

Hollow Fiber Liquid Phase and Dispersive Microextraction of Parabens

U.U. Malytska, V.M. Levchyk, M.F. Zui*, V.N. Zaitsev

Taras Shevchenko National University of Kyiv, St. Volodymyrska, 64, 01601, Kyiv,

*e-mail: marynazui3@gmail.com

Received: August 04, 2014; Accepted: December 01, 2014

Hollow fiber liquid phase microextraction (HFLP ME) and dispersive microextraction (DME) are used for preconcentration and separation of methyl-, ethyl- and propyl-parabens from aqueous matrices for their determination by capillary gas chromatography (GC). Sample preparation conditions are investigated. It is shown that the best organic solvent for HFLP ME is toluene, for DME chloroform was used as extracting solvent and acetone as dispersive solvent. Optimized HFLP ME was carried out for 15–20 min in presence of 10–20% aqueous solution of NaCl at pH 4.0–6.0. For DME optimum volume of extracting solvent is 50–100 ml and volume of dispersive one is 300–800 ml. The pH range is slightly narrower (5.5–7.0) for DME than for HFLP ME. Other extraction parameters are the same. The comparison between HFLP ME and DME was carried out using limit of determination (LOD). It was shown that LODs of parabens using DME are lower than for HFLP ME. In particular, limits of detection of parabens are 0.30–0.32 mg/L and 0.12–0.15 mg/L using HFLP ME and DME, respectively. Some samples of pharmaceuticals and cosmetics were analyzed by GC/PID using developed method of dispersive microextraction with relative standard deviation from 1.6 to 14.1%.

Keywords: dispersive microextraction, hollow fiber liquid phase microextraction, gas chromatography, methylparaben, ethylparaben, propylparaben

Капілярна і дисперсійна мікроекстракція парабенів

Ю.Ю. Малицька, В.М. Левчик, М.Ф. Зуй*, В.Н. Зайцев

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64, 01601, Київ,

*e-mail: marynazui3@gmail.com

Надійшла: 04 серпня 2014 р; Прийнята до друку: 01 грудня 2014 р

Показана можливість використання капілярної (КМЕ) та дисперсійної (ДМЕ) рідинної мікроекстракції для вилучення та концентрування метил-, етил- та пропілпарабенів з водних матриць з метою їх подальшого визначення методом капілярної газової хроматографії (ГХ). Оптимізовані умови пробопідготовки. Показано, що для КМЕ парабенів найкращим з вивчених акцепторних розчинників є толуол, тоді як для ДМЕ оптимальним є використання в якості екстракційного розчинника хлороформу і в якості диспергуючого – ацетону. Для КМЕ оптимальними є проведення екстракційного процесу з 10–20% водного розчину NaCl протягом 15–20 хв в інтервалі рН 4.0–6.0. Для ДМЕ оптимальний об'єм акцепторного розчинника становить 50–100 мкл, а диспергуючого – 300–800 мкл. Інтервал рН вилучення парабенів для ДМЕ дещо вузьчий (5.5–7.0) ніж для КМЕ, тоді як інші параметри співпадають. Проведено порівняння методу КМЕ та ДМЕ за межею визначення парабенів. Показано, що ДМЕ переважає за цим критерієм КМЕ. Зокрема, межі ГХ виявлення парабенів за 3s-критерієм становили 0.30–0.32 мг/дм³ та 0.12–0.15 мг/дм³ для КМЕ та ДМЕ відповідно. Проаналізовані деякі фармацевтичні препарати та косметичні засоби методом ГХ/ПІД після дисперсійної мікроекстракції парабенів. Відносне стандартне відхилення становило при цьому від 1.6 до 14.1%.

Ключові слова: дисперсійна мікроекстракція, капілярна мікроекстракція, газова хроматографія, метилпарабен, етилпарабен, пропілпарабен

Парабени (ПБ), естери пара-гідроксибензойної кислоти (п-ГБК), широко використовують як консерванти для фармацевтичних препаратів, косметичних виробів, гігієнічних засобів щоденного догляду, харчових продуктів, засобів догляду за взуттям, промислових продуктів: олій, клеїв, тканинних матеріалів [1–3]. Парабени мають проти-грибкові та антимікробні властивості, попереджають

ріст і розмноження бактерій, плісняви та грибів [1–6]. Додавання їх в різну продукцію допомагає її збереженню тривалий час. Парабени не мають запаху, кольору та смаку, довгий час вважалися речовинами низької токсичності, що мають слабку подразнюючу дію, стабільні в широкому інтервалі рН (3–7), достатньо розчинні у воді для створення ефективної концентрації [6, 7]. Відомо,

що із збільшенням довжини алкильного радикалу естерної групи збільшується антимікробна активність парабенів [8, 9]. Однак при цьому розчинність етерів у воді зменшується. Тому, зазвичай, використовують комбінацію двох або більше парабенів, наприклад, метил- та пропілпарабенів. Найбільш поширеними в якості консервантів вважають метилпарабен (МП), етилпарабен (ЕП), пропілпарабен (ПП), бутилпарабен та їх натрієві солі [1, 2, 4, 8–11].

Останні дослідження довели, що парабени не є повністю безпечними. Вони накопичуються в живих організмах, виявляють естрогенну активність, можуть призводити до порушень ендокринної та репродуктивної систем, і навіть раку грудей [14–17]. Згідно з нормами Європейського союзу максимальний вміст естерів п-ГБК в косметичних засобах не повинен перевищувати 0.4%, якщо присутній один парабен, або 0.8% (в перерахунок на вільну кислоту), якщо присутні більше одного парабену [9, 11, 12]. В харчових продуктах гранично допустимі концентрації парабенів становлять від 0.05 до 0.2% [2, 4].

