutral (weakly acidic) solution or under acidification in case of studying alkaline disinfectants. The correct determination of the title compounds is possible in the analysis of their 2-propanol solutions by reversed-phase HPLC, both individually and as mixtures with other phenolic disinfectants. Spectrophotometric determination may be made only for the individual title compounds (extraction with hexane).

Keywords: triclosan, tinosan, spectrophotometry, disinfectants, reversed-phase HPLC, extraction.

Фенольные производные триклозан (I) (CAS № [3380-34-5]) и тинозан (II) (CAS № [3380-30-1]) широко используются в качестве действующих веществ (ДВ) антисептических препаратов в практике медицинской дезинфекции [1], а также применяются в качестве консервантов в парфюмерно-косметической продукции [2, 3]. Содержание ДВ в таких

композициях (зачастую это гелеобразные продукты, жидкие концентраты или готовые рабочие растворы и мыла) варьируется от десятых долей до нескольких процентов. При этом могут применяться несколько производных одновременно или совместно с ДВ других групп дезинфекционных средств (четвертичные аммониевые соединения, спирты, альдегидсо-

держателе препараты) [4]. Ассортимент препаратов на основе титульных соединений постоянно расширяется, поскольку описаны случаи резистентности госпитальных штаммов инфекций к триклозану [5]. Последнее обстоятельство стимулирует к поиску новых дезинфектантов скрининговыми методами, при этом триклозан выступает в качестве стартового образца (темплата) [6].

В инструкции по применению дезинфицирующих препаратов обязательно включены методы контроля их качества. Одним из нормируемых условий является соответствие содержания ДВ в пределах, установленных нормативными требованиями. Также разработаны общие рекомендации для комплексного исследования содержания фенолсодержащих субстанций в препаратах [7, с. 44, 8, с. 53], однако их использование именно для антисептических композиций, в силу специфики последних, не всегда возможно. Например, для жидких концентратов, содержащих дезинфектанты, родственные **I** и **II**, рассмотрены возможности разделения ДВ тонкослойной хроматографией (пластины «Сорбфил» и «Силуфол») с последующим количественным определением в средствах [4]. В последнем случае был использован количественный метод, заключающийся в элюировании пятен с пластин и последующем фотометрировании полученных растворов с использованием собственных спектральных значений, измеренных в этаноле. Для анализа гелеобразных форм ввиду существенно более низкого содержания ДВ данный метод мало пригоден.

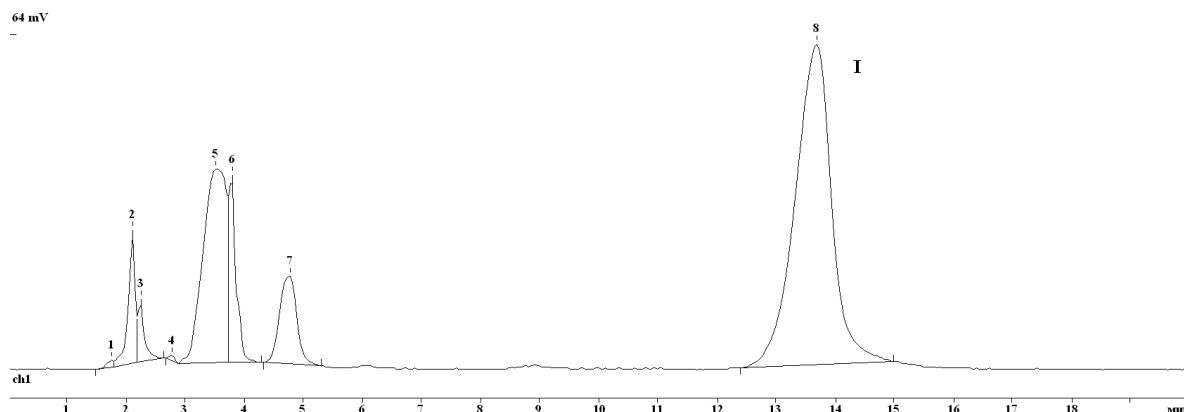


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма 2.0% раствора в изопропанолe кожного антисептика жидкое мыло «Сапфир» (условия – см. Эксперимент. часть).

