

*О. М. Щербина, канд. фарм. наук, доцент
(Львівський державний університет безпеки життєдіяльності)*

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО ВИЯВЛЕННЯ І КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛЕТКИХ ГОРЮЧИХ І ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН В ПОВІТРІ ТА БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ОРГАНІЗМУ

Запропоновано методики ізолювання, очистки та якісного і кількісного визначення фенолу в повітрі і біологічних рідинах організму. Ізолювання проводили методом перегонки з водяною паром, очистку – екстракцією хлороформом, а ідентифікацію – якісними реакціями, методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту та методом рідинної хроматографії. Кількісне визначення фенолу проводили методом рідинної хроматографії в обернено-фазовому варіанті (хроматограф «Цвет-304» з ультрафіолетовим детектором). Розрахунок кількісного вмісту фенолу здійснювали методом абсолютної калібровки. В результаті проведених досліджень встановлено, що використовуючи метод молекулярної рідинної хроматографії можна визначити 17-20 % фенолу, виділеного з сечі, і 21-24%, виділеного з повітря. Час утримування фенолу – 1хв 14с, результати аналізу добре відтворювані. Опрацьовані методики мають велику роздільну здатність, високу чутливість і швидкість проведення аналізу.

Ключові слова: фенол, якісний і кількісний аналіз, повітря, біологічні рідини організму, якісні реакції, хроматографія в тонкому шарі сорбенту, рідинна хроматографія.

O. Scherbina

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE DETECTION AND QUANTIFICATION OF VOLATILE FLAMMABLE AND TOXIC SUBSTANCES IN THE AIR AND BIOLOGICAL FLUIDS OF THE ORGANISM

The methods of isolation, purification and qualitative and quantitative determination of phenol in air and biological fluids of an organism are offered. Isolation was carried out by distillation with water vapor, purification by extraction with chloroform, and identification by qualitative reactions, by chromatography in a thin layer of sorbent and by liquid chromatography. The quantitative determination of phenol was carried out by liquid chromatography in a reverse phase (chromatograph "Tsvet-304" with an ultraviolet detector). Calculation of the quantitative content of phenol was carried out by the method of absolute calibration. As a result of the research, it was found that by using the molecular liquid chromatography method, it is possible to determine 17-20% of phenol isolated from urine and 21-24% isolated from the air. The retention time of phenol 1h.14s, the results of the analysis are well reproducible. The worked out techniques have high resolution, high sensitivity and speed of analysis.

Key words: phenol, qualitative and quantitative analysis, air, biological fluids of the organism, chromatography in a thin layer of sorbent, liquid chromatography.

Постановка проблеми. Практично кожна людина щоденно підпадає під дію летких отрут, які в більшості випадків є пожежонебезпечними. Наслідки від пожеж оцінюють різними видами збитків. Проте найвідчутнішими є соціальні наслідки, які пов'язані із загибеллю і травмуванням людей, погіршенням їх фізичного і психічного стану, зростанням захворюваності. Леткі органічні сполуки переходять в газову фазу із аерозольних пропелентів, лакових і фарбових покриттів, очисників тощо. Забруднення атмосфери відбувається при виробництві, обробці, зберіганні і транспортуванні летких органічних речовин. Вітер розносить їх по всьому атмосферному шару Землі. Леткі речовини, які концентруються на поверхні води, легко випаровуються, усі вони можуть проявляти токсичні властивості, багато з них є канцерогенами. До групи летких отрут і пожежонебезпечних речовин відноситься фенол і його аналоги. Згідно з даними [1], під час горіння і термічного розкладу деревини утворюється фенол, чадний газ, формальдегід і ряд інших хімічних сполук, які знаходяться у вигляді пари, газу, пилу, туману. Особливо на внутрішніх пожежах, що протікають при нестачі повітря, відбувається неповне згоряння органічних сполук з утворенням різноманітних токсичних для організму людини речовин. Затверджені «Рекомендації щодо гасіння пожеж підрозділами МНС на промислових об'єктах підвищеної небезпеки з наявністю небезпечних хімічних речовин» від 22.09.2011 р. №1017.

Згідно з класифікацією небезпечних хімічних речовин (НХР), фенол за ступенем токсичності відноситься до сильно токсичних, а за здатністю до горіння – до горючих речовин, тобто легко займається від джерела запалювання та продовжує самостійно горіти після його вилучення. Посудини з фенолом можуть вибухати від нагрівання. При горінні і сильному нагріванні можуть утворюватись токсичні і займісті гази [2]. Основними складовими частинами фенолу є хімічні елементи Карбон, Гідроген і Оксиген. На внутрішніх пожежах ці елементи в органічних речовинах здатні утворювати продукти неповного згоряння, серед яких особливо небезпечним є карбон (II) оксид (СО). Небезпека отруєння токсичними газами підтверджується статистичними даними про причини загибелі людей на пожежах. Тільки 18% потерпілих на пожежі вмирають від опіків, а близько 80% – внаслідок отруєння токсичними газами. Наприклад, в продуктах горіння полімерів можна виявити більше 140 речовин, тобто отруєння людей відбуваються при комбінованій дії багатьох летких отрут [1]. Це дуже ускладнює судово-хімічну експертизу біологічного матеріалу загиблих, а також хіміко-токсикологічний аналіз. Тому необхідно мати доступні методики для виявлення і кількісного визначення кожної отрути зокрема.

Під час пожеж на об'єктах використання, виробництва, переробки та зберігання фенолу можуть виникати складні обставини з утворенням зон хімічного забруднення, при яких можливе скупчення його в низьких місцях, хімічне розкладання, утворення вибухонебезпечних сумішей, поширення на великі площі. Під час пожежі може відбуватися факельне горіння парів фенолу, вибухи пароповітряних сумішей, при цьому може утворюватись зона загазованості та хімічного забруднення території. Проведений аналіз статистичних даних про пожежі на території Львівської області за 2012-2016 роки свідчить, що загальні збитки лише у Львівській області становлять 0,015 % валового внутрішнього продукту України [3].

Фенол C_6H_5OH (синоніми: карболова кислота, гідроксибензен, оксибензол, бензенол) – легкоплавка тверда речовина, безбарвна або від світлого до темно-коричневого кольору, має характерний запах ароматичних речовин. Кристали фенолу леткі, на повітрі розпливаються, пара важча за повітря, збирається в низинах, тунелях, забруднює водойми [4].

Основні характеристики фенолу: температура плавлення $42,3\text{ }^{\circ}C$, температура кипіння $182,0\text{ }^{\circ}C$, температура замерзання не нижче $39,5\text{ }^{\circ}C$, температура спалахування в закритому тиглі $79\text{ }^{\circ}C$, у відкритому $85\text{ }^{\circ}C$, температура самозаймання $595\text{ }^{\circ}C$, концентраційні межі поширення полум'я $1,5-8,8\text{ \%}$ (об.), температурні межі поширення полум'я $48-83\text{ }^{\circ}C$, теплота згоряння мінус $2992,3\text{ кДж /моль}$, клас безпеки у повітрі робочої зони – 2 [4]. Розчиняється у воді (1:15), добре – в хлороформі, етиловому етері і маслах. На повітрі червоніє внаслідок окиснення. При додаванні невеликої кількості води до кристалічного фенолу він переходить в рідину. Коли кількість води перевищує в 11,3 рази, утворюється однорідна фаза, а при температурі понад $65\text{ }^{\circ}C$ змішується з водою у будь-яких співвідношеннях [5].

Головним джерелом добування фенолу є кам'яновугільна смола, в якій крім фенолу містяться ксилоли, толуен, бензен, поліциклічні ацени, гетероциклічні сполуки (до 400 компонентів). Синтетичний фенол в промисловості добувають з бензену. Близько 37 % усього фенолу використовується для виробництва полікарбонатних пластмас та епоксидних смол. Іншим напрямком у застосуванні фенолу є виробництво фенолформальдегідних смол, аніліну, капролактаму, саліцилової кислоти. Багато з цих сполук є отрутами і надзвичайно горючими. Широке застосування фенолу в промисловості, попадання в повітря при недостатній вентиляції приміщень, призводить до промислових отруєнь [6].

Згідно з санітарно-гігієнічними нормами, вміст фенолу у воді не повинен перевищувати $0,001\text{ мг/дм}^3$, ГДК в житловій зоні – $0,03\text{ мг/м}^3$, а в повітрі робочої зони – $0,3\text{ мг/м}^3$. Фенол проявляє властивості протоплазматичної отрути і є небезпечним для будь-яких тканин в організмі. Оскільки він має анестетичну дію, то при його контакті зі шкірою не відчувається болю, але біль з'являється згодом, супроводжуючись появою опіків. При всмоктуванні крізь шкіру відбувається ураження ЦНС і кровоносних судин. Пари фенолу подразнюють очі та дихальні шляхи [7]. Фенол проявляє антисептичні властивості і використовується як дезинфі-

куючий засіб. Так, 3-5% розчин фенолу застосовується для дезінфекції лікарських інструментів, білизни та предметів домашнього вжитку. Знаходячись в складі препаратів побутової хімії, завдяки легкій доступності, він є загрозою і для дітей [5,8].

При попаданні всередину організму фенол швидко всмоктується, отруєння ним відбувається бурхливо. Спостерігається печія, біль в шлунку і кишківнику, блювота, діарея, відчувається запах фенолу з рота. Сеча отруєного фенолом має чорно-оливковий колір. Відмічається синюшність шкіряних покривів і слизових оболонок, сплутана свідомість, бурий колір крові і сечі, яка швидко темніє на повітрі, знижений артеріальний тиск, руйнуються нирки і головний мозок. Смертельна доза фенолу при прийомі всередину – 8-15 грам. Зберігають за списком Б в темряві (на світлі поступово утворюються дифеноли та хінон) [5].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Феноли за хімічними властивостями сильно відрізняються від спиртів, не дивлячись на наявність однакової функціональної групи. Більш сильні кислотні властивості фенолів, порівняно зі спиртами, проявляються в тому, що вони реагують не тільки з лужними металами, але і з лугами, утворюючи феноляти. При взаємодії фенолу з ферум (III) хлоридом утворюється синє забарвлення, яке зникає при надлишку кислот, етилового спирту і води [5]. При окисненні фенолу натрій гіпохлоритом в присутності аніліну утворюється синє забарвлення (індофенолова реакція), з безальдегідом в кислому середовищі – темно-червоне забарвлення, в лужному – синьо-фіолетове. Фенол дуже легко окиснюється, навіть при перебуванні на повітрі, набуваючи при цьому слабого червоно-рожевого забарвлення. Характерною реакцією на феноли є реакція Лібермана, яка полягає у взаємодії фенолу з розчином калій нітрату в концентрованій сульфатній кислоті. Після добування луку або амоніаку виникає зелене або синє забарвлення [9].

Описана методика кількісного визначення, яка полягає у бромованні фенолу розчином калій бромату за наявності калій броміду та сульфатної кислоти. При цьому виділяється вільний бром, який бромує фенол до трибромфенолу (білий осад). Надлишок броду визначають йодометрично, добуваючи хлороформ і калій йодид та титрують йод, що виділився, розчином натрій тіосульфату в присутності крохмалю [5]. Ця реакція використовується також в якісному аналізі.

Як видно з проведеного аналізу останніх досліджень, багато питань, що стосуються аналізу фенолу, залишаються ще мало вивченими. Крім обмеженої кількості робіт, основним питанням є відсутність комплексного підходу до розробки одночасно методики як якісного, так і кількісного аналізу фенолу не тільки в розчинах, а і в біологічних рідинах організму і в повітрі.

Метою роботи є розробка методик якісного і кількісного аналізу фенолу в повітрі і виділеного із біологічних рідин організму (сечі) з використанням сучасних високочутливих методів аналізу (хроматографії в тонкому шарі сорбенту і рідинної хроматографії).

Виклад основного матеріалу. *Виявлення фенолу в повітрі.* Для забору повітря використовували аспіратор з'єднаний з трубкою, наповненою ватою (0,5 г). Крізь трубку пропускали 20 дм³ (1 дм³/хв) досліджуваного повітря, що містило фенол. Вату виймали і тричі промивали хлороформом по 5 мл. Хлороформні витяжки об'єднували і випарювали до об'єму 10 мл. Отриманий розчин використовували для виявлення фенолу методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту і методом рідинної хроматографії.

Виділення фенолу з сечі. Традиційно для ізолювання летких речовин використовують різні типи перегонки (дистиляції). Перегонка з водяним паром застосовується для ізолювання летких речовин, які легко розкладаються при температурах нижчих за температуру їх кипіння. Цей метод використовується в хіміко-токсикологічному аналізі для ізолювання речовин різних класів: спиртів аліфатичного ряду, альдегідів, кетонів, карбонових кислот, бензену, галогенопохідних вуглеводнів тощо [9].

В колбу апарата для перегонки речовин з водяною паром вносять 100 мл сечі, що містить фенол, і підкиснюють оцтовою кислотою до рН 2-3. Колбу ставлять в водяну баню, з'єднують з холодильником і пароутворювачем. Водяну баню і пароутворювач нагрівають, дистилят збирають в колбу. Перші 3 мл дистиляту відкидають, а наступні 20 мл нейтралізують натрій гідрокарбонатом до лужної реакції. Одержаний розчин 2 рази екстрагують хлороформом по 15 мл. Хло-

роформні витяжки об'єднують і випарюють насухо. Сухий залишок розчиняють в 20 мл води при нагріванні і використовують для виявлення і кількісного визначення фенолу.

Ідентифікація фенолу, виділеного з сечі. Якісний аналіз фенолу в дистилаті проводять використовуючи реакції, описані в літературі [5,9]. Це реакції: з бромною водою (жовтувато-білий осад, реакція високочутлива), індофенольна реакція (синє або фіолетово-синє забарвлення, яке зникає при додаванні води, спирту і кислот), з бензальдегідом (темно-червоне забарвлення в кислому середовищі), реакція Лібермана (синє забарвлення, яке може переходити в червоне, а потім в зелене).

В зв'язку з обмеженою специфічністю описаних реакцій забарвлення, заслуговують на увагу фізико-хімічні методи аналізу. До таких методів відносяться методи хроматографії, в тому числі хроматографія в тонкому шарі сорбенту. Тому для підтвердження присутності фенолу в дистилаті, одержаному з біологічних рідин і в повітрі, ми опрацювали методику хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Тонкошарова хроматографія (ТШХ) – найбільш доступний і дешевий метод якісного і кількісного аналізу низькомолекулярних органічних сполук і неорганічних сполук, який виконується на пластинках, покритих шаром сорбенту. Метод дуже чутливий і швидко виконується.

Для дослідження були використані готові пластинки Silufol (Швеція), для розвитку хроматограм – такі системи розчинників: хлороформ – н-бутанол – 25% амоніак (70:40:5) і ацетон – бензен – хлороформ – вода (15:15:70:2). На відстані 2 см від нижнього краю пластинки на лінію старту наносять по 0,02 мл (20 мкг) хлороформного розчину фенолу (розчин «свідка»), а поруч – витяжки з сечі і повітря. Після хроматографування пластинки підсушують і проявляють 10% розчином ферум(III) хлориду. При цьому плями на пластинках мають синє забарвлення. Одержані значення R_f наведені в таблиці.

