



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110887** (13) **C2**
(51) МПК**G01N 1/40** (2006.01)**G01N 30/06** (2006.01)**B01D 11/04** (2006.01)**C07C 49/786** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД****(21)** Номер заявки: **а 2014 11578****(22)** Дата подання заявки: **24.10.2014****(24)** Дата, з якої є чинними
права на винахід: **25.02.2016****(41)** Публікація відомостей
про заявку: **10.04.2015, Бюл.№ 7****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.02.2016, Бюл.№ 4****(72)** Винахідник(и):**Зуй Марина Федорівна (UA),
Левчик Валентина Михайлівна (UA),
Якимчук Марина Віталіївна (UA)****(73)** Власник(и):**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА
ШЕВЧЕНКА,**вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01601,
Україна (UA)**(56)** Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

KR 20050095047 A, 29.09.2005

CN 102818874 A, 12.12.2012

CN 103472181 A, 25.12.2013

Levchik V. Dispersive microextraction for the
GC Analysis of some endocrine disruptors / V.
Levchik, T. Fomenko, M. Zui, V. Zaitsev //
Medical Data. - 2003. - Vol.5. - N.1. - P.15-18Левчик В. Капілярна рідинна
мікроекстракція для концентрування
бензофенону / В. Левчик, М. Зуй // Хімія. -
2013. - Т. 49. - №1. - С. 43-45**(54) СПОСІБ МІКРОЕКСТРАКЦІЙНОГО КОНЦЕНТРУВАННЯ БЕНЗОФЕНОНІВ****(57)** Реферат:

Винахід належить до аналітичної хімії і може бути використаний для вилучення бензофенонів з метою подальшого їх визначення методом газової хроматографії. Спосіб мікроекстракційного концентрування бензофенонів проводять сумішшю метанолу з тетрахлорметаном в об'ємному співвідношенні 16:1 з водно-ацетонітрильного розчину, що містить 15-25 об. % ацетонітрилу, одночасно з проведенням дериватизації оцтовим ангідридом при рН 10,5-12,0 та кімнатній температурі. Винахід забезпечує зменшення часу пробопідготовки у 2,5 разу.

UA 110887 C2

Запропонований спосіб мікроекстракційного концентрування бензофенонів належить до галузі аналітичної хімії, зокрема до екстракційних методів вилучення та концентрування органічних сполук, і може бути використаний для вилучення бензофенонів з метою їх подальшого визначення методом газової хроматографії у різних типах вод, фармацевтичних та косметичних засобах, біологічних рідинах.

Відомі способи концентрування бензофенонів методами рідинної [1] та твердофазної [2] мікроекстракції (МЕ) після їх дериватизації оцтовим ангідридом у поєднанні з газовою хроматографією (ГХ). Основними недоліками вказаних способів є висока вартість, пов'язана з використанням супутніх матеріалів, та довготривалість, що включає в себе як тривалість процесу концентрування та дериватизації, так і процесу підготовки допоміжних матеріалів.

Найбільш близьким до запропонованого способу є спосіб вилучення бензофенонів з водних розчинів у формі їх триметилсилілпохідних [3]. Спосіб полягає у дисперсійному мікроекстракційному вилученні 2,4-дигідроксибензофенону (БФ-1), 2-гідрокси-4-метоксibenзофенону (БФ-3), 4-гідроксибензофенону (БФ-2ОН) з водних розчинів з подальшим їх силануванням триметилсилілтрифлуорацетатом (ТМСФА). Основним недоліком вказаного способу є багатостадійність, довготривалість (50 хв), проведення процесу дериватизації при підвищеній температурі (75 °С), неможливість проведення дериватизації у водному розчині.

В основу винаходу поставлено задачу зменшити тривалість вилучення бензофенонів БФ-1, БФ-3 та БФ-2ОН за допомогою одночасного проведення їх дериватизації оцтовим ангідридом та дисперсійної рідинної мікроекстракції їх ацилпохідних з водних розчинів, при цьому проведення експерименту характеризується експресністю та простотою.