При использовании в качестве экстрагента этилацетата как индивидуально, так и из водных растворов в присутствии электролитов (Na_2SO_4 и NaCl), для исследованных композиций были получены экстракты, свойства которых не позволяют применить спектрофотометрические методы анализа, хотя в инструкции по применению средства «Сапфир» производитель рекомендует использовать именно этилацетат.

Предложен фотометрический метод определения триклозана (**I**) в жидком туалетном антибактериальном мыле [9] за счет образования окрашенных продуктов взаимодействия с 4-аминоантипирином в присутствии окислителя гексацианоферрата(III) калия, однако для установления градуировочных характеристик требуется образец средства, не содержащий **I**. Альтернативно, определение **I** осуществлялось прямой спектрофотометрией ($\lambda = 280 \text{ нм}$) при растворении навески средства в спирте [9].

Результаты и их обсуждение

При попытке воспроизвести методику определения триклозана (**I**) прямой спектрофотометрией (СФ) ($\lambda = 280 \text{ нм}$) [9] при растворении навески средства «Сапфир» (заявленное содержание **I** составляет $0.30 \pm 0.03\%$) в изопропанолe, было обнаружено значительное превышение содержания по сравнению с нормативным значением. Однако в результате анализа этого же раствора методом ВЭЖХ (рис. 1) было выявлено, что содержание **I** оказалось в пределах заявленного. По-видимому, вспомогательные компоненты данного средства переходят в раствор и мешают (рис. 1, пики 1–7) прямому спектрофотометрическому определению при 280 нм. Прямая спектрофотометрия в растворе изопропанола для других исследованных средств также приводит к значительно завышенным, относительно нормативных значений, результатам.

Значительно лучшие результаты были достигнуты при экстракции гексаном. Так, проведение даже однократной экстракции для средств «Сапфир» и «Sanita»[®] позволяет получить приемлемый результат (таблица). Для получения скорректированных значений коэффициентов молярного поглощения усредняли измеренное значение оптической плотности пяти стандартных растворов с концентрациями от $7.7 \cdot 10^{-5}$ до

$9.4 \cdot 10^{-5}$ моль/л (для **I**) и от $3.3 \cdot 10^{-4}$ до $4.4 \cdot 10^{-4}$ моль/л (для **II**) в гексане. Литературные данные для **I** в этаноле – 4500 л/моль·см (280 нм) [9], что несколько больше полученных нами (3940 л/моль·см). Далее расчеты концентрации были проведены с использованием

собственных скорректированных значений коэффициента молярного поглощения в гексане, равных 3940 ± 60 л/моль·см (280 нм) и 1150 ± 30 л/моль·см (275 нм) для **I** и **II** соответственно.

Результаты исследования промышленных образцов, содержащих **I**, **II**

№ п/п	Образец	ДВ	Содержание в исходном (нормативное значение), %	Экстрагент/растворитель	Метод	Обнаружено, %
1	Жидкое мыло «Сапфир»	I	0.30±0.03	<i>i</i> -PrOH	ВЭЖХ	0.31±0.01
2	Жидкое мыло «Сапфир»	I	0.30±0.03	Гексан (×2)	СФ	0.30±0.02
3	Жидкое мыло «Сапфир»	I	0.30±0.03	Гексан	СФ	0.27±0.02
4	Средство чистящее для кухонных плит «Sanita»®-гель с антибактериальным эффектом	II	0.30±0.03	Гексан	СФ	0.29±0.02
5	Средство чистящее для кухонных плит «Sanita»®-гель с антибактериальным эффектом	II	0.30±0.03	<i>i</i> -PrOH	ВЭЖХ	0.29±0.01
6	Мыло жидкое с дезинфицирующим эффектом «Ника-свежесть антибактериальное»	I	0.50±0.05	<i>i</i> -PrOH	ВЭЖХ	0.48±0.01

Прямое измерение оптической плотности экстрактов возможно, когда извлекаемые помимо титульных соединений компоненты незначительно поглощают (как для мыла «Сапфир») или поглощают не в измеряемой (275–280 нм) области, что позволяет скомпенсировать их фон, используя разработанные процедуры [10–12]. Например, при анализе гексанового экстракта средства «Sanita»®-гель на содержание **II** фон вносит заметную систематическую ошибку. Ошибка может быть учтена при математической обработке величин оптической плотности, измеренных не только в максимуме спектра поглощения (1150 ± 30 л/моль·см (275 нм)), но и при 310 и 320 нм [11]. Стоит отметить, что при исследовании средства «Sanita»®-гель однократная экстракция гексаном только в этом случае из всех рассмотренных демонстрирует отличную воспроизводимость и близость к результатам ВЭЖХ, что можно скорее отнести к особенностям рецептуры данного средства. При этом экстракция осуществляется в кислой среде, поскольку водный раствор средства имеет слабощелочную реакцию. Кислые и слабокислые условия проведения экстракционного разделения подтверждаются практикой для разнообразных фенольных производных [13].

Для средства «Сапфир» двукратная экстракция гексаном лишь незначительно приблизила измеренные значения к результатам ВЭЖХ. В последнем случае, УФ-спектр гексанового экстракта не содержит составляющих, чьи спектральные характеристики превышали бы таковые для **I**, что делает коррекцию фона незначимой.

Скорректировать влияние примесей при спектрофотометрическом анализе гексанового экстракта мыла «Ника-свежесть антибактериальное» на содержание **I** не представлялось возможным, поскольку примесные фазы(а) значительно поглощают при выбранном для детекции значении длины волны. Содержание **I** для этого средства определяли методом ВЭЖХ в изопропанол.

Таким образом, близость спектральных характеристик титульных соединений позволяет осуществлять их совместное определение только с использованием хроматографического оборудования.

Экспериментальная часть

Для проведения исследований использовали следующие аналитические стандарты: 5-хлоро-2-(2,4-дихлорофенокси)фенол (Триклозан) 99.2%, 5-хлоро-2-(4-хлорофенокси)фенол (Тинозан) 97.2% (Sigma-Aldrich, США).

Изопропанол (х. ч.) ГОСТ 18300-87, гексан (х. ч.) ТУ 2631-003-05807999-96, этилацетат (х. ч.) 22300-76, кислота серная концентрированная (х. ч.) ГОСТ 4204-77, вода дистиллированная ГОСТ 6709-72, ацетонитрил (для ВЭЖХ, Panreac, Испания) использовались без предварительной очистки.

В процессе исследования подвергались проверке на содержание **I**, **II** как тестовые растворы, так и ряд средств, имеющих государственную регистрацию на территории РФ: кожный антисептик жидкое мыло «Сапфир» (ООО «Компания Кемитрейд», Россия),

средство чистящее для кухонных плит «Sanita»®-гель с антибактериальным эффектом (ЗАО «Ступинский химический завод», Россия) и мыло жидкое с дезинфицирующим эффектом «Ника-свежесть антибактериальное» (ООО НПФ «Геникс», Россия).

Спектрофотометрирование образцов осуществляли на спектрофотометре СФ-46 («ЛОМО», СССР) в области 250–340 нм в кварцевых кюветах с длиной поглощающего слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения соответствующий экстрагенту тип растворителя.

