

# Oznaczanie filtrów UV w środowisku wodnym z wykorzystaniem technik chromatograficznych

Aleksandra Kozarska

Filtry UV są szeroko stosowane w produktach ochrony przeciwsłonecznej, kosmetykach, farmaceutykach i preparatach higieny osobistej. Te organiczne związki absorbują lub odbijają promieniowanie słoneczne w zakresach promieniowania UV A i UV B. Substancje te mają rozmaite struktury i są klasyfikowane do różnych grup, tj. pochodne benzofenonu, kwas p-aminobenzoowy i jego pochodne, salicylany, cynamoniany, pochodne kamfory, pochodne triazyny, pochodne benzotriazolu, pochodne benzimidazolu i inne.

Ogromne zużycie kosmetyków, zawierających filtry UV, prowadzi do uwalniania ich do środowiska wodnego, zarówno w sposób bezpośredni (pływanie) lub pośredni (poprzez ścieki), co przyczynia się do ich akumulacji w środowiskach wodnych i żywych organizmach.

Filtry UV mogą ulegać degradacji, głównie pod wpływem promieniowania słonecznego lub w reakcjach z produktami dezynfekcji, np. chlorem. Może to prowadzić do zmniejszenia skuteczności działania ochronnego tych związków. W celu przygotowania próbek do analizy chromatograficznej wykorzystuje się rozmaite techniki ekstrakcji: ekstrakcję do fazy stałej (SPE), klasyczną ekstrakcję ciecz-ciecz (LLE), mikroekstrakcję do fazy stałej (SPME), ekstrakcję z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (SBSE) i inne. Oznaczanie filtrów UV zazwyczaj odbywa się z wykorzystaniem gazowej lub cieczonej chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas lub tandemową spektrometrią mas.

## Wprowadzenie

Filtry UV to związki stworzone głównie do ochrony naszej skóry przed uszkodzeniami, mogącymi powstać pod wpływem ekspozycji na promieniowanie UV A i UV B. Dzielimy je na organiczne (chemiczne) i nieorganiczne (fizyczne) blokery, w zależności od mechanizmu działania. Filtry organiczne absorbują promienie UV, przechodzą w stan wzbudzony, a następnie wydzielają ciepło. Filtry mineralne odbijają promieniowanie UV. W artykule skoncentrowano się na filtrach organicznych ze względu na ich wykorzystanie w dużych ilościach [1].

Chociaż filtry UV są głównie wprowadzane do kosmetyków (takich jak preparaty przeciwsłoneczne, kosmetyki do pielęgnacji skóry i makijażu, pomadki ochronne), występują także w szerokim zakresie produktów, włączając w to tworzywa sztuczne, kleje, lakiery i gumy, aby zapewnić im ochronę przed degradacją UV, ponadto w produktach farmaceutycznych, w kosmetykach samochodowych i innych wyrobach przemysłowych [1,3]. W celu zwiększenia wartości SPF (wskaźnik ochrony przeciwsłonecznej) stosuje się mieszaniny filtrów (zarówno organicznych UV A

i UV B, jak i nieorganicznych), co prowadzi do zwiększenia ogólnego stężenia w produkcie końcowym [1].

Większość kosmetyków trafia ostatecznie do ścieków i w konsekwencji do rzek, jezior i oceanów [1].

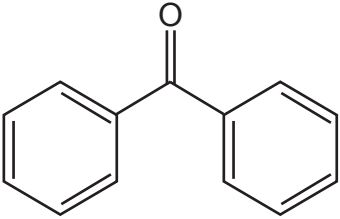
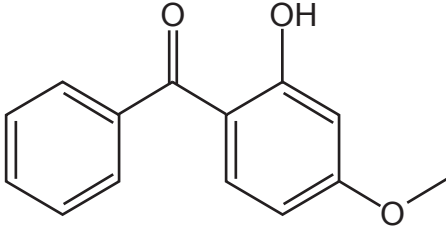
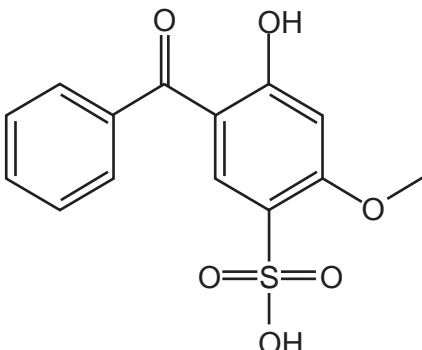
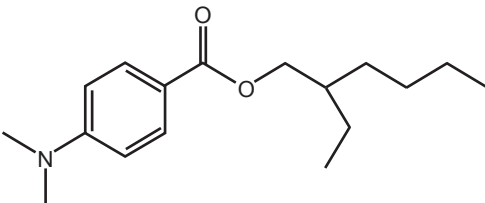
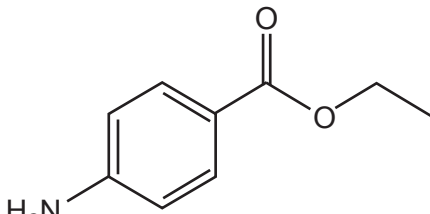
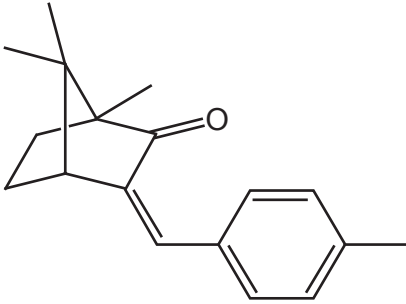
W wodzie rzecznej w Wielkiej Brytanii oznaczono stężenia BP-4 na poziomie aż do 0,3 mg/L. Badano obecność czterech filtrów UV (BP-1, BP-2, BP-3 i BP-4) w wodzie z dwóch rzek, powyżej i poniżej odpływu z czyszczalni ścieków. Spośród badanych benzofenonów, BP-4 charakteryzował się najwyższym stężeniem 32-323 µg/L, następ-

nie klasyfikował się BP-3 na poziomach stężeń do 44 µg/L, kolejno BP-2 do 26 µg/L i BP-1 (9-17 µg/L). W Japonii w rzekach mocno zanieczyszczonych dominuje EMC na poziomach stężeń od 125 do 1040 ng/L. W rzekach Hiszpanii odnotowano stężenia ES na poziomie 586 ng/L i HMS na poziomie 712 ng/L, podczas gdy w Chinach oznaczono dziesięciokrotnie wyższe stężenia ES – 5620 ng/L [1].