Таблиця 1

Значення R_f фенолу в різних системах розчинників

Системи розчинників	Значення R_f для:		
	розчину «свідка»	дистилату	повітря
Хлороформ-н-бутанол-25% амоніак (70:40:5)	0,85-0,89	0,80-0,85	0,83 –0,86
Ацетон-бензен-хлороформ-вода (15:15:70:2)	0,41-0,44	0,37-0,40	0,39 –0,42

Аналізуючи дані, наведені в таблиці 1, можна зробити висновок, що обидві системи розчинників є придатними для виявлення фенолу, виділеного з сечі і повітря, оскільки значення R_f фенолу, виділеного з сечі і повітря, та чистого фенолу близькі, а також були не нижчими за 0,15 і не вищими за 0,90. Чутливість методу 5 мкг в 0,02 см³ розчину.

Кількісне визначення фенолу проводили методом рідинної хроматографії. Цей метод один з найбільш перспективних і досконалих фізико-хімічних методів аналізу. Він дає можливість здійснювати розділення складних сумішей, ідентифікувати і визначати малі кількості речовин. При цьому досліджувані речовини не змінюються в процесі аналізу, оскільки немає необхідності переводити їх в інші сполуки, як це часто буває в газовій хроматографії. Крім того, значно зменшується витрата реактивів у зв'язку з використанням малих кількостей аналізованих речовин.

Для виявлення і кількісного визначення фенолу, виділеного з сечі, ми застосували метод обернено-фазової рідинної хроматографії. В роботі був використаний рідинний хроматограф «Цвет - 304» з ультрафіолетовим детектором ($\lambda=254$ нм), колонка з нержавіючої сталі (10 x 0,4 см), сорбент – силікагель С-3 ($S = 260$ м²/г) з приєднаними н-алкільними ланцюгами С₁₆ (розмір частинок силікагелю 10 мкм), елюент – суміш ізопропілового спирту і води (35 : 65), до якої додають 0,25 % водний розчин амоніаку. Швидкість елюювання 1 см³/хв., тиск 40 атм, температура термостату 50 °С.

Розрахунок кількісного вмісту фенолу проводили за допомогою методу абсолютного калібрування. Для побудови калібрувального графіка був виготовлений розчин фенолу різних концентрацій у воді (при нагріванні). Калібрувальний графік показує залежність висоти піка від вмісту речовини в пробі. Для побудови графіка різні концентрації вихідного розчину фенолу вводять у хроматограф і записують хроматограми при визначених вище умовах. Відмічають час утримування, вимірюють висоти піків і будують калібрувальний графік. Далі в хроматограф вводять витяжки з сечі і повітря, записують хроматограми і одержані параметри утримування. Кількість фенолу розраховують за калібрувальним графіком.

В результаті проведених досліджень показано, що використовуючи метод молекулярної рідинної хроматографії, аналіз можна провести швидко і визначити 17-20 % фенолу, виділеного з сечі і 21-24%, виділеного з повітря. Час утримування фенолу – 1хв 14с. Результати аналізу добре відтворювані.

Отже, своєчасне виявлення фенолу під час пожеж є актуальною задачею пожежної безпеки та безпеки життєдіяльності. Опрацьовані методики виявлення і кількісного визначення токсичної і горючої речовини (фенолу) є чутливими, достовірними і доступними.

Правила роботи і засоби пожежогашіння: при контакті з фенолом необхідно одягати окуляри і рукавиці. При попаданні на шкіру ретельно промити уражене місце водою, а потім етиленгліколем. При вдиханні парів і попаданні всередину – промити шлунок водою і прийняти активоване вугілля, не вживати молоко, жир, олію. У разі пожежі гасити тонкорозпиленою водою, повітряно-механічною і хімічною пінами, одягати рукавиці з диспергованого бутилкаучуку, спеціальне взуття [5,7].