Популярність використання парабенів як консервантів в різноманітній продукції призводить до необхідності розробки нових високоефективних методик пробопідготовки та кількісного визначення парабенів [17]. Для детектування парабенів використовують газову хроматографію (ГХ) [9–27], високоефективну рідинну хроматографію [28, 29] та капілярний електрофорез [30–33]. Для підготовки рідких та твердих проб при визначенні парабенів застосовують рідинну [34, 35] та твердофазну екстракцію [36]. В останній час також почали застосовувати мікроекстракцію (МЕ) – новий сучасний швидкий та недорогий метод пробопідготовки для хроматографічного аналізу органічних сполук різних класів [37–41]. Рідинна мікроекстракція має ряд переваг перед класичною рідинною екстракцією, а саме: простота, експресність, екологічна безпечність (малі об'єми органічних розчинників), легкість відділення від матриці, малі об'єми зразку для аналізу, можливість автоматизації за рахунок поєднання з інструментальними методами [42].

Метою нашої роботи було дослідити можливість застосування та порівняти два типи рідинної мікроекстракції: дисперсійну та капілярну для вилучення та концентрування метил-, етил та пропілпарабенів з водних розчинів з подальшим їх визначенням газовою хроматографією з полуменево-іонізаційним детектуванням (ГХ/ПІД).

Методика експерименту

В роботі використовували метилпарабен, етилпарабен та пропілпарабен виробництва «Реахим», кваліфікації «хч».

Використовували наступні органічні розчинники: гексан, толуол, етилацетат, ацетон, ацетонітрил, метанол, хлороформ, дихлорметан,

тетрахлорметан кваліфікації «х.ч.». Інші реактиви, які використовували в роботі, мали кваліфікацію «х.ч.» та «ч.д.а.». Необхідне значення рН в водному розчині створювали 0.1 М НСІ та 0.001М КОН розчинами та ацетатними буферними розчинами з рН 3.0; 4.0; 5.0 та 6.0. Кислотність розчинів контролювали за допомогою рН-метра «рН–150 МИ» зі скляним електродом.

Аналіз проб проводили на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890N. Параметри газохроматографічного аналізу були наступними: капілярна колонка HP-5 довжиною 30 м, внутрішнім діаметром 0.32 мм, товщиною нерухомої фази 0.25 мкм. Швидкість потоку газу-носія – гелію – 2.5 см³/хв. Температура печі – 130 °С (2хв.), 130–230 °С (10 °С/хв.), 230 °С (2 хв.); температура випарника – 300 °С, режим без ділення потоку (Splitless). Детектор полуменево-іонізаційний, температура ПІД – 300 °С.

В роботі використовували гелій газоподібний (стиснений), чистоти 99.9995%, водень газоподібний технічний марки А, чистоти 99.99%, компресор повітря OMA OL 2/25 (Італія).

Мембранні поліпропіленові капіляри фірми „Membrana GmbH” (Вупперталь, Німеччина) мали такі характеристики: внутрішній діаметр – 1.175 мм; товщина стінок – 0.3 мм; розмір пор – 0.2 мкм.

Приготування розчинів. Стандартні розчини парабенів із концентрацією 1.0 г/дм³ готували розчиненням 10.0 мг наважки кожного парабену у 10 см³ метанолу. Розчини зберігали у холодильнику.

Стандартний розчин суміші парабенів (МП, ЕП, ПП) із концентрацією кожного парабену 100 мг/дм³ готували додаванням по 1 см³ вихідного розчину кожного парабену з концентрацією 1.0 г/дм³ та розведенням до 10 см³ дистильованою водою. Інші розчини суміші парабенів із концентраціями від 0.5 мг/дм³ до 10.0 мг/дм³ готували розбавленням вихідного розчину суміші парабенів. Розчин NaCl концентрації 25% готували розчиненням відповідної наважки солі у дистильованій воді. Ацетатний буферний розчин з рН 6.0 готували наступним чином: до 947.8 см³ 0.1 М розчину натрій ацетату додавали 52.2 см³ 0.1 М розчину оцтової кислоти і перемішували.

Підготовка капілярів для капілярної мікроекстракції (КМЕ). Для підготовки мембранного капіляру його різали на шматочки довжиною 32 мм та очищали в ацетоні при обробці ультразвуком впродовж 20 хв. Після чого капіляри висушували на повітрі та зберігали впродовж доби в темному сухому місці. Безпосередньо перед мікроекстракцією капіляр імпрегнували розчинником, для чого його занурювали на декілька секунд в органічний розчинник. Після чого капіляр запаювали з одного кінця, швидко заповнювали розчинником за допомогою мікродозатора, закріплювали капіляр у віалі з водним розчином парабенів та проводили мікроекстракцію.

Проведення капілярної мікроекстракції парабенів. У віалі на 10 см³ додавали водний розчин суміші парабенів певної концентрації, ацетатний буферний розчин з рН 6.0 та доводили до 10 см³ дистильованою водою. В попередньо підготовлений мембранний капіляр вводили 40 мкл органічного розчинника та закріплювали капіляр в віалі, що містила водний розчин парабенів. В віалу опускали магніт для перемішування розчину. Капілярну мікроекстракцію проводили впродовж 15 хв. Після екстракції екстракт парабенів швидко відбирали з капіляру мікрошприцем і інжектували 1.0 мкл у газовий хроматограф.

Проведення дисперсійної мікроекстракції (ДМЕ) парабенів. У віалі на 10 см³ додавали водні розчини суміші парабенів певної концентрації, 25% водний розчин натрій хлориду, ацетатний буферний розчин з рН 6.0, доводили водою до 10 см³ і перемішували. Потім додавали дисперсійну суміш органічних розчинників, яку готували у віалі на 2.0 см³. Розчини перемішували і залишали впродовж 10 хв. для завершення мікроекстракції, після чого проводили центрифугування 2 хв. З утвореної краплі органічного екстракту парабенів, що знаходилася на дні віалі, мікрошприцем відбирали 1.0 мкл проби та інжектували в газовий хроматограф.