Mniej badań zostało przeprowadzonych, w celu oznaczenia poziomów stężeń, w wodach jezior. Ponadto charakteryzowały się one niższą zawartością substancji ochrony



Tabela 1. Wybrane pochodne filtrów UV [1]

Pochodne benzofenonu	
 <p>Benzofenon (BP)</p>	 <p>2-hydroksy-2-metoksybenzofenon (BP3)</p>
 <p>Kwas 2-hydroksy-4-metoksybenzofenono-5-sulfonowy (BP4)</p>	
Pochodne kwasu p-aminobenzoesowego	
 <p>Benzoesan 4-etylheksyl-4-(dimetyloamino) (EDP)</p>	 <p>Etyl 4-aminobenzoesowy (Et-PABA)</p>
Pochodne kamfory	
 <p>3-(4'-metylobenzylideno) kamfory (4-MBC)</p>	

przeciwslonecznej, ze względu na ograniczone źródła przedstawiana się badanych związków do środowiska, a które obejmowały głównie aktywność rekreacyjną, np. pływanie. Wyższe stężenia odnotowano w Niemczech, dla kamfory 4-MBC – 2,4 µg/L, salicylanów ES 0,8 µg/L, pochodnych cynamonianów EMC (3,01 µg/L) i IMC (146 ng/L), krylenu OC (4,4 µg/L) i dibenzoilometanu BMDM (2,4 µg/L). Pochodne benzofenonu były oznaczone m.in. w Szwajcarii (BP-3 na poziomie 125 ng/L) i Południowej Korei (4HB – 85 ng/L) [1].

Większość danych poziomów stężeń filtrów UV w wodach morskich pochodzi z obszarów południowej Europy (Hiszpania i Grecja) i Japonii. BP-3, ES i OC występują w znacznie wyższych stężeniach, np. dla BP-3 – 300 ng/l, BP-1 – 280 ng/L. W innych badaniach oznaczono następujące poziomy stężeń w wodach morskich: HMS (625-1030 ng/l), IMS (245-645 ng/L), 4-MBC (358-758 ng/L), BP-3 (254-879 ng/L), EDP (409-774 ng/L), EMC (682-1187 ng/L) i OC (440 ng/L) [1].

#### Właściwości fizykochemiczne filtrów UV

W tabeli nr 1 podano wzory strukturalne oraz nazewnictwo dla najczęściej stosowanych filtrów UV.

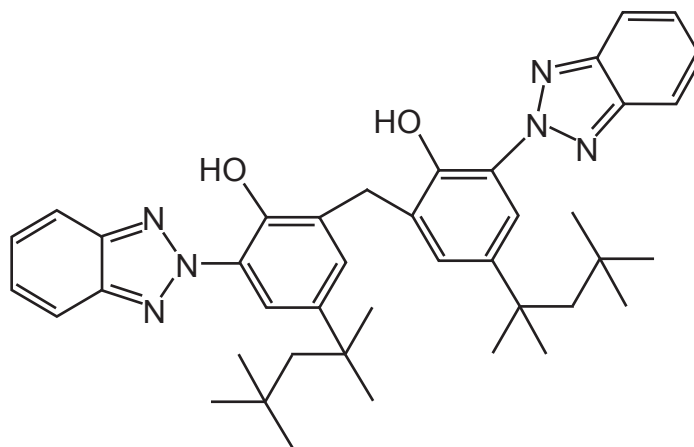
Właściwości fizykochemiczne filtrów UV determinują ich los i przemiany w środowisku oraz decydują o możliwości wyboru odpowiedniej techniki analitycznej oznaczania powyższych związków w badanych matrycach środowiskowych [1].

Filtry UV nie są postrzegane jako związki lotne ze względu na ich punkt wrzenia o średniej wartości 400°C. Najbardziej lotnymi związkami są Et-PABA, BP i IMC (temperatura wrzenia w zakresie 300-350°C). Niższe lotności charakteryzują benzimidazoli i pochodne triazyny [1].

Rozpuszczalność w wodzie dostarcza informacji o prawdopodobnym rozkładzie związków pomiędzy komponentami środowiska, głównie gleby/osadu rzecznoego i wody, a co za tym idzie o możliwości narażenia na ekspozycję środowiska i organizmu człowieka w trakcie uwolnienia do wody. Grupa benzimidazoli, BP-5 i BP-4 (pochodne benzofenonu) są bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie ( $S \geq 1,0 \times 10^3$  mg/L). Większość pochodnych benzofenonu, jak również BCSA (pochodne kamfory) charakteryzują się umiarkowaną rozpuszczalnością ( $1,0 \times 10^3$  mg/L  $> S \geq 1,0 \times 10^2$  mg/L). Inne związki kamfory, benzofenonu i kwasu p-aminobenzoowego, pochodne salicylanów i cynamonianów są nieznacznie rozpuszczalne w wodzie ( $1,0 \times 10^2$  mg/L  $> S \geq 1,0 \times 10^{-1}$  mg/L). Grupy triazyn, benzotriazoli i pochodnych krylenu nie rozpuszczają się w wodzie [1].

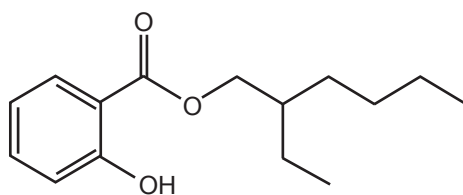
Współczynnik  $\log K_{ow}$  dostarcza nam informacji o podziale związków pomiędzy fazami: oktanol (reprezentuje tłuszcze fauny i flory) i woda (faza wodna). Pochodne benzimidazoli i benzofenonu BP4 i BP5 z wartościami  $\log K_{ow} < 1$  są hydrofilowe (wysoce rozpuszczalne w wodzie). Większość związków o  $\log K_{ow} > 4$

Pochodne benzotriazolu

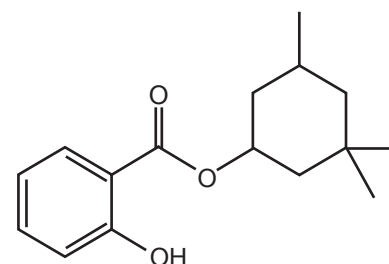


Metylen bis-benzotriazolotetrametylo-butylfenol (MBBT)

Pochodne salicylanów

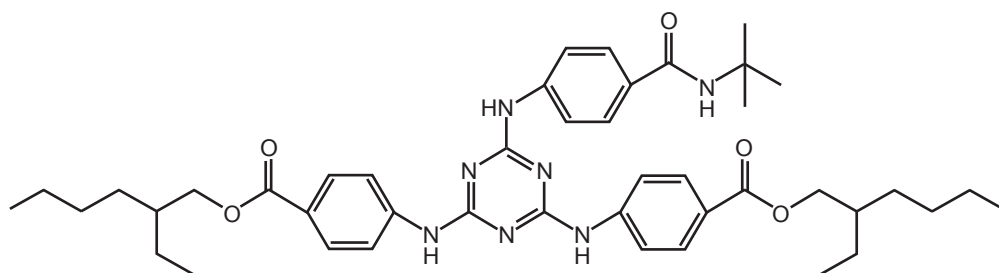


Salicylan etyloheksylu (ES)



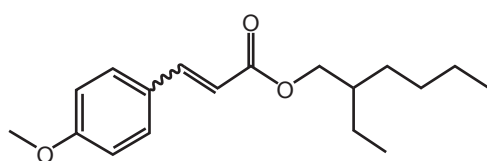
Homosalat (HMS)

Pochodne triazyny

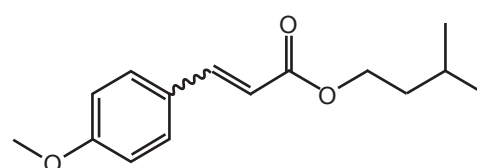


Dietyloheksylo butamido triazon (DBT)

Pochodne kwasu cynamonowego



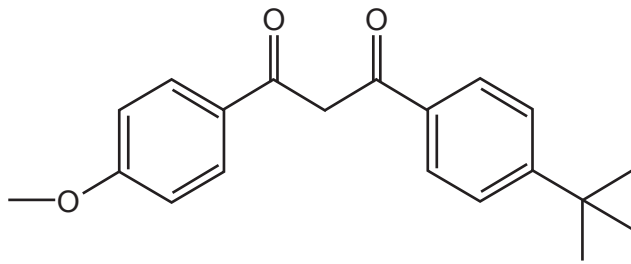
4-metoksycynamonian 2-etyloheksylu (EMC)



4-metoksycynamonian izoamylu (IMC)

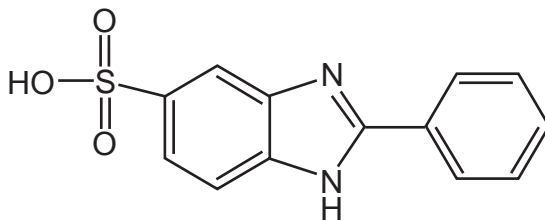


## Pochodne dibenzoilometanu



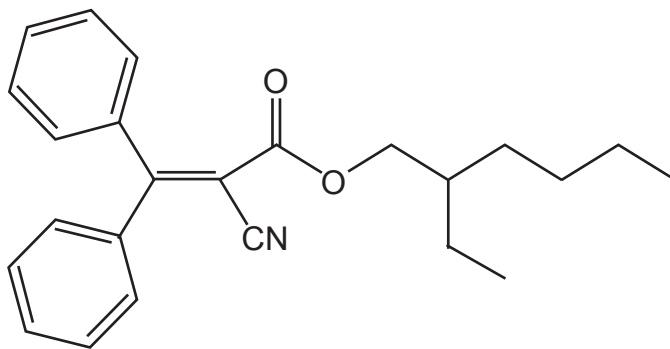
4-tert-butyl-4'-metoksydibenzoilometan (BMDM)

## Pochodne benzimidazolu



Kwas sulfonowy 2-fenyl-5-benzimidazolu (PBSA)

## Pochodne krylenu



Oktokrylen (OC)

uznaje się za hydrofobowe, tj. krylen, dibenzoilometan, cynamoniany, kwas p-amino-benzoowy i pochodne salicylanów. Związki o  $\log K_{ow} > 8$  (np. BEMT) nie są łatwo biodostępne, a te o  $\log K_{ow} > 10$  (np. EHT, DBT, MBBT i DTS) nie wykazują dostępności biologicznej [1].

Współczynnik podziału węgiel organiczny-woda ( $\log K_{oc}$ ) ma zbliżony rozkład do  $\log K_{ow}$ . Związki takie jak pochodne benzofenonu BP4 i BP5 i pochodne benzimidazolu, PBSA i DPDT, bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie i o niskich wartościach  $\log K_{ow}$ , z dużym prawdopodobieństwem można będzie wykryć w wodzie. Natomiast triazynę i benzotriazole bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie o wysokich  $\log K_{ow}$ ,  $\log K_{oc}$  można oznaczać w glebach/osadach rzecznych, z małym prawdopodobieństwem w wodach [1].

**Toksyczność i ustawodawstwo**

W przeciągu ostatnich lat filtry UV były oznaczane w śladowych ilościach w rozmaitych matrycach środowiskowych, lecz najpowszechniej w wodach na poziomie  $\mu\text{g/L}$  [1]. Filtry UV są sklasyfikowane jako nowe substancje zanieczyszczające. Regulacje

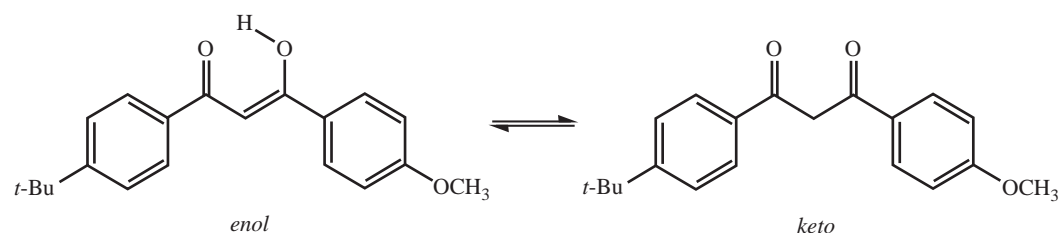


facebook.pl / labportal

Wejdź i polub nas!

UE, dotyczące kosmetyków (1223/2009), ograniczają rodzaj filtrów UV, jakie mogą być używane w kosmetykach, a także ich zawartość pomiędzy 0,1% i 10% [2]. Zezwolono na używanie około 55 filtrów w produktach ochrony przeciwsłonecznej na całym świecie, lecz tylko 10 zaakceptowano we wszystkich krajach, które przyjęły ustawodawstwo, regulujące zawartość tych związków (EU, USA, Australia/Nowa Zelandia, Kanada, Japonia, Republika Południowej Afryki), tj. benzofenon-3 (BP-3), butylodibenzoilometan (BMDM), etyloheksylodimetyl PABA (EHDPABA), metoksycynamonian etyloheksylu (EHMC), salicylan etyloheksylu (EHS), homosalat (HS), oktokrylen (OCR), PABA, kwas fenylenebenzimidazolosulfonowy (PBSA) i dwutlenek tytanu (TiO<sub>2</sub>). W zależności od pożądanego stopnia ochrony i zakresu działania ochronnego miesza się kilka filtrów UV w preparatach ochrony przeciwsłonecznej i produktach ochrony osobistej w stężeniach, które generalnie nie przekraczają 10% w mieszaninach, łącznie z nieorganicznymi filtrami UV [1].