Поставлена задача вирішується тим, що мікроекстракційне вилучення бензофенонів (БФ) у формі ацилпохідних проводять з водних розчинів, які містять 15-25 % ацетонітрилу при рН 10,5-12,0 та кімнатній температурі з диспергуванням екстрагента шляхом попереднього змішування метанолу з тетрахлорметаном при об'ємному співвідношенні 16:1 та проводять визначення БФ газохроматографічним методом.

Вирішення поставленої задачі дало змогу отримати технічний результат, який полягає у можливості одночасного проведення дериватизації та мікроекстракції бензофенонів з водних розчинів при кімнатній температурі та зменшенні часу пробопідготовки бензофенонів перед газохроматографічним (ГХ) визначенням у 2,5 разу.

Застосування одночасного проведення ацилювання бензофенонів та дисперсійної рідинної мікроекстракції їх ацилпохідних у літературі невідомо, що дозволяє вважати запропонований спосіб таким, що відповідає критеріям "новизна" та "винахідницький рівень". Винахід ілюструється наступними прикладами, які не обмежують обсяг правової охорони.

Приклади 1-5

Встановлення оптимальної концентрації ацетонітрилу

У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, різний об'єм ацетонітрилу: 250, 500, 750, 1000, 1250 мкл, і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, 200 мкл оцтового ангідриду та дисперсійну суміш: 500 мкл дисперсійного розчинника - метанолу, 30 мкл екстракційного розчинника - тетрахлорметану, перемішують розчини. Дериватизація проходить при періодичному перемішуванні розчину впродовж 15 хв., після чого розчин центрифугують 5 хв. та відбирають 1 мкл з краплини екстракту для інжектування у газовий хроматограф. Ефективність вилучення визначають за значеннями площ піків бензофенонів. Як видно з результатів таблиці 1, найбільш повно дериватизація та вилучення БФ проходять при вмісті ацетонітрилу у водному розчині 20 %.

Таблиця 1

Значення площ піків бензофенонів залежно від концентрації ацетонітрилу

Приклад №	Концентрація ацетонітрилу, %	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
1	5,0	0,466	0,405	0,096
2	10,0	0,608	0,607	0,164
3	15,0	0,707	0,783	0,280
4	20,0	0,806	1,000	0,341
5	25,0	0,712	0,974	0,319

Приклади 6-12

Встановлення оптимальної концентрації дериватизуючого реагенту - оцтового ангідриду

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, різний об'єм оцтового ангідриду: 20, 50, 100, 120, 200, 250, 300 мкл, і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, та дисперсійну суміш: 500 мкл метанолу, 30 мкл тетраклорметану, перемішують розчини. Вилучення, дериватизацію та ГХ аналіз БФ проводять, як вказано в прикладах 1-5. Результати наведені в таблиці 2. Як видно з даних табл. 2, найбільші значення площ піків БФ отримані при додаванні 200 мкл оцтового ангідриду (0,4 ммоль/л).

Таблиця 2

Значення площ піків бензофенонів залежно від концентрації оцтового ангідриду

Приклад №	Концентрація оцтового ангідриду, ммоль/л	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
6	0,04	0,415	0,341	0,118
7	0,1	0,576	0,554	0,173
8	0,2	0,667	0,693	0,229
9	0,3	0,737	0,952	0,243
10	0,4	0,806	1,000	0,341
11	0,5	0,684	0,825	0,339
12	0,6	0,644	0,781	0,338

Приклади 13-16

- Вибір оптимального рН розчину

- В стакани ємністю 20,0 мл вводять всі розчини, як описано в прикладі 1, крім розчинів гідроксиду натрію, 0,1 М та 5,0 М, які додають в кількості, необхідній для отримання рН розчину 9,0; 10,0; 11,0; 12,0. Після чого додають 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду, доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, та дисперсійну суміш: 500 мкл метанолу, 30 мкл тетраклорметану, перемішують розчини. Вилучення, дериватизацію та ГХ аналіз БФ проводять, як вказано в прикладах 1-5. Результати наведені в таблиці 3. Як видно з даних табл. 3, найвищі аналітичні відгуки для бензофенонів спостерігаються в діапазоні рН в інтервалі від 10,5 до 12,0.

Таблиця 3

Значення площ піків бензофенонів залежно від рН розчину

Приклад №	Кислотність розчину, рН	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
13	9,0	0,624	0,705	0,320
14	10,5	0,824	0,931	0,331
15	11,0	0,846	1,000	0,337
16	12,0	0,833	0,984	0,306
17	12,5	0,650	0,721	0,332

Приклади 18-24

Вибір часу для проведення дериватизації

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, вводять дисперсійну суміш: 500 мкл метанолу, 30 мкл тетраклорметану, перемішують розчини. Дериватизацію БФ проводять при періодичному перемішуванні водно-ацетонітрильних розчинів впродовж 5, 10, 20, 30, 40, 50 хв. Після чого проводять ГХ аналіз БФ. Результати ГХ визначення наведені в таблиці 4. Як видно з даних табл. 4, оптимальним часом проведення дериватизації і екстракції є 15 хв.

Таблиця 4

Значення площ піків бензофенонів залежно від часу

Приклад №	Час перемішування, хв.	Площа піків, відн.од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
18	5,0	0,731	0,876	0,274
19	10,0	0,791	0,932	0,301
20	15,0	0,833	1,000	0,337
21	20,0	0,830	0,930	0,335
22	30,0	0,709	0,800	0,325
23	40,0	0,590	0,557	0,174
24	50,0	0,466	0,427	0,152

Приклади 25-29

Вибір температури для проведення дериватизації

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, вводять дисперсійну суміш: 500 мкл метанолу, 30 мкл тетрахлорметану, перемішують розчини. Дериватизацію проводять при періодичному перемішуванні 15 хв. при різній температурі: 10, 20, 30, 40, 50 °С. Після чого проводять ГХ аналіз БФ. Результати ГХ визначення наведені в таблиці 5. Як видно з даних табл. 5, оптимальною температурою для проведення дериватизації і мікроекстракції БФ є 20 °С.

Таблиця 5

Значення площ піків бензофенонів залежно від температури

Приклад №	Температура, °С	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
25	10,0	0,767	0,863	0,527
26	20,0	0,894	1,000	0,622
27	30,0	0,882	0,953	0,335
28	40,0	0,482	0,502	0,202
29	50,0	0,400	0,405	0,189

Приклади 30-32

- Вибір природи екстракційного розчинника

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, вводять дисперсійну суміш: 1000 мкл метанолу, 100 мкл хлороформу або метиленхлориду або тетрахлорметану. Дериватизацію проводять при періодичному перемішуванні 15 хв. при температурі 20 °С. Після чого проводять ГХ аналіз БФ. Результати ГХ визначення наведені в таблиці 6. Як видно з даних табл. 6, найбільші значення площ піків були отримані при використанні тетрахлорметану.

Таблиця 6

Значення площ піків бензофенонів залежно від природи екстракційного розчинника

Приклад №	Назва дисперсійної суміші	Площа піків, відн.од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
30	хлороформ	0,554	0,707	0,689
31	диметилхлорид	0,349	0,488	0,638
32	тетрахлорметан	0,893	1,000	0,697

25

Приклади 33-35

Вибір природи дисперсійного розчинника

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, вводять дисперсійну суміш: 30 мкл тетрахлорметану, 1000 мкл метанолу або ацетонітрилу або ацетону. Дериватизацію проводять при періодичному перемішуванні 15 хв. при температурі 20 °С. Після чого проводять ГХ аналіз БФ. Результати ГХ визначення наведені в таблиці 7. Як видно з даних табл. 7, найбільші значення площ піків були отримані при використанні метанолу.