Методика определения содержания триклозана (I) и тинозана (II)

Для определения содержания триклозана (I) предварительно проводили двукратную экстракцию I из средства «Сапфир» гексаном. Для этого в колбу вместимостью 25 см³ вносили 500 мг средства и около 20 см³ гексана, затем закрывали колбу крышкой и интенсивно встряхивали в течение 3 мин. Через 0.5 ч гексановый экстракт фильтровали через бумажный фильтр в колбу вместимостью 50 см³. Повторно вносили порцию экстрагента объемом 20 см³ в колбу вместимостью 25 см³ и повторно проводили процедуру экстракции. Через 0.5 ч гексановые экстракты объединяли, фильтруя через бумажный фильтр экстракт 2-ой порции в колбу, содержащую первоначальный экстракт. Доводили объем экстрактов до 50 см³ гексаном и перемешивали. Раствор наливали в кварцевые кюветы с длиной поглощающего слоя 1 см и измеряли поглощение при 280 нм, используя в качестве раствора сравнения гексан. Дальнейшие расчеты выполняли согласно формуле (1).

Для определения содержания тинозана II в средстве «Sanita»®-гель осуществляли однократную экстракцию гексаном. В предварительно взвешенную колбу с притертой крышкой вносили 1000 мг средства. К навеске последовательно прибавляли 20 см³ дистиллированной воды, затем 0.1 см³ серной кислоты, после чего перемешивали в течение 3 мин. К полученному раствору прибавляли 25 см³ гексана и интенсивно встряхивали в течение 3 мин. Через 0.5 ч гексановый экстракт отделяли с помощью делительной воронки, отфильтровывали через бумажный фильтр и измеряли поглощение при 275, 310 и 320 нм в кюветах с длиной поглощающего слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения гексан. Дальнейшие расчеты выполняли согласно формуле (2).

$$X = \frac{D^{280} \cdot M_{\text{м.}} \cdot 0,050 \cdot 100\%}{m \cdot \varepsilon^{280}}, \quad (1)$$

$$X = \frac{(D^{275} - (D^{310} + 3 \cdot (D^{310} - D^{320})) \cdot M_{\text{м.}} \cdot 0,025 \cdot 100\%}{m \cdot \varepsilon^{275}}, \quad (2)$$

где

D^{275} , D^{280} , D^{310} , D^{320} – оптическая плотность анализируемых экстрактов при 275, 280, 310 и 320 нм соответственно;

$M_{\text{м.}}$ – молекулярная масса (289.5 и 254 г/моль для I и II, соответственно);

0.025 и 0.050 – объем экстрагента (гексана), л;

m – масса навески пробы средства, г;

ε^{280} , ε^{275} – значения молярного коэффициента поглощения (3940 и 1150 л/моль·см для I (280 нм) и II (275 нм), соответственно), см. текст выше.

За результат анализа принимали среднее значение двух параллельных определений с приписываемой погрешностью $\pm 8\%$. Результат анализа округляли до второго десятичного знака после запятой.

ВЭЖХ в сочетании с УФ-детекцией проводили на хроматографе «Waters 490» (Waters Ltd., Watford, UK), оснащенном насосом Altex модели 110A, инжектором «Rheodyne» с объемом петли 20 мкл, УФ-детектором модели 490 с переменной длиной волны. Использовали колонку из нержавеющей стали (4.0×150 мм), заполненную носителем Сепарон SGX C18 Супер, зернение 5 мкм («Элсико», Россия). Подвижная фаза ацетонитрил – вода, 60 : 40, скорость потока 0.5 мл/мин (предварительно дегазировали при помощи ультразвуковой установки). Детекцию осуществляли на УФ-детекторе при 280 нм. Записи хроматограмм проводили с помощью программы «Мультихром» (Ampersand Ltd. версия 1,52i, Россия). Калибровку проводили, используя растворы аналитических стандартов I, II в изопропанол с концентрациями: I – 0.121 мг/мл и II – 0.097 мг/мл, разбавленными в 3, 6 и 9 раз соответственно. Исследовали модельный раствор смеси I-II с концентрациями компонентов: I – 0.031 мг/мл (0.107 мМ) и II – 0.069 мг/мл (0.271 мМ), а также других дезинфицирующих субстанций фенольного ряда: фенол – 0.117 мг/мл (1.24 мМ); 2-феноксиэтанол – 0.100 мг/мл (0.724 мМ); 1,1-бифенил-2-ол – 0.062 мг/мл (0.364 мМ); 2-бензил-4-хлорфенол – 0.073 мг/мл (0.334 мМ), хроматограмма которого приведена на рис. 2. Времена удерживания для I и II составляют 14.0 ± 0.3 и 11.1 ± 0.2 мин соответственно.