Powyższe związki stanowią obiekt zainteresowania badaczy z uwagi na ich toksyczność i niekorzystne skutki, takie jak działanie estrogenne na faunę i florę oraz organizm ludzki. Zaobserwowano maksymalny wpływ na proliferację komórek związków EMC, ODP, 4-MBC i HMS, indukowanie aktywacji transkrypcji receptora ludzkiego estrogenu  $\alpha$  (hER $\alpha$ ) i  $\beta$  (hER $\beta$ ) przez BP-3,



Rys. 1. Tautomerizacja dibenzoilometanu (BMDM) do postaci (formy) keto [4]

BMDM, EMC, ODP, 4-MBC i HMS. Potwierdzono aktywność hormonalną estrogeną i antyestrogeną 4-MBC oraz antyandrogeną BP3 i HMS metodą *in vitro*. Związki 4-MBC i EMC, identyfikowane jako związki endokrynnie czynne (endocrine disrupting compounds – EDCs) są często porównywane do 17 $\beta$  – estradiolu (E2), wpływającego negatywnie na reprodukcję i czasem oznaczanego na istotnych poziomach stężeń [1].

Po podaniu szczurom i myszom BP-3 drogą pokarmową i przez skórę, zaobserwowano zmiany w wątrobie, nerkach i narządach rozrodczych. BP-2 wykazuje niekorzystny wpływ na płodność i rozmnażanie, a mieszanina filtrów UV prowadzi do interakcji synergicznej *in vitro* i aktywności antagonistycznej *in vivo*. Ekspozycja na wysokie stężenia benzofenonów może powodować choroby, związane z zaburzeniami równowagi hormonalnej, przede wszystkim estrogenów, prowadząc np. do endometriozu u kobiet [3].

#### Procesy degradacji filtrów UV

Skuteczność działania filtrów UV jest możliwa, gdy substancje te charakteryzują się wy-

soką fotostabilnością. Jednak badania pokazały, iż ekspozycja filtrów UV na naturalne lub/i sztuczne promieniowanie słoneczne może prowadzić do reakcji fotodegradacji, naruszając właściwości fizyczne omawianych związków (np. długość fali, przy której następuje maksymalna absorpcja czy współczynnik absorpcji) i formowania się niepożądanych produktów ubocznych, mogących akumulować się na skórze człowieka. Filtry UV ulegają również fotodegradacji po wprowadzeniu do środowiska wodnego pod wpływem promieniowania słonecznego. Niektóre filtry UV generują reaktywne związki tlenowe i inne wolne rodniki pod wpływem promieniowania w roztworach wodnych. Ponadto na fotodegradację filtrów UV w środowisku wodnym ma wpływ zawartość składników w wodzie, głównie rozpuszczonej materii organicznej, azotanów, chlorków i dwuwęglanów [4].

Dodatkowo substancje te mogą ulegać degradacji poprzez reakcję ze środkami dezynfekującymi, takimi jak chlor i jego związki, używane w basenach, prowadząc do powstania chlorowanych produktów bocznych [4].

#### Fotodegradacja

##### Benzofenony

Zanotowano znaczącą fotostabilność BP-3 pod wpływem promieniowania zarówno UV, jak i naturalnego słonecznego. Interakcje BP-3 z innym filtrem UV (benzotriazol) i kwasem humusowym w roztworze prowadziły do wzrostu degradacji BP-3. Zidentyfikowano jeden produkt uboczny BP-3, powstały w wyniku straty grup funkcyjnych hydroksylowej i benzoilowej, jako 2,4-dimetyloanizol [4].

##### Dibenzoilometany

Pochodne dibenzoilometanów są powszechnie używane jako filtry UV A. Spośród nich najczęściej stosuje się 4-tert-butyl-4'-metoksybenzoilometan (BMDM). W produktach ochrony przeciwsłonecznej dominuje forma -enol, która charakteryzuje się silną absorpcją przy długości fali 350 nm [4].

Pod wpływem promieniowania w roztworach wodnych forma -enol BMDM ulega tautomerizacji do formy -keto (Rys. 1), która jest również całkowicie degradowalna. Badania prowadzono z użyciem symulatora promieniowania słonecznego, a źródłem światła była lampa ksenonowa.





Zidentyfikowano rozmaite produkty boczne, podstawiony kwas benzoesowy, benzylole, dibenzoilometany i dibenzoiloetany [4].

#### Cynamoniany

4-metoksycynamonian 2-etyloheksylo (EHMC) jest jednym z najpowszechniej używanych cynamonianów z uwagi na jego wysoką zdolność do absorpcji w zakresie promieniowania UV B. EHMC może występować w formie izomeru trans (E) i cis (Z) w związku z obecnością podwójnego wiązania węgiel-węgiel. W produktach ochrony przeciwsłonecznej stosuje się izomer E. W wodzie pod wpływem światła następuje fotoizomeryzacja z formy E do formy Z EHMC (Rys. 2). Izomer Z posiada podobną wartość długości fali, przy której absorpcja jest maksymalna, co izomer E, lecz charakteryzuje się znacząco niższym molowym współczynnikiem absorpcji, co powoduje spadek skuteczności EHMC jako absorbera UV B [4].

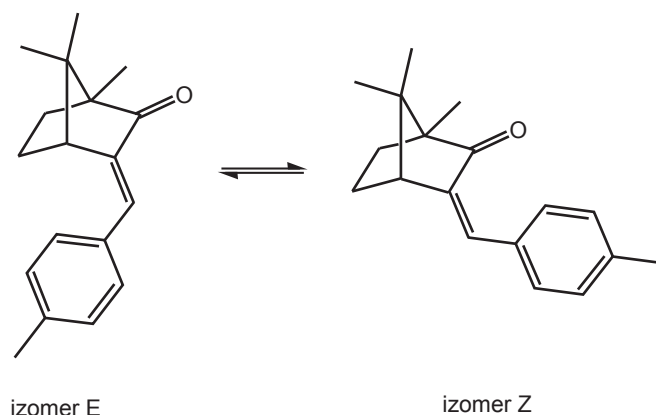
#### Pochodne kamfory

4-MBC (4-metylobenzylideno-kamfora) jest filtrem UV, używanym w wielu produktach ochrony przeciwsłonecznej. Klasyfikuje się go jako filtr UV B, ponieważ absorbuje długo-

ści fal w zakresie 290-320 nm. 4-MBC występuje w formie izomerów cis (Z) lub trans (E) w związku z egzocyklicznym podwójnym wiązaniem węgiel-węgiel. W powszechnie stosowanych produktach ochrony przeciwsłonecznej 4-MBC znajduje się w formie E. Pod wpływem promieniowania izomer E jest przekształcany w izomer Z (Rys. 3). Także obydwie izomery są identyfikowane w wodach powierzchniowych i ściekach podczas ekspozycji 4-MBC na promieniowanie słoneczne [4].