Висновки. На основі проведених досліджень запропонована методика ізолювання, очистки та якісного і кількісного аналізу фенолу в повітрі і виділеного з біологічних рідин організму. Методика заснована на ізолюванні фенолу з сечі методом перегонки з водяною парою, очищенні одержаних витяжок екстракцією хлороформом з подальшим аналізом методами хроматографії в тонкому шарі сорбенту і рідинної хроматографії. Методом рідинної хроматографії можна виявити і кількісно визначити 17-20 % фенолу, виділеного з сечі, і 21-24%, виділеного з повітря. Час утримування фенолу – 1хв14с.

Список літератури:

1. Чернов С.М., Ковалишин В.В. Ізолюючі апарати. Обслуговування та використання. – Львів: Сполом, 2002. – 194 с.
2. Харченко О.І., Климаць Р.В., Скоробагатько Т.М. Токсичність продуктів горіння – основна причина загибелі людей унаслідок пожеж // Актуальні проблеми транспортної медицини, 2006. – №4(6). – С. 41-45.
3. Фірман Т.В., Тимошук С.В., Фірман В.М. Статистичний аналіз пожежної ситуації у Львівській області / Збірник наукових праць « Пожежна безпека», Львів, 2017. – №30. – С.168-173.
4. Баратов А.Н., Корольченко А.Я. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов и средства их тушения: Справочник – М.: Химия, 1990. – Ч.1. – 496 с.; 1990. – Ч.2. – 388 с.
5. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия. – М.: Медицина, 1975. – 376 с.
6. Чирва В.Я., Ярмолук С.М., Толкачева Н.В., Земляков О.Є. Органічна хімія. – Львів: БаК, 2009. – 996 с.
7. Довідник рятувальника на випадок виникнення надзвичайних ситуацій з небезпечними хімічними речовинами (за заг. ред. Балого В.І.). – Львів: Сполом, 2012. – 712 с.
8. Москалюк І.В. Причини пожеж у побуті та їх наслідки // Вісник НТУ «ХП». – Харків: НТУ «ХП», 2012. – №44(950). – С.66-71 (Серія «Нові рішення в сучасних технологіях»).
9. Крамаренко В.Ф. Химико-токсикологический анализ. – К: Вища школа, 1982. – 272 с.

References:

1. Chernov S.M, Kovalishin V.V. Isolating devices. Maintenance and use. – Lviv: Spolom, 2002. – 194 p.
2. Kharchenko O.I., Klymas' R.V., Skorobahat'ko T.M. Toksychnist' produktiv horinnya – osnovna prychna zahybeli lyidey u naslidok pozhezh // Aktual'ni problemy transportnoyi medytsyny, 2006 – №4(6). – S. 41-45.
3. Firman T.V., Tymoshchuk S.V., Firman V.M. Statistical analysis of the fire situation in the Lviv region // Collection of scientific works "Fire safety", Lviv, 2017. – №30. – p.168-173.
4. Baratov AN, Korolchenko A.Ya. Fire and explosion hazard of substances and materials and their extinguishing agents: Handbook – M.: Chemistry, 1990.– P.1. – 496 p. 1990. – Part 2. – 388 p.
5. Shvaykova M.D. Toxicological chemistry. – Moscow: Medicine, 1975. – 376 p.
6. Chirva V.Ya., Yarmolyuk S.M, Tolkacheva N.V., Zemlyakov O.E. Organic Chemistry. – Lviv: Baku, 2009. – 996 p.
7. Handbook of the rescuer in case of emergencies with dangerous chemicals (according to the editor Baloga VI). – Lviv: Spolom, 2012. - 712 p.
8. Moskalyuk I .V. Prychny pozhezh v pobuti ta yikh naslidky // Visnyk NTU «KhPI». Seriya « Novi rishennya v suzhasnykh tekhnolohiyakh ». – Kharkiv: NTU «KhPI», 2012. – №44(950). – S.66-71.
9. Kramarenko V.F. Chemico-toxicological analysis. – K: Higher school, 1982. – 272 p.