Хроматографическому определению содержания I и II в средствах предшествовало растворение навесок около 500 мг средств в 25 см³ изопропанола при тщательном перемешивании (температура комнатная) в течение 3 мин, после чего полученный раствор хроматографировали.

Заключение

Проведенные нами исследования показали, что ранее предложенное авторами [9] прямое спектрофотометрическое определение триклозана (I) и тинозана (II) в изопропанол дает систематически завышенные значения содержания титульных соеди-

нений за счет поглощения примесей. Экстракция гексаном (предпочтительнее осуществлять в нейтральных или кислых условиях) позволяет в некоторых случаях пренебречь или же учесть фоновое поглощение экстрагируемых примесных фаз, существенно корректируя результат анализа. Однако наиболее корректные результаты были получены при исследовании растворов средств в изопропанолем методом ВЭЖХ. В последнем случае возможно совместное определение **I** и **II** в присутствии других дезинфектантов фенольного ряда при осуществлении пробо-

подготовки в изопропанолем. Сложности введения в гелеобразную композицию стандартных добавок **I** и **II** не позволили нам оценить предложенные пути определения ДВ методом «введено-найденно», однако необходимо констатировать, что результат оценки содержания альтернативными способами (СФ и ОФ ВЭЖХ) обнаруживают декларируемые производителями средств содержания титульных соединений в проанализированной в работе продукции дезинфекционного профиля.

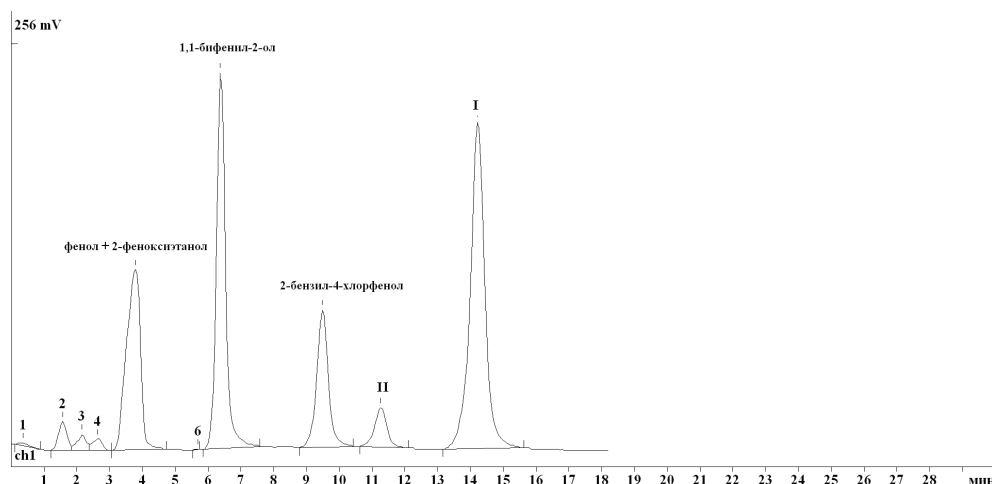


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма модельной смеси соединений **I-II** с другими дезинфицирующими субстанциями фенольного ряда (пояснения см. в Эксперимент. части).