#### Para-amino kwasy benzoesowe (PABA)

2-etyloheksylo-p-(dimetyloamino)benzoesan (EHDPABA) jest najczęściej stosowanym filtrem UV wśród PABA. Ulega on degradacji fotolitycznej głównie w wodzie pod wpływem sztucznego promieniowania. Badano fotostabilność EHDPABA w trzech matrycach wodnych: wodzie destylowanej, morskiej oraz wodzie pozyskanej z basenu, w warunkach ekspozycji na sztuczne i naturalne promieniowanie słoneczne. Wpływ rozpuszczonej materii organicznej na kinetykę degradacji zweryfikowano poprzez zróżnicowanie stężenia kwasów humusowych. Szybkość reakcji przedstawiała się na-



Rys. 3. Izomer E oraz izomer Z pochodnych kamfory (4MBC) [4]

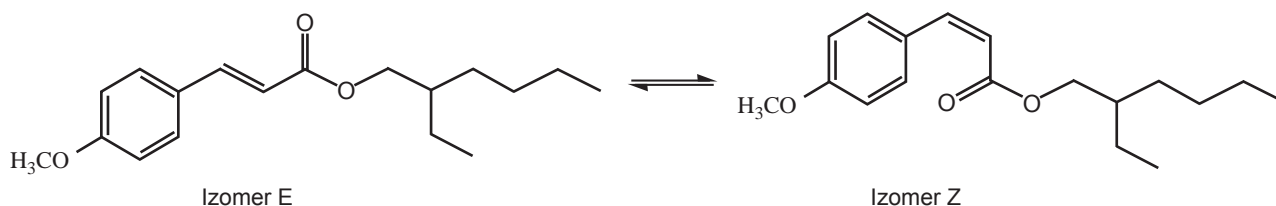
stępująco: woda destylowana > woda z basenu > woda morska, w zależności od obecności rozpuszczonej materii organicznej, która opóźniała reakcje fotodegradacji. W trzech badanych matrycach zidentyfikowano do czterech produktów ubocznych w warunkach naturalnego lub sztucznego promieniowania: 2-etyloheksylo p-metyloaminobenzoesan, 2-etyloheksylo p-aminobenzoesan i 2-etyloheksylo p-dimetyloaminohydroksybenzoesan, powstałe w reakcji dealkilowania i hydroksylowania EHDPABA [4].

#### Benzimidazole

Kwas 2-fenylbenzimidazolo-5-sulfonowy (PBSA) jest powszechnie stosowany w komercyjnie stosowanych produktach ochrony przeci-

słonecznej ze względu na jego silną absorpcję w zakresie promieniowania UV B. Fotodegradacja PBSA jest szczególnie szybka i rozległa w wodzie. Sztuczne promieniowanie uzyskano z wykorzystaniem lampy ksenonowej, a filtr wodny blokował promieniowanie podczerwone. Badania prowadzono przy długości fal większych niż 290 nm. Ekspozycja PBSA na sztuczne promieniowanie solarne prowadziła do generowania rozmaitych wolnych rodników i reaktywnych form tlenu (ROS), przyczyniając się do jego degradacji w wodzie i zmniejszenia zdolności ochrony przeciwsłonecznej [4].

W warunkach sztucznego promieniowania UV A i UV B w roztworze wodnym PBSA ulegał fotodegradacji



Rys. 2. Izomer E oraz izomer Z pochodnych kwasu cynamonowego (EHMC) [4]

z generowaniem ROS, a degradacja była zależna od pH i hamowana kwasem fulwowym. Zidentyfikowano 6 produktów fotodegradacji w czystej wodzie: produkt desulfonowania (2-fenilo benzoimidazol), trzy produkty powstałe poprzez usunięcie pierścienia benzenowego, sąsiadującego z pierścieniem imidazolu (pochodne kwasu fenyloimidazolokarboksylowego) i dwa związki powstałe poprzez otwarcie pierścienia imidazolu (benzimidamid i benzamid) [4].

#### Reakcje z chlorem

Woda w basenach wymaga prowadzenia procesu dezynfekcji w celu ochrony organizmu człowieka przed mikroorganizmami patogennymi. Jednocześnie proces ten może wpływać na wystąpienie wielu niepożądanych reakcji. Stosowane są środki dezynfekcyjne na bazie chloru, tj. gazowy chlor, podchloryn sodu lub wapnia, chlorowane izocyjanurany, bromochlorodimetylohydantoina i dwutlenek chloru. Związki chloru reagują z materia organiczną (naturalną i syntetyczną), obecną w basenach, formując rozmaite związki chloroorganiczne, tzw. produkty uboczne dezynfekcji. Niektóre z nich są odpowiedzialne za niekorzystne działanie na organizm ludzki. Rodzaj i poziom tworzonych produktów dezynfekcji zależą głównie od źródła wody, rozpuszczonej materii organicznej, typu i ilości użytego środka dezynfekującego, dawki oraz pozostałości dezynfektanta w wodzie, czasu reakcji, tem-

peratury, pH, stężenia bromków i azotanów [4].

Aktualnie ponad sto ubocznych produktów dezynfekcji zidentyfikowano w basenach, tj. trihalometany, halokwasy, halonitryle, halo ketony, halonitrometany, haloaminy, haloamidy, haloalkohole i pochodne fluorowcowane filtrów UV. Ogólnie, chlorowane produkty uboczne są powszechniejsze aniżeli ich odpowiedniki bromowane, z wyjątkiem sytuacji, kiedy reakcje przebiegają w wodzie o wysokiej zawartości związków bromowych [4].

W badaniach kinetyki degradacji EHDPA w matrycach wodnych (woda z basenu, woda morska i destylowana) oprócz produktów fotodegradacji omówionych we wcześniejszym rozdziale, pojawiło się pięć nowych produktów chlorowanych, związanych z obecnością związków chloru: 2-etyloheksylo dichloro-p-dimetyloaminobenzoesan, 2-etyloheksylo chloro-p-metyloaminobenzoesan, 2-etyloheksylo dichloro-p-metyloaminobenzoesan, 2-etyloheksylo p-aminochlorobenzoesan, 2-etyloheksylo p-aminodichlorobenzoesan [4].

Badano stabilność trzech filtrów UV (salicylan etyloheksylo ES, EHDPA i BP-3) w próbkach wody chlorowanej w obojętnym pH i w obecności soli bromku potasu [4]. Stabilność filtrów UV wzrastała w następującej kolejności BP-3 < EHDPA < ES. Zakres reakcji chlorowcowania ES oszacowano jako nieistotny, natomiast EHDPA i BP-3 reagowały z wolnym chlorem

w znaczący sposób, przekładając się na mniejszą stabilność tych związków. Różnice w reaktywności wskazują na wpływ rozmaitych grup organicznych na zjawisko aktywacji lub dezaktywacji pierścienia fenolowego w kierunku podstawienia elektrofilowego. EHDPA jest bardziej stabilny w pH 8.2 niż w pH 6.2 i 7.2, podczas gdy BP-3 charakteryzuje się mniejszą stabilnością w pH 8.2 niż w pH 7.2 i 6.2. Dodatek bromku redukuje stabilność filtrów UV ze względu na tworzenie bromu, który wykazuje silną tendencję do reagowania ze związkami aromatycznymi. Tylko monohalogenowe związki zostały zidentyfikowane dla EHDPA (Cl-EHDPA i Br-EHDPA o tej samej strukturze co macierzysty filtr UV), podczas gdy dla BP-3 otrzymano zarówno mono- jak i dwupodstawione produkty uboczne. EHDPA ulega degradacji w stosunkowo prostym szlaku, obejmującym aromatyczne podstawienie jednego atomu wodoru jednym atomem chloru lub bromu. Ta sama reakcja przebiega dla PB-3, prowadząc do powstania mono i dihalogenowych produktów ubocznych: Cl-BP3 (2 izomery), Cl<sub>2</sub>-BP3 (1 izomer), Br-BP3 (2 izomery), Br<sub>2</sub>-BP3 (1 izomer) i Br-Cl-BP3 (2 izomery). Dodatkowo zidentyfikowano kilka form halogenowych 3-metoksyfenolu, powstałych prawdopodobnie wskutek rozerwania wiązania karbonylowego pomiędzy dwoma pierścieniami aromatycznymi w cząsteczce BP-3, a następnie chlorowcowania fragmentu metoksyfenolu. Produkty uboczne

EHDPA, formy dihalogenowe BP-3 i tri-halogenowe metoksyfenolu charakteryzują się znaczącą stabilnością wobec reakcji oksydacji [4].

#### Techniki ekstrakcji w analizach wody

Ekstrakcja jest metodą wydzielania substancji chemicznej z matrycy, podczas której substancja ekstrahowana przechodzi do rozpuszczalnika, a usunięciu ulegają niepożądane związki. Spośród kilkunastu metod ekstrakcji, używanych do oznaczania filtrów UV w wodzie, najpowszechniej wykorzystywaną pozostaje ekstrakcja do fazy stałej (SPE). Ta metoda opiera się na stosowaniu kartridży wypełnionych sorbentami krzemionkowymi z monomerycznymi wiązaniami C<sub>18</sub>. Sorbenty tego typu są zdolne do zatrzymywania głównych organicznych analitów, występujących w roztworach wodnych, jednak najczęściej stosuje się je do ekstrakcji umiarkowanie polarnych do niepolarnych związków w próbkach wodnych. Ponadto używane są również polimerowe hydrofobowe sorbenty w odwróconym układzie z fazą niezwiązaną lub ligandami alkilowymi, zwilżalne wodą. Tego typu sorbenty są odpowiednie dla szerokiego zakresu związków o rozmaitych właściwościach, w tym filtrów UV. Główną wadą tej techniki pozostaje duża objętość próbki w granicach od 100mL do 10L. Z uwagi na fakt, iż filtry UV są względnie polarne większość metod ekstrakcji opiera się na zastosowaniu rozpuszczalnika o średniej polarności, tj. dichlorometanu



(DCM) lub octanu etylu (EA). Wykorzystanie bardziej polarnego rozpuszczalnika metanolu (MeOH) jest najczęściej podyktowane analizowaniem bardziej kompleksowej mieszaniny, zawierającej nie tylko filtry UV (takie jak PBSA i BP-4), lecz również inne związki polarne, takie jak środki farmaceutyczne i herbicydy. SPE jest postrzegana jako dobra technika ekstrakcji, łatwa w prowadzeniu i dostarczająca wysokie wartości odzysków w zakresie od 60 do 100%. W celu uzyskania lepszych rezultatów w procesie oczyszczania SPE często jest łączona z inną techniką, tj. chromatografią żelowo-permeacyjną (GPC), osiągając przy tym wartości odzysków w granicach 78-129%. Ekstrakcję SPE zazwyczaj prowadzi się w trybie off-line (przed separacją i detekcją), jednak coraz częściej za efektywną technikę postrzega się SPE, prowadzoną w trybie on-line, sprzężoną on-line z systemem LC lub jako w pełni zautomatyzowany system do analizy organicznych filtrów UV, uzyskując odzyski bliskie 100% [1].

Oprócz metod SPE wykorzystuje się również inne techniki ekstrakcji, jak dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz (DLLME) i mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME). Powyższe metody charakteryzują się większą przyjaznością dla środowiska z uwagi na niższe zużycie rozpuszczalników organicznych, krótszy czas trwania procesu oraz ograniczenie efektu matrycy. Jednak wartości czułości i precyzji pozostają gorsze w porówna-

niu z powszechnie stosowaną metodą SPE [1].

Technika dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz (DLLME) polega na ekstrakcji analitów z próbki wodnej do niewielkiej ilości rozpuszczalnika ekstrahującego (o wysokiej gęstości) w obecności rozpuszczalnika dyspergującego (mieszalnego z wodą o charakterze polarnym) [1,2]. Obecność rozpuszczalnika dyspergującego poprawia rozproszenie rozpuszczalnika ekstrahującego w postaci mikroskopijnych kropelek, co znacząco przyspiesza proces ekstrakcji, zwiększa współczynnik wzbogacenia, przyczynia się do ułatwienia obsługi i uzyskania niższych kosztów wdrożenia techniki DLLME [1,5]. Zwykle stosuje się chloroform/aceton (CHL/Ac) i tetrachloroetylen/Ac jako kombinację ekstrahent/dyspergent w procesie ekstrakcji filtrów UV [1]. Coraz częściej wykorzystywane są mieszaniny, w skład których wchodzi ciecze jonowe, tj. ([HMIM][FAP])/MeOH tris(pentafluoroetylo)trifluorofosforan 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy czy [C<sub>4</sub>MIM]PF<sub>6</sub>/MeOH heksafluorofosforan 1-butylo-3-metyloimidazoliowy z uwagi na ich unikalne fizyczne i chemiczne właściwości, tj. niepalność, nieznaczną prężność par, dobra ekstrahowalność dla szerokiego zakresu związków nieorganicznych, organicznych i metaloorganicznych, jak również możliwość dostosowania lepkości oraz mieszalności z wodą i rozpuszczalnikami organicznymi. Powyższa metoda była stosowana dla pięciu klas filtrów UV (benzofenony, po-

chodne kamfory, salicylanów, krylenu, kwasu p-aminobenzoesowego) i prowadziła do uzyskania wysokich wartości odzysków (70-118%) podczas analiz rozmaitych matryc, takich jak woda z jeziora, woda rzeczna, morska czy woda z basenu [1].

W procesie mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) włókno pokryte fazą stacjonarną zanurzone jest bezpośrednio w badanej próbce (DI) lub anality pobiera się z fazy nadpowierzchniowej (HS) [1,6]. Ekstrakcja w trybie headspace charakteryzuje się znacznymi zaletami, głównie w zakresie selektywności, z uwagi na fakt, iż do fazy nadpowierzchniowej mogą zostać uwolnione tylko lotne i półlotne związki organiczne, ograniczając dzięki temu efekt matrycowy i zwiększając żywotność włókien SPME. Włókna te mogą być stosowane wielokrotnie, w przeciwieństwie do jednorazowych kartridży SPE, co przyczynia się do zmniejszenia kosztów analizy. Jednakże dostępnych jest tylko kilka typów włókien - PDMS, PDMS-DVB, poliakrylan (PA) i karboksen. Najbardziej odpowiednią metodą ekstrakcji SPME najlotniejszych filtrów UV (pochodne salicylanów ES i HMS oraz pochodne benzofenonu BP-1, BP-3 i BP-8) zgodnie z przeprowadzonymi badaniami jest zastosowanie włókien pokrytych PDMS-DVB z analizą fazy nadpowierzchniowej (względne odzyski w zakresie 89% do 115%). Uzyskano względne wartości odzysków w przedziale 72,5-115%, wykorzystując włókno pokryte PDMS do analizy sa-

licyjanów ES, benzofenonu BP-3, kamfory 4-MBC i krylenu OC. Z użyciem prętu z 3-merkaptopropylotrimetoksylanu (MPTS)-Ag-C<sub>12</sub> w procesie SPME uzyskano względne odzyski na poziomie od 69,7 do 102,4% dla pochodnych benzofenonu BP, BP-3 i 4 - PB. Jednak w porównaniu z SPE technika SPME charakteryzuje się ograniczeniami w zakresie kierowania i regulacji metody oraz utrudnieniami w wyborze włókien [1].

W technice SBSE (ekstrakcji z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego) anality są adsorbowane z roztworu wodnego na mieszadełku magnetycznym pokrytym warstwą sorbentu. Kolejnym krokiem jest zazwyczaj desorpcja rozpuszczalnikiem (LD) lub desorpcja termiczna (TD). Powyższa technika została z powodzeniem zastosowana do ekstrakcji filtrów UV z wykorzystaniem ruchomych elementów z zewnętrzną powłoką polidimetylosiloksanową (PDMS). Zalety tej metody skupiają się na użyciu niewielkiej ilości próbki (10 do 50 mL), z czasem ekstrakcji od 120 do 180 min. i prędkością mieszania w granicach od 800 do 1000 rpm w temperaturze pokojowej. Odzyski kształtowały się w zakresie od 80 do 130% w przypadku zastosowania desorpcji termicznej i 30 do 80% przy desorpcji rozpuszczalnikiem [1].

Pojawiają się również inne, mniej konwencjonalne metody ekstrakcji związków organicznych w próbkach wodnych, tj. IL-USAEME (mikroekstrakcja poprzez emulgację wspomaganą ultradźwiękami



z zastosowaniem cieczy jonowej) z odzyskami na poziomie 100%, IL-SDME (mikroekstrakcja do pojedynczej kropli z zastosowaniem cieczy jonowej) ze średnim odzyskiem 100%, MALLE (ekstrakcja membranowa z mikroporowatą membraną w układzie ciecz-ciecz) z odzyskami w zakresie od 60 do 100%, dSPE oparta na MNPs (dyspersyjna ekstrakcja do fazy stałej z wykorzystaniem nanocząsteczek o właściwościach magnetycznych) – charakteryzująca się odzyskiem 70-125%, MEPS (mikroekstrakcja na upakowanym sorbencie) z odzyskami między 60 a 115%, MME (ekstrakcja micelarna) o średnich odzyskach 100%. Niektóre z tych technik ekstrakcyjnych posiadają również wady, np. większość cieczy jonowych nie jest dostępna komercyjnie. Istnieje konieczność ich syntezy [1]. Filtry UV w rzekach i jeziorach mogą być również analizowane w sposób pośredni (pasywne techniki pobierania próbek analitów z wody). Próbniki z półprzepuszczalnymi membranami (SPMD) są zazwyczaj stosowane w warunkach in situ do oznaczeń stężeń zanieczyszczeń lipofilowych i pomiaru średnich ważonych w czasie stężeń substancji za cały okres ekspozycji [1,7]. Urządzenie typu SPMD składa się z ułożonej płasko rurki z polietylenu o małej gęstości, otaczającej cienki film z trio-leiny [8]. Montowana jest ona w perforowanej obudowie ze stali nierdzewnej, a etap ekspozycji próbnika trwa od 3 do 6 tygodni na głębokości 1-2m. Uzyskane stężenie filtrów UV w próbnikach SPMD ( $C_{SPMD}$ ,

ng/SPMD) może służyć do oszacowania odpowiedniego stężenia w wodzie ( $C_{SPMD}$ , ng/L). Ekstrakcję analitów z fazy zatrzymującej dokonuje się za pośrednictwem dializy przez 24h, a używanymi rozpuszczalnikami są cyklopentan /DCM (95:5), cyklopentan lub heksan. Dla badanych analitów średnio polarnych (BP-3, OC, 4-MBC, EMC, BMDM, 3-BC) otrzymano średnie odzyski 42-110%, o najniższych wartościach dla bardziej polarnych związków [1].

Kolejnym urządzeniem wykorzystanym w technice pasywnej jest próbnik typu POCIS, przeznaczony do pobierania próbek analitów polarnych. Próbnik POCIS składa się z kilkunastu dysków zamontowanych na wsporniku wykonanym z pręta [1]. Faza odbierająca w postaci stałego sorbentu umieszczona jest pomiędzy dwoma mikroporowatymi (100 nm) dyskami membranowymi wykonanymi z polieterosulfonu [1,9]. Sorbent jest usuwany, umieszczony w kolumnach SPE lub pustych kartridżach. Filtry UV są najczęściej ekstrahowane z wykorzystaniem bardziej polarnych rozpuszczalników czy mieszanin, tj. metanolu i metanolu/toluenu/DCM. W prowadzonych badaniach oznaczono cztery polarne do średnio polarnych substancje, chroniące przed promieniowaniem UV (BP-3, BP-4, 4-MBC IMC), otrzymując dobre wartości odzysków na poziomie 70 do 100% [1].

#### **Techniki chromatograficzne**

Po procesie ekstrakcji i oczyszczania stosuje się metody

chromatograficzne w celu oznaczenia ilościowego i jakościowego kilku analitów w jednej analizie [1].

Chromatografia cieczowa jest najczęściej używaną techniką analiz filtrów UV ze względu na ich występowanie w przeważającej ilości w postaci nielotnych związków. Standardowo używa się chromatografii w odwróconym układzie faz z fazą stacjonarną modyfikowaną grupami oktadecylowymi w połączeniu z ruchomą fazą w postaci mieszanin acetonitrylu, metanolu i wody z modyfikatorem fazy w celu poprawy kształtu piku, retencji i rozdzielczości. Dobra separacja chromatograficzna jest niezwykle istotna. W detekcji używa się spektrometrów mas, a także detektorów z matrycą diodową DAD lub PDA sprzężone z HPLC. Od niedawna bada się również zastosowanie ultrasprawnej chromatografii cieczowej (PLC) w tego typu analizach z uwagi na mniejsze zużycie rozpuszczalnika, zwiększenie szybkości, rozdzielczości i czułości, uzyskanie węższych i ostrzejszych pików, redukcję efektu matrycy podczas detekcji MS/MS [1].