Побудова градувального графіку для визначення парабенів після капілярної та дисперсійної мікроекстракції. Для побудови градувальних графіків парабенів готували серію водних розчинів суміші парабенів з концентраціями від 0.1 до 10.0 мг/дм³, додавали ацетатний буферний розчин з рН 6.0, 25% розчин NaCl, доводили до 10.0 см³ дистильованою водою і перемішували розчини. Проводили капілярну або дисперсійну мікроекстракцію парабенів за методиками, описаними вище. Після хроматографування будували градувальні графіки та розраховували рівняння градувальних графіків для визначення парабенів.

Аналіз реальних зразків. *Краплі для очей «Тауфон».* Аліквотну частину 2.5 см³ зразку розводили до 25.0 см³ дистильованою водою і перемішували. У віалі ємністю 10.0 см³ вносили по 1.0 см³ розведеного в 10 разів водного розчину зразка, додавали 1.0 см³ ацетатного буферного розчину з рН 6.0, 3.0 см³ 25% розчину NaCl і перемішували. До розчину додавали суміш 100 мкл дихлорометану та 500 мкл ацетону. Дисперсійну мікроекстракцію проводили за методикою, описаною вище. Після чого відбирали 1.0 мкл екстракту парабенів мікрошприцем і інжектували у хроматограф. Вміст парабенів в зразку визначали за градувальними графіками парабенів після ДМЕ.

Косметичне молочко для зняття макіяжу «Чиста лінія». Наважку 0.05 г зразку переносили у віалу ємністю 10.0 см³. Наважку розчиняли у

5.0 см³ суміші ацетон – вода (1:1) та обробляли ультразвуком впродовж 20 хв. Після чого розчин доводили деіонізованою водою до 10.0 см³ перемішували та фільтрували через мембранний фільтр Millipore (0.45 μm), після чого розбавляли ще у 10 разів. Далі відбирали по 1.0 мл аліквотної частини кінцевого розчину зразку, додавали 1.0 см³ ацетатного буферного розчину з рН 6.0, 3.0 см³ 25% розчину NaCl і перемішували. До розчину додавали суміш 100 мкл дихлорометану та 500 мкл ацетону. Дисперсійну мікроекстракцію проводили за методикою, описаною вище. Після чого відбирали 1.0 мкл екстракту парабенів мікрошприцем і інжектували у хроматограф. Вміст парабенів в зразку визначали за градувальними графіками парабенів після ДМЕ.

Седативний фармпрепарат «Алора» та сироп від кашлю «Стоптусин Фіто». Аліквотну частину зразку 1.0 см³ розводили до 25.0 см³ дистильованою водою, перемішували, розчин фільтрували через мембранний фільтр Millipore (0.45 μm). У мірні колби ємністю 25.0 см³ вносили по 2.5 см³ отриманого водного розчину зразка і доводили до 25.0 см³ дистильованою водою, розчин перемішували. В віалі на 10.0 см³ вносили по 1.0 см³ кінцевого розчину зразка, 1.0 см³ ацетатного буферного розчину з рН 6.0, 3.0 см³ 25% розчину NaCl і перемішували. До розчину додавали суміш 50 мкл хлороформу та 500 мкл ацетону. Дисперсійну мікроекстракцію проводили за методикою, описаною вище. Після чого відбирали 1.0 мкл екстракту парабенів мікрошприцем і інжектували у хроматограф. Вміст парабенів в зразку визначали за градувальними графіками парабенів після ДМЕ.

Результати та їх обговорення

Для виділення і концентрування суміші метил-, етил- та пропілпарабенів з водних розчинів були досліджені два методи двофазної рідинної мікроекстракції: капілярну та дисперсійну.

Капілярна МЕ базується на виділенні цільового компонента з водної фази (донора) в органічну фазу (акцептор), що знаходиться всередині полімерного мембранного капіляру. При КМЕ органічний розчинник імпрегнований в порах полімерного мембранного капіляра. При цьому водний розчин, що містить аналіт, контактує з органічним розчинником через пори мембрани. Масоперенос відбувається за рахунок пасивної дифузії аналіту від донора до акцептора. Для покращення екстракції використовують механічне перемішування водного розчину.

Одним з основних параметрів оптимізації капілярної мікроекстракції є природа органічного розчинника. При проведенні КМЕ парабенів були досліджені наступні органічні розчинники: толуол, гексан і етилацетат. Найвищі аналітичні сигнали парабенів були отримані при застосуванні толуолу (рис. 1), гексан екстрагує парабени набагато гірше.

Етилацетат взагалі не тримається в капілярі, а проходить крізь пори мембранної стінки, що унеможлиблює мікроекстракцію. Також толуол краще інших розчинників імпрегнується в пори мембрани, при цьому заповнюваність даним розчинником легко контролювати візуально, оскільки стінки капіляра стають прозорими при заповненні.

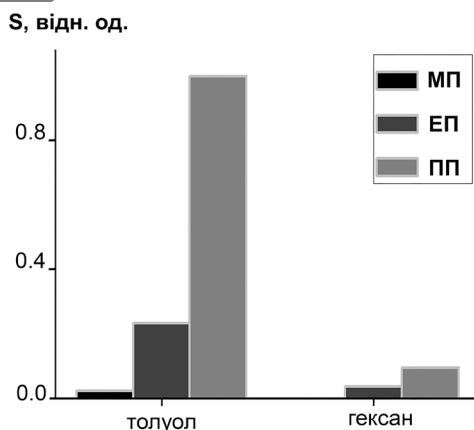


Рис. 1. Діаграма залежності площ піків парабенів від природи органічного розчинника. $C_{\text{пб}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

З рис. 1 видно, що більш ефективно вилучається в органічну фазу пропілпарабен, етилпарабен та метилпарабен екстрагуються гірше. Можливо, це пов'язано з різницею в полярності досліджуваних аналізів та їх величин логарифмів коефіцієнтів розподілу $\log P$ [2]. Менш полярний пропілпарабен є більш спорідненим до слабополярного толуолу порівняно з метил- та етилпарабенами. При екстракції неполярним гексаном низьке вилучення аналітів можна пояснити наявністю полярної $-\text{OH}$ групи в молекулі парабенів. Крім того, швидкість випаровування гексану з капіляра дуже висока, що призводить до невідтворюваних результатів.

Важливим параметром мікроекстракції є час вилучення цільових компонентів. Встановлено, що при КМЕ екстракційна рівновага в системі водний розчин парабенів – поліпропіленова мембрана – толуол встановлюється протягом 15–20 хв. (рис. 2).

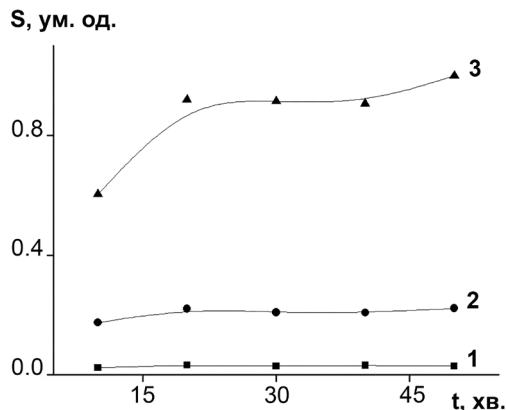


Рис. 2. Залежність аналітичного сигналу від часу мікроекстракції: 1 – МП, 2 – ЕП, 3 – ПП; $C_{\text{пб}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

При проведенні мікроекстракції більше 20 хв. толуол частково випаровується, що призводить до погіршення відтворюваності результатів. Тому для подальшого дослідження було обрано оптимальний час 15 хв.

Був вивчений вплив рН водного середовища на ефективність мікроекстракції парабенів (рис. 3). Оптимальним інтервалом рН мікроекстракції парабенів було обрано інтервал рН 4.0–6.0. Естери п-ГБК є слабкими кислотами з величинами pK_a 8.17; 8.22 та 8.35 для метил-, етил- та пропілпарабенів відповідно [37]. Зменшення екстракції парабенів в лужному середовищі (при $\text{pH} > 8$) можна пояснити їх дисоціацією (схема 1). В кислому середовищі (при $\text{pH} < 3$) можливий гідроліз парабенів, а в сильнокислому середовищі також може протонуватися кисень карбоксильної групи. Тому вилучення парабенів буде зменшуватися в сильнокислому та сильнолужному середовищі, що і було підтверджено експериментально.

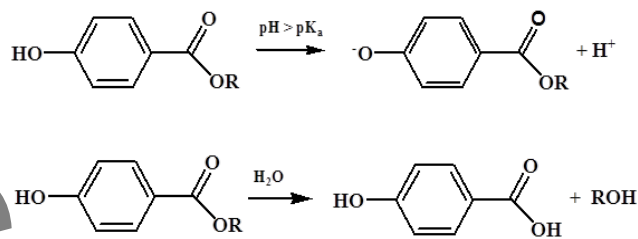


Схема 1. Реакції дисоціації та гідролізу парабенів.

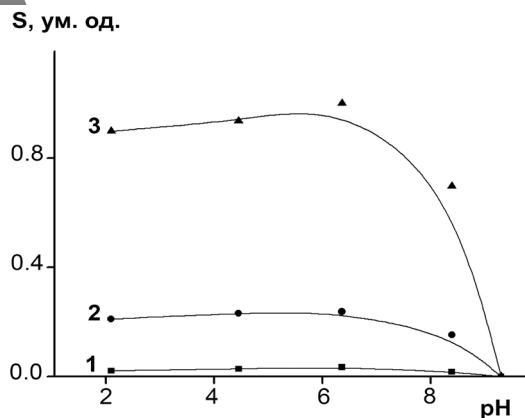


Рис. 3. Залежність аналітичного сигналу від рН водного розчину суміші парабенів: 1 – МП, 2 – ЕП, 3 – ПП, $C_{\text{пб}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

Загальновідомо, що додавання сильних електролітів покращує екстракцію полярних речовин, що пояснюють ефектом висолювання. Було досліджено вплив концентрації сильного електроліту NaCl на ефективність вилучення парабенів (рис. 4). Встановлено, що при збільшенні концентрації електроліту NaCl покращується вилучення парабенів з водних розчинів. Доведено, що при мікроекстракції найкраще вилучаються парабени в органічну фазу при вмісті NaCl 10–20%.

Таким чином, оптимальними умовами для

капілярної мікроекстракції парабенів з водних розчинів є наступні: час екстракції 15–20 хв., кислотність розчину в інтервалі pH 4.0–6.0, вмісті висолуючого реагенту (NaCl) – 10–20%, акцепторний розчинник – толуол.

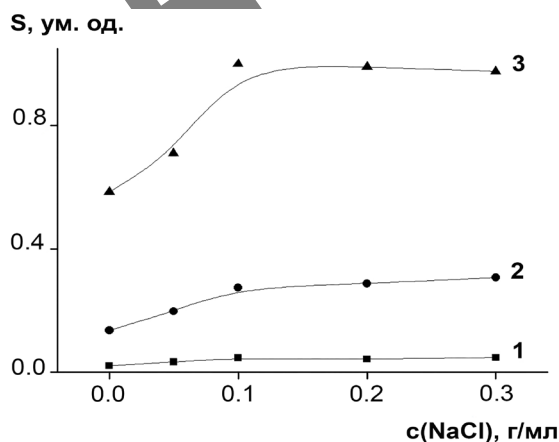


Рис. 4. Залежність аналітичного сигналу від вмісту NaCl: 1 – МП, 2 – ЕП, 3 – ПП, $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

Дисперсійна МЕ базується на введенні в водний розчин аналіту суміші дисперсійного (полярного) і екстракційного (неполярного) розчинників. При цьому в розчині утворюється стійка водна емульсія. За рахунок великої площі поверхні контакту між краплями екстракційного розчинника та водно-органічним розчином (вода – дисперсійний розчинник) вилучення компонентів в екстракційний розчинник проходить впродовж декількох хвилин. Для розділення фаз застосовують центрифугування, в результаті на дні віали утворюється краплина екстракційного розчинника (при його густині $> 1.0 \text{ г/см}^3$), збагачена цільовим компонентом, з якої відбирається аліквотна частина для інжектування в газовий хроматограф.