Список литературы:

1. Федорова Л.С. // Дезинфекционное дело. 2003. № 4. С. 41–43.
2. Achari R.G., Chin D. // J. Cosmet. Sci. 1981. V. 32. P. 163–173.
3. Wang L.H., Tso M., Chin C.-Y. // J. Cosmet. Sci. 2005. V. 56. P. 183–192.
4. Крейнгольд С.У. // Дезинфекционное дело. 2003. № 4. С. 45–46.
5. Suller M.T.E., Russell A.D. // J. Antimicrob. Chemotherapy. 2000. V. 46. P. 11–18.
6. Balakrishna A., Annar S., Reddy M.V.N., Reddy C.S., Nayak S.K. // J. Chem. Pharm. Res. 2009. V. 1. P. 250–256.
7. Р 4.2.2643-10. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. Москва, 2010. 615 с.
8. Крейнгольд С.У. Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов. М.: Экспресспринт, 2002. С. 156.
9. Крейнгольд С.У., Шестаков К.А. // Дезинфекционное дело. 2002. № 3. С. 46–47.

10. Крейнгольд С.У., Шестаков К.А. // Дезинфекционное дело. 1999. № 4. С. 22–24.
11. Крейнгольд С.У. // Дезинфекционное дело. 1999. № 1. С. 38–39.
12. Крейнгольд С.У. Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов. М.: ЦИОРИД Биор, 1998. С. 100–103.
13. Подолина Е.А., Грошев Е.Н., Рудаков О.Б. // Конденсированные среды и межфазные границы. 2011. Т. 13. № 1. С. 72–79.

References:

1. Fedorova L.S. // Dezinfekcionnoe delo (Disinfection case). 2003. № 4. P. 41–43.
2. Achari R.G., Chin D. // J. Cosmet. Sci. 1981. V. 32. P. 163–173.
3. Wang L.H., Tso M., Chin C.-Y. // J. Cosmet. Sci. 2005. V. 56. P. 183–192.
4. Krejngol'd S.U. // Dezinfekcionnoe delo (Disinfection case). 2003. № 4. P. 45–46.
5. Suller M.T.E., Russell A.D. // J. Antimicrob. Chemotherapy. 2000. V. 46. P. 11–18.
6. Balakrishna A., Annar S., Reddy M.V.N., Reddy C.S., Nayak S.K. // J. Chem. Pharm. Res. 2009. V. 1.

P. 250–256.

7. R 4.2.2643-10. Metody laboratornykh issledovaniy i ispytaniy dezinfekcionnykh sredstv dlya ocenki ikh ehffektivnosti i bezopasnosti [Methods of laboratory research and testing of disinfectants to assess their efficacy and safety]. Federal'nyj centr gigeny i ehpidemiologii Rospotrebnadzora. Moscow, 2010. 615 p.

8. Krejngol'd S.U. Prakticheskoe rukovodstvo po khimicheskomu analizu dezinfekcionnykh preparatov [A practical Handbook for the chemical analysis of disinfection drugs]. M.: Ekspressprint, 2002. P. 156.

9. Krejngol'd S.U., Shestakov K.A. // Dezinfekcionnoe delo (Disinfection case). 2002. № 3. P. 46–47.

10. Krejngol'd S.U., Shestakov K.A. // Dezinfekcionnoe delo (Disinfection case). 1999. № 4. P. 22–24.

11. Krejngol'd S.U. // Dezinfekcionnoe delo (Disinfection case). 1999. № 1. P. 38–39.

12. Krejngol'd S.U. Prakticheskoe rukovodstvo po khimicheskomu analizu dezinfekcionnykh preparatov [A practical Handbook for the chemical analysis of disinfection drugs]. M.: CIORID Bior, 1998. P. 100–103.

13. Podolina E.A., Groshev E.N., Rudakov O.B. // Kondensirovannye sredy i mezhfaznye granicy (Condensed matter and interphase boundaries). 2011. V. 13. № 1. P. 72–79.