Podczas wyboru metody analitycznej należy brać pod uwagę właściwości fizykochemiczne analitów. Bardziej polarne i mniej lotne związki są zazwyczaj analizowane metodą LC-MS, podczas gdy oznaczanie ilościowe i jakościowe lotnych związków i ich produktów transformacji najczęściej wykonuje się z wykorzystaniem GC-MS, szczególnie w przypadku konieczności

separacji izomerów lub kongenerów. Większość badań charakteryzuje się znaczną poprawą uzyskanych wartości limitów detekcji (LOD) na poziomie ng/L. Jednakże często dodatkowy proces derywatywacji jest wymagany z uwagi na fakt, iż filtry UV posiadają grupy polarne, a ich niska lotność i czułość nie jest odpowiednia dla GC. Proces derywatywacji redukuje polarność analitu, uniemożliwiając koelucję z wysoko polarnym materiałem w kompleksowych matrycach. Ponadto obserwuje się zwiększenie masy cząsteczkowej analizowanych związków. Wskutek zwiększenia czasu retencji podczas przebiegu analizy w chromatografii w odwróconym układzie faz zapobiega się interferencjom. Kilka odczynników nieprzerwanie wykorzystuje się dla tych celów: MSTFA (N-metylo-N-(trimetylosililo)trifluoroacetamid), BSTFA (N,O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid), MTBSTFA (N-tert-butylodimetylosililo-N-metylotrifluoroacetamid). Badania są prowadzone w wysokiej temperaturze (60°C) i przez przynajmniej 30 min. czasu reakcji. Niektórzy autorzy łączą metody ekstrakcji, tj. DLLME i SBSE z derywatywacją in-situ, zwiększając dzięki temu wydajność analizy próbki [1].

#### **Podsumowanie**

Filtry UV to grupa związków wykorzystywana głównie do ochrony skóry przed promieniowaniem UV A i UV B. Zostały one zaklasyfikowane jako nowe substancje zanieczyszczające.



Te związki mogą być wprowadzane do środowiska wodnego bezpośrednio poprzez aktywność rekreacyjną, tj. opalanie się czy pływanie w morzu, jeziorze czy rzece lub pośrednio poprzez mycie się, pranie odzieży czy w odpływach z oczyszczalni ścieków.

Filtry UV mogą ulegać degradacji, głównie poprzez ekspozycję na promieniowanie słoneczne, czy też w wyniku reakcji ze środkami dezynfekującymi, np. związkami chloru.

Wiele z tych związków jest lipofilowa, przez co mogą one ulegać bioakumulacji i biomagnifikacji w łańcuchach pokarmowych, powodując indukację działania estrogennego lub przeciwtarczycowego.

Filtry UV są oznaczane w środowiskach wodnych na bardzo niskich poziomach stężeń. Stosuje się rozmaite techniki ekstrakcji oraz wstępnego załączenia podczas etapu przygotowania próbek. Powszechnie stosowana jest ekstrakcja SPE, ponieważ umożliwia usunięcie substancji przeszkadzających obecnych w matrycach oraz prowadzi do wstępnego

załączenia filtrów UV. Pomimo faktu, iż SPE ma zdecydowanie więcej zalet w porównaniu z LLE, to wciąż używana jest stosunkowo duża ilość próbek oraz rozpuszczalnika do desorpcji analitów, jak również dodatkowego procesu oczyszczania próbki. Dlatego w celu wyeliminowania ograniczeń stosuje się zminiaturyzowane procesy oparte na SPE i LLE, tzw. „zielone” techniki przygotowania próbek do analizy chromatograficznej, tj. DLLME, SPME, SBSE, MALLE, MME i inne.

Analizy są często prowadzone z wykorzystaniem cieczonej chromatografii sprzężonej z detektorem z matrycą diodową (DAD) lub ze spektrometrem mas (MS). GC-MS jest również używaną techniką oznaczania filtrów UV ze względu na jego wysoką rozdzielczość i dostępność. Jednak jego zastosowanie jest ograniczone do związków lotnych, dlatego polarne filtry UV wymagają dodatkowego kroku derywatywacji, przed nastrzykiem do systemu.

#### Literatura

[1] Ramos S., Homem V., Alves

A., Santos L. Advances in analytical methods and occurrence of organic UV filters in the environment – A review. *Science of the Total Environment* 2015, 526, 278-311.

[2] Clavijo S., Avivar J., Suárez R., Cerdà. N-syringe magnetic stirring-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and silylation prior gas chromatography-mass spectrometry for ultraviolet filters determination in environmental water samples. *Journal of Chromatography A* 2016, 143, 26-34.

[3] Ferrero-Gago P., Mastrianni N., Díaz-Cruz M.S., Barceló D. Fully automated determination of nine ultraviolet filters and transformation products in natural waters and wastewaters by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2013, 1294, 106-116.

[4] Santos A.J.M., Miranda M.S., Esteves da Silva J.C.G. The degradation products of UV filters in aqueous and chlorinated aqueous solutions. *Water Research* 2012, 46, 3167-3176.

[5] Zgoła-Grzeškowiak A. Dyspersyjna mikroekstrakcja cieczy – cieczy i jej zastosowanie w oznaczaniu zanieczyszczeń środowiska i w badaniach biodegradacji. Atoreferat do wniosku habilitacyjnego, Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, Poznań 2015.

[6] Strona internetowa: [https://chemia.biol-chem.uwb.edu.pl/media/uploads/2016/06/29/wpchain\\_instrukcje.pdf](https://chemia.biol-chem.uwb.edu.pl/media/uploads/2016/06/29/wpchain_instrukcje.pdf)

[7] Łopuchin E. Wykorzystanie próbników pasywnych w analityce zanieczyszczeń wody (badania modelowe). Rozprawa doktorska. Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska.

[8] Paschke A., Vrana B., Popp P., Wennrich L., Lorenz W., Schuurmann G. Nowe próbniki pasywne do monitoringu organicznych zanieczyszczeń w wodach powierzchniowych i gruntowych. Rozdział 27.

[9] Pogorzelec M., Piekarska K. Wykorzystanie próbników POCIS w monitoringu hydrofilowych zanieczyszczeń wody. Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska 2015, 5, 327-333.



ZOSTAŃ CZŁONKIEM

**Klubu Polskich  
Laboratoriów Badawczych**

[www.pollab.pl](http://www.pollab.pl)