Оптимізацію умов проведення дисперсійної рідинної мікроекстракції метил-, етил- та пропілпарабенів з водного розчину починали з дослідження природи дисперсійного та екстракційного розчинників.

Були досліджені наступні екстракційні розчинники: хлороформ, дихлорметан, 1,2-дихлоретан та тетрахлорметан. Як видно з рис. 5, всі дані розчинники вилучають етери п-гідроксибензойної кислоти з водного розчину, при цьому більш ефективно – хлороформ та дихлорметан. Пропіл- та етилпарабени вилучаються краще метилпарабену, що можна пояснити їх слабкою полярністю порівняно з метилпарабеном. Таким чином, для подальшої роботи ми використовували як хлороформ, так і дихлорметан. Проте, хлороформ використовувати дещо краще, оскільки його кількість при мікроекстракції буде меншою порівняно з метилхлоридом з причини його меншої розчинності у воді (0.8 г/100 г води для CHCl_3 та 1.3 г/100 г води для CH_2Cl_2 [43]).

S, відн. од.

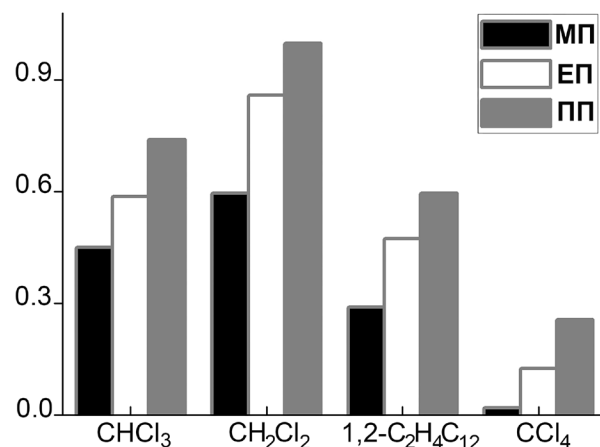


Рис. 5. Залежність площ піків S парабенів від природи екстракційного розчинника. $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

В якості дисперсійного розчинника були досліджені метанол, ацетон та ацетонітрил. Як видно з рис. 6, більш повне вилучення метил-, етил- та пропілпарабенів відбувається при застосуванні ацетону та ацетонітрилу. Можливо, це пов'язано з кращим диспергуванням хлороформу у водно-дисперсійному розчині в присутності даних розчинників. Для подальших досліджень нами був обраний ацетон, оскільки при використанні цього розчинника досягалася найбільша чутливість методу.

S, відн. од.

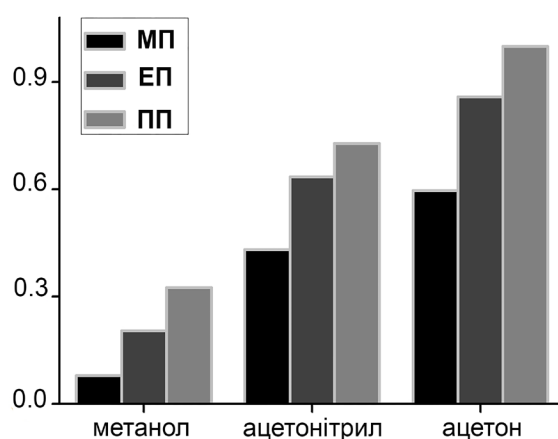


Рис. 6. Залежність площ піків S парабенів від природи дисперсійного розчинника. $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$.

Також був досліджений вплив об'ємів органічних розчинників на ефективність мікроекстракції. Була досліджена мікроекстракція парабенів при зміні об'ємів хлороформу від 50 до 100 мкл. Як видно з рис. 7, вилучення парабенів є максимальним і становить 50–60% при мінімальному об'ємі доданого хлороформу 50 мкл, але при цьому об'єм краплини екстракту становив не більше 25 мкл, що створювало незручності при відборі проби і призводило до невідтворюваності

отриманих результатів. Тому оптимальним об'ємом хлороформу був обраний 80 мкл, об'єм краплини екстракту становив при цьому 30–35 мкл.

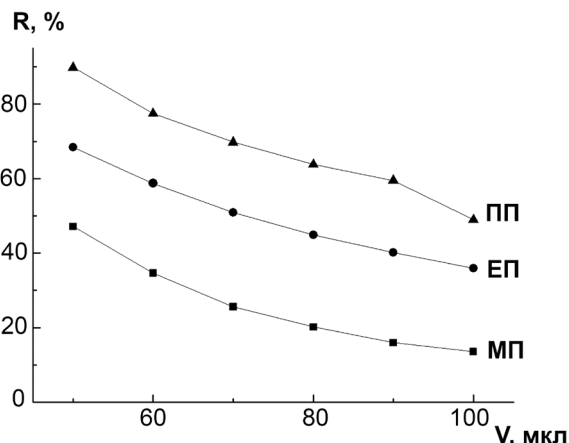


Рис. 7. Залежність ступеня вилучення парабенів від об'єму CHCl_3 . $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$; $V_{\text{вод}}$ (загальний об'єм водного розчину парабенів) $= 5.0 \text{ дм}^3$; pH 6.0.

Також був досліджений вплив кількості диспергуючого розчинника (ацетону) на повноту екстракції парабенів. Показано (рис. 8), що оптимальним є використання ацетону в об'ємі 300–800 мкл. Для подальшого дослідження було обрано 500 мкл, оскільки при додаванні його меншої кількості суміш може не диспергуватися повністю, а при більших об'ємах утворюється велика нестабільна крапля, яка може ділитися на декілька, що впливає на відтворюваність результатів. За вибраних умов ступені вилучення становили 58%, 75% та 98% для метил-, етил- та пропілпарабенів відповідно.

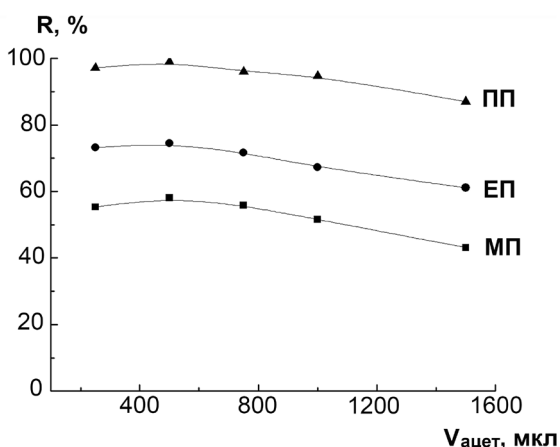


Рис. 8. Залежність ступеня вилучення парабенів від об'єму ацетону. $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$; $V_{\text{вод}} = 5.0 \text{ дм}^3$; pH 6.0.

Залежність площ хроматографічних піків цільових компонентів від часу мікроекстракції представлена на рис. 9.

Як видно з рисунку, екстракційна рівновага встановлюється швидко – впродовж 5–10 хв. При проведенні МЕ впродовж більшого часу

спостерігається поступове зменшення ступеня вилучення парабенів. У подальших дослідженнях дисперсійну мікроекстракцію проводили протягом 10 хв.

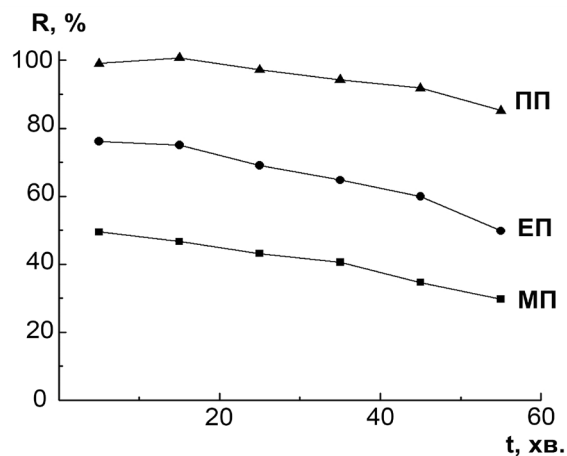


Рис. 9. Залежність ступеня вилучення парабенів від часу МЕ. $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$; $V_{\text{вод}} = 5.0 \text{ дм}^3$; pH 6.0.

В ході дослідження було також вивчено вплив вмісту NaCl та кислотності середовища на повноту вилучення парабенів. Дані рис. 10 свідчать, що естери п-гідроксибензойної кислоти найкраще екстрагуються хлороформом в інтервалі pH 5.5–7.0. Зменшення вилучення аналітів в кислому та лужному середовищі можна пояснити їх дисоціацією по гідроксильній групі (при pH > 8) та частковим гідролізом (при pH < 3).

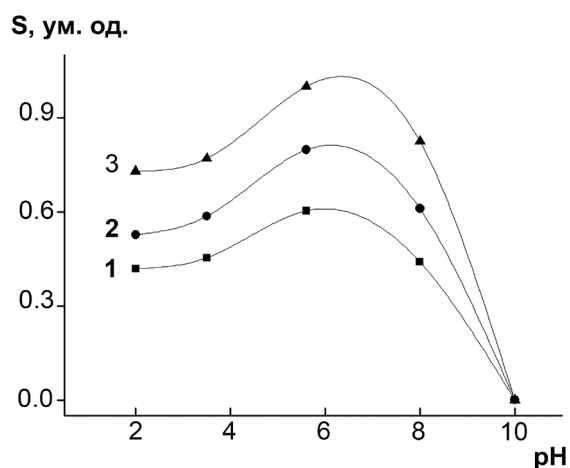


Рис. 10. Залежність ступеня вилучення парабенів від pH: 1 – МП, 2 – ЕП, 3 – ПП, $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$; $V_{\text{вод}} = 5.0 \text{ дм}^3$; pH 6.0.

Також показано (рис. 11), що мікроекстракція метил-, етил- та пропіл- парабенів покращується з підвищенням концентрацій NaCl в донорній фазі від 0 до 20%, що можна пояснити ефектом висолювання. В подальшій роботі при проведенні мікроекстракції аналітів використовували 10% та 20% розчини NaCl.

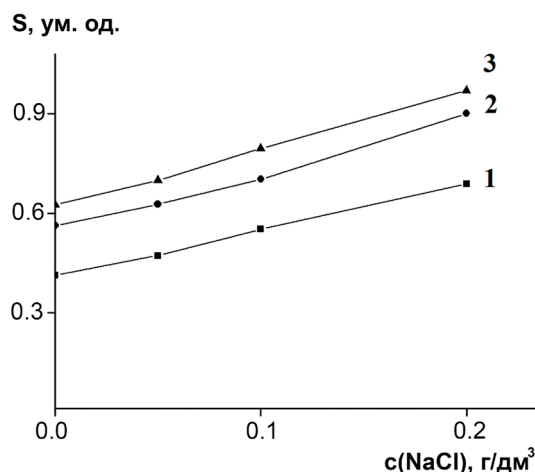


Рис. 11. Залежність аналітичного сигналу від концентрації NaCl: 1 – МП, 2 – ЕП, 3 – ПП, $C_{\text{ПБ}} = 5.0 \text{ мг/дм}^3$; $V_{\text{вод}} = 5.0 \text{ дм}^3$, pH 6.0.

В таблиці 1 наведені деякі кількісні характеристики капілярної та дисперсійної мікроекстракції

парабенів з водних розчинів. Як видно з наведених результатів, більш ефективною виявилася дисперсійна мікроекстракція, яка дозволила досягти менші межі виявлення парабенів через більші ступені їх вилучення. Тому метод дисперсійної МЕ був використаний для аналізу реальних зразків на вміст парабенів.

Результати визначення наведені в таблиці 2. Отримані результати свідчать про можливість використання дисперсійної мікроекстракції для вилучення та концентрування парабенів з водних матриць, відносно стандартне відхилення при цьому знаходиться в межах 1.5–14.1%.

За результатами аналізу вміст парабенів в визначуваних зразках знаходиться в межах норм, що регламентовані Управлінням по контролю якості харчових продуктів та ліків США (Food and Drug Administration. FDA). Науковим комітетом зі споживчих продуктів (Scientific Committee on Consumer Product. SCCP) та іншими міжнародними комітетами.

Таблиця 1. Кількісні характеристики капілярної та дисперсійної МЕ парабенів

Компонент	Капілярна МЕ			Дисперсійна МЕ		
	Інтервал концентрацій, мг/дм³	Межа виявлення за 3s-критерієм, мг/дм³	Ступінь вилучення R, %	Інтервал концентрацій, мг/дм³	Межа виявлення за 3s-критерієм, мг/дм³	Ступінь вилучення R, %
МП	10 – 10.0	0.32	10	0.5 – 5.0	0.15	58
ЕП	1.0 – 10.0	0.32	15	0.5 – 5.0	0.15	75
ПП	1.0 – 10.0	0.30	31	0.5 – 5.0	0.12	98

Таблиця 2. Результати ГХ/ПІД аналізу реальних зразків на вміст парабенів після дисперсійної МЕ (n=3, P=0.95)

Зразок	Компонент	C, мг/см³	S, %
Краплі для очей «Тауфон»	метилпарабен	1.0 ± 0.1	1.6
Засіб для зняття макіяжу «Чиста лінія»	метилпарабен	$2.5 \pm 0.2 \text{ мг/г}$	2.5
Сироп від кашлю «Стоптусин фіто»	пропілпарабен	0.20 ± 0.07	14.1
Седативний сироп «Алора»	метилпарабен	0.7 ± 0.1	5.8
	пропілпарабен	0.3 ± 0.1	13.4

Висновки

Показана можливість використання методів капілярної та дисперсійної мікроекстракції для попереднього вилучення та концентрування метил-, етил- та пропілпарабенів з водних матриць. Визначені оптимальні умови проведення капілярної та дисперсійної мікроекстракції. Показано, що метод дисперсійної мікроекстракції має переваги над методом капілярної мікроекстракції за простотою, експресністю, характеризується нижчими межами виявлення та вищими ступенями вилучення.

Метод дисперсійної мікроекстракції в поєднанні з ГХ/ПІД детектуванням був застосований для ГХ/ПІД аналізу фармацевтичних препаратів та косметичних виробів на вміст метил-, етил- та пропілпарабенів. Кращі результати застосування ДМЕ пов'язані з більшими ступенями вилучення парабенів, які для методу ДМЕ становили 58–98%, тоді як для КМЕ лише 10–31%.

Література

1. Cashman A. L., Warshaw E. M. Parabens: A Review of epidemiology, structure, allergenicity, and hormonal properties. *Dermatitis*. 2005, 16, 57-66.
2. Soni M.G., Carabin I.G., Burdock G.A. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and Chemical Toxicology*. 2005, 43, 985-1015.
3. Aalto T.R., Firman M.C., Rigler N.E. p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives, uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination. *Journal of the american pharmaceutical association*. 1953, XLII (8), 449-457.
4. Lokhnauth J.K., Snow N.N. Determination of parabens using solid phase micro-extraction-ion mobility spectrometry (SPME-IMS). *Anal. Chem.* 2005, 77(18), 5938-5946.
5. Oishi S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Arch Toxicol.* 2002, 76, 423-429.
6. Nguyen T., Clare B., Guo W., Martinac B. The effects of parabens on the mechano sensitive channels of *E. coli*. *European Biophysics Journal*. 2005, 34 (5), 389-395.
7. Byford J.R., Shaw L.E., Drew M.G.B., Pope G.S., Sauer M.J., Darbre P.D. Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2002, 80 (1), 49-60.
8. Soni M.G., Taylor S.L., Greenberg N.A., Burdock G.A. Evaluation of the health aspects of methylparaben: a review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology*. 2002, 40 (10), 1335-73.
9. Беликов О.Е., Пучкова Е.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. - М. Школа косметических химиков. 2003, 250 с.
10. Elder R. L. Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben and benzylparaben as used in cosmetic products. *Int J Toxicol.* 2008, 27(4), 1-82.
11. Council Directive 76/768/EEC of 27 July 1976 on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. (OJ L 262. 27.9.1976. p. 169).
12. European parliament and council directive. No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners (OJ No L 61. 18. 3. 1995. p. 1).
13. Reisch M.S., Keeping Well-Preserved. *Chem. Eng. News*. 2005, 83 (46), 25-27.
14. Легин Г.Я., Шехтман Н.М. Консервация косметических изделий и эффективные современные консерванты. М. 1983, вып. 3, 1-36.
15. Okubo T., Yokoyama Y., Kano K., Kano I. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ERα and PR. *Food and Chemical Toxicology*. 2001, 39, 1225-1232.
16. Darbre P. D., Aljarrah A., Miller W. R., Coldham N. G., Sauer M. J., Pope G. S. Concentrations of parabens in human breast tumours. *J. Appl. Toxicol.* 2004, 24, 5-13.
17. Delgado-Zamarren M.M., Gonzalez-Maza I., Sanchez-Perez A., Martinez R.C. Analysis of synthetic phenolic antioxidants in edible oils by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chemistry*. 2007, 100, 1722-1727.
18. Borremans M., Van Loco J., Roos P., Goeyens L. Validation of HPLC analysis of 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol, methyl, ethyl, propyl, butyl and benzyl 4-hydroxybenzoate (parabens) in cosmetic products, with emphasis on decision limit and detection capability. *Chromatographia*. 2004, 59, 47-53.
19. Lee M.-R., Lin Ch.-Y., Li Z.-G., Tsai T.-F. Simultaneous analysis of antioxidants and preservatives in cosmetics by supercritical fluid extraction combined with liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2006, 1120, 244-251.
20. Novakova L., Solich P., Matysova L., Šicha J. HPLC determination of estradiol, its degradation product, and preservatives in new topical formulation Estrogel HBF. *Anal Bioanal Chem*. 2004, 379, 781-787.
21. Zhang Q., Lian M., Liu L., Cui H. High-performance liquid chromatographic assay of parabens in wash-off cosmetic products and foods using chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*. 2005, 537, 31-39.
22. Ye X., Bishop A.M., Needham L.L., Calafat A. M. Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for measuring parabens, triclosan, and other environmental phenols in human milk. *Analytica chimica acta*. 2008, 622, 150-156.
23. Ye X., Bishop A.M., Needham L.L., Calafat A.M. Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method for measuring environmental phenols and parabens in serum. *Talanta*. 2008, 76, 865-871.
24. Panusa A., Gagliardi L. Counterfeit homeopathic medicinal products: Syrups. A simple and rapid LC-ESI-MS method to detect preservatives not declared in label. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008, 47, 786-789.
25. Saad B., Bari M.F., Saleh M.I., Ahmad K.M., Talib M.K. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 2005, 1073, 393-397.
26. Havlíková L., Matysov L., Novakov L., Solich P. HPLC determination of calcium pantothenate and two preservatives in topical cream. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006, 41, 671-675.
27. Solich P., Hajkova R., Pospisilova M., Šicha. Determination of methylparaben, propylparaben, clotrimazole and its degradation products in topical cream by RP-HPLC. *J. Chromatographia*. 2002, 55, 181-184.

28. Lin H.J., Wang M.L., Chen C.W., Hwang B.S., Lee M.H., Choong Y.M. A Gas chromatographic method for determination of nicotinamide, paraben esters and caffeine in commercial health drinks, tonic drinks and cold formulas. *J. Food Drug. Anal.* 2000, 8, 180–186.
29. Tsai T-F., Lee M-R. Determination of Anti-oxidants and Preservatives in Cosmetics by SPME combined with GC–MS. *Chromatographia.* 2008, 67, 425–431.
30. Guan Y., Chu Q., Fu L., Ye. Determination of antioxidants in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *J. Journal of Chromatography A.* 2005, 1074, 201–204.
31. Memon N., Bhanger M.I., Khuhawer M. Y. Determination of preservatives in cosmetics and food samples by micellar liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 635–638.
32. Jaworska M., Szulinska Z., Wilk M. Application of a capillary electrophoresis method for simultaneous determination of preservatives in pharmaceutical formulations. *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 137–143.
33. Liu H., Wen Y., Luan F., Gao Y. Analysis of Food Additives by Capillary Electrophoresis. *Acta Chromatogr.* 2008, 20, 239–246.
34. N. de Kruijf, Schouten A., Rijk M.A.H., Prano-to-Soetardhi A. Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification. *J. Chromatogr.* 1989, 469, 317–28.
35. Gagliardi L., Cavazzuti G., Turchetto L., Manna F., Tonelli D. Determination of preservatives in cosmetic products by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1990, 508, 252–58.
36. Maeda Y., Yamamoto M., Owada K., Sato S., Masui T., Nakazawa H., Fujita M.. High-performance liquid chromatographic determination of six p-hydroxybenzoic acid esters in cosmetics using Sep-Pak Florisil cartridges for sample pretreatment. *J. Chromatogr.* 1987, 410, 413–18.
37. Farajzadeh M.A., Djozan Dj., Bakhtiyari R.F. Use of a capillary tube for collecting an extraction solvent lighter than water after dispersive liquid-liquid microextraction and its application in the determination of parabens in different samples by gas chromatography–flame ionization detection. *Talanta.* 2010, 81, 1360–1367.
38. Prichodko A., Jonusaite K., Vickackait V. Hollow fibre liquid phase microextraction of parabens. *Central European Journal of Chemistry.* 2009, 7(3), 285–290.
39. Han Y., Jia X., Liu X., Duan T., Chen H. DLLME Combined with GC–MS for the determination of methylparaben, ethylparaben, propylparaben and butylparaben in beverage samples. *Cromatographia.* 2010, 72, 51–355.
40. Saraji M., Mirmahdieh S. Single-drop microextraction followed by in-syringe derivatization and GC-MS detection for the determination of parabens in water and cosmetic products. *J. Sep. Sci.* 200, 32, 988 – 995.
41. Yang P., Ren H., Qiu H., Liu X., Jiang S. Determination of four trace preservatives in street food by ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction. *Chemical Papers.* 2011, 6 (6), 747–753.
42. Крылов В.А., Крылов А.В., Мосягин П.В., Маткивская Ю.О. Жидкофазное микроэкстракционное концентрирование примесей. *ЖАХ.* 2011, 66 (4), 341–360.
43. http://www.trimen.pl/witek/ciecze/old_liquids.html