Таблиця 7

Значення площ піків бензофенонів залежно від природи дисперсійного розчинника

Приклад №	Назва дисперсійного розчинника	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
33	метанол	0,887	1,000	0,617
34	ацетонітрил	0,278	0,401	0,488
35	ацетон	0,552	0,552	0,435

Приклади 36-39

- Встановлення співвідношення об'ємів диспергуючого та екстракційного розчинників

- У віали ємністю 20,0 мл вводять 0,1 мл водного розчину суміші БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з концентрацією кожного 10 мг/мл, 0,5 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію, 1000 мкл ацетонітрилу, 200 мкл оцтового ангідриду і доводять дистильованою водою до загального об'єму 5 мл, вводять дисперсійну суміш: 30 мкл тетрахлорметану та різні об'єми метанолу: 240, 480, 750, 900 мкл. Дериватизацію проводять при періодичному перемішуванні 15 хв. при температурі 20 °С. Після чого проводять ГХ аналіз БФ. Результати ГХ визначення наведені в таблиці 8. Як видно з даних табл. 8, найбільші значення площ піків були отримані при співвідношенні об'ємів метанол:тетрахлорметан 16:1.

Таблиця 8

Значення площ піків бензофенонів для різних співвідношень об'ємів метанолу та тетрахлорметану

Приклад №	Співвідношення об'ємів метанол:тетрахлорметан	Площа піків, відн. од.		
		БФ-2ОН	БФ-3	БФ-1
36	8:1	0,853	0,837	0,293
37	16:1	0,887	1,000	0,617
38	25:1	0,876	0,992	0,574
39	30:1	0,841	0,970	0,562

- Використання способу, що заявляється, дає можливість досягти заявленого технічного результату за рахунок вилучення та концентрування БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 з водних розчинів у формі їх ацилпохідних, використовуючи одночасне проведення дериватизації бензофенонів оцтовим ангідридом (0,4 ммоль/л) та дисперсійної рідинної мікроекстракції дисперсійною сумішшю - метанол - тетрахлорметан (16:1) їх ацилпохідних. Це дозволяє проводити дериватизацію та дисперсійну мікроекстракцію з водних розчинів, які містять 15-25 % ацетонітрилу, при рН 10,5-12,0 та кімнатній температурі, скоротити час пробопідготовки у 2,5 рази.

- Таким чином, запропонований спосіб може бути використаний для ефективного концентрування та вилучення БФ-2ОН, БФ-1, БФ-3 за допомогою одночасного проведення ацилювання та дисперсійної рідинної мікроекстракції їх ацилпохідних з водних розчинів з метою подальшого ГХ визначення.

Джерела інформації:

1. Ito R., Kawaguchi M., Koganel Y., Hond II., Okanouchi N., Sakui N., Saito K., Nakazawa H. Development of Miniaturized Hollow-fiber Assisted Liquid-phase Microextraction with in situ Acyl

Derivatization Followed by GC-MS for the Determination of Benzophenones in Human Urine Samples. // Analytical Sciences. August. - 2009. - Vol. 25, № 8. - P. 1033

2. Kawaguchia M., Ito R., Hondaa, Naoyuki Endoa, Okanouchia N., Saitoa H.K., Setob Y., NakazawaH. Simultaneous analysis of benzophenone sunscreen compounds in water sample by stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. // J. Chromatogr. A. - 2008. - Vol. 1200. - P. 260-263.

3. Tarazona I., Chisvert A., Leon Z., Salvador A. Determination of hydroxylated benzophenone UV filters in sea water samples by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. // Journal of Chromatography A. 2010. Vol.1217. P. 4771-4778.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб мікроекстракційного концентрування бензофенонів, який **відрізняється** тим, що дисперсійну рідину мікроекстракцію проводять сумішшю метанолу з тетрахлорметаном при об'ємному співвідношенні 16:1 з водно-ацетонітрильного розчину, що містить 15-25 об. % ацетонітрилу, одночасно з проведенням дериватизації оцтовим ангідридом при рН 10,5-12,0 та кімнатній температурі.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601