

УДК 543.552

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ОРГАНОМОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДОВ В КОНТРОЛЕ КАЧЕСТВА СОКОВ И НЕКТАРОВ

О.А. Мартынюк, Г.Б. Слепченко, В.А. Приходько, П.С. Постников, М.Е. Трусова

Томский политехнический университет

E-mail: oam@tpu.ru

Разработан вольтамперометрический способ определения водорастворимых витаминов на модифицированных графитовых электродах. Предложен новый органо-модифицированный тозилатными солями арилдiazония электрод. Оптимизированы условия определения и разработана методика количественного химического анализа водорастворимых витаминов на органо-модифицированных электродах в соках и нектарах. Проведена проверка правильности результатов методом «введено-найде-но». Предложенная методика определения витаминов на модифицированных электродах позволяет повысить чувствительность в 3...4 раза и уменьшить погрешность определения до 14...18 %.

Ключевые слова:

Вольтамперометрия, диазониевые соли, графитовый электрод, органо-модифицированные электроды, сок, витамины.

Key words:

Voltammetry, diazonium salts, the graphite electrode, the organo-modified electrodes, juice, vitamins.

Натуральные и витаминизированные соки относятся к продуктам массового потребления. В них содержатся незаменимые пищевые вещества: витамины, минеральные соли, микроэлементы. Это предъявляет повышенные требования к контролю за качеством соков и совершенствованию методов количественного определения витаминов в этих продуктах.

Простейшими методами определения водорастворимых витаминов являются химические и микробиологические [1, 2]. Методы сравнительно простые, однако отличаются малой специфичностью, невысокой чувствительностью и не нашли широкого применения для анализа витаминов в многокомпонентных смесях [3, 4]. Широко распространены оптические методы определения водорастворимых витаминов [5]. Флуориметрические методы определения витаминов В₁ и В₂ рекомендованы нормативными документами и чаще всего используются в современных лабораториях. Широкое распространение для анализа также получили различные варианты хроматографии [6–8].

Согласно ГОСТ Р 24556-89 определение витамина С в продуктах переработки плодов и овощей осуществляется следующими методами: титриметрически, фотометрически и флуориметрически [9]. Флуориметрический и люминофлавиновый методы применяются для определения витаминов В₁ и В₂ в продуктах переработки овощей и фруктов (ГОСТ Р 25999-83) [10]. Ограниченное использование данных методов связано в первую очередь с их трудоемкостью, они требуют больших затрат времени и дорогостоящих реактивов. Наряду с этими методами широко используются электрохимические методы анализа. Возрастающий интерес к данным методам анализа связан с рядом достоинств: широкий диапазон определяемых концентраций, экспрессность, простота аппаратного оформления и относительно невысокая стоимость оборудования. Одним из наиболее универсальных электрохимических методов контроля качества

продуктов питания является вольтамперометрический (ВА) метод анализа (ГОСТ Р 52690-2006) [11].

Используемый в ВА методе определения витаминов С и В₂ стеклоуглеродный электрод, отличается сложной технологией изготовления, коротким сроком службы и вследствие прочной адсорбции органических веществ сложного состава (аминокислоты, белки) – долгой процедурой очистки между анализами. Для ВА анализа витамина В₁ используют ртутно-пленочный электрод, который получают нанесением токсичной металлической ртути на поверхность серебряной проволоки. Поэтому на сегодняшний момент актуален вопрос поиска электродов для ВА анализа, отличающихся простотой в изготовлении, долгим сроком службы, возможностью обновления поверхности электрода и ограниченным использованием токсичных веществ для их изготовления.

Модификация поверхностей электродов путем ковалентного связывания с некоторыми органическими функциональными группами приводит к увеличению селективности и чувствительности определения органических и неорганических веществ. В литературе описано применение угольно-пастовых и стеклоуглеродных электродов, модифицированных различными органическими веществами, в частности нафтоном, каликсаренами, никель (II) тетраазовым макроциклом [12].

Практическое применение таких электродов осложнено главным образом сложной технологией приготовления, невысокой селективностью и чувствительностью. Наиболее перспективными органическими агентами для поверхностной модификации электродов являются тетрафторбораты арилдiazония $ArN_2^+BF_4^-$, которые в ходе электролиза обеспечивают ковалентное связывание функциональных групп Ar с поверхностью электрода. Однако, тетрафторбораты арилдiazония, как правило, обладают низкой растворимостью, что ограничивает возможности их использования для поверхностной модификации [13].

Целью исследования являются разработка новых ВА способов определения водорастворимых витаминов (С, В₁ и В₂) на органо-модифицированных электродах и ВА методики их определения в соках и нектарах.

Экспериментальная часть

Все электрохимические измерения проводили с использованием вольтамперометрического комплекса СТА [14] с трехэлектродной системой и ступенчатой разверткой потенциала. В качестве подложки модифицированного индикаторного электрода использовали графит, пропитанный смесью полиэтилена и парафина под вакуумом – графитовый электрод (ГЭ). Электродом сравнения служил насыщенный хлоридсеребряный электрод (нас.х.с.). Измерения проводились при температуре 20 °С и отсутствии кислорода, который удаляли из раствора током азота с массовой долей кислорода не более 0,01 % (ГОСТ 9293-74).

Процесс электрохимического окисления витамина В₂ проводили в растворе соляной кислоты 0,01 моль/л на модифицированном графитовом электроде при потенциале, равном $-(0,2...0,15)$ В относительно нас.х.э.

Процесс электрохимического восстановления витамина В₁ проводили в растворе двузамещенного гидрофосфата натрия 0,1 моль/л на модифицированном графитовом электроде при потенциале $-(1,2...1,4)$ В относительно нас.х.э.

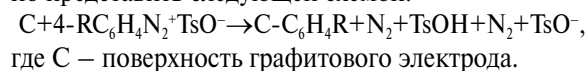
Процесс электрохимического окисления витамина С проводили в растворе 0,1 М КСl, подкисленном 0,1 М НСl до рН 3...4 на модифицированном графитовом электроде при потенциале 0,35...0,55 В относительно нас.х.э.

Растворы фоновых электролитов – 0,1 М раствор КСl (ч.д.а.), подкисленный 0,1 М НСl (для витамина С), 0,01М НСl (для витамина В₂), 0,1 М Na₂HPO₄ (ч.д.а.) (для витамина В₁) готовили растворением навески или разбавлением кислоты в бидистиллированной воде до нужной концентрации. Основные растворы витаминов (ОАО «Алтайвитамины», г. Бийск) готовили растворением навески сухого порошка витамина в бидистиллированной воде. Арилдиазоний тозилаты $ArN_2^+OTs^-$ ($Ar=p-NH_2C_6H_4$; $p-NO_2C_6H_4$; $p-HOOC_6H_4$) получали по методу [15].

Результаты и обсуждение

Ранее авторами был предложен способ поверхностной модификации графитовых электродов арилдиазоний тозилатами $ArN_2^+OTs^-$ [16], которые обладают стабильностью, безопасностью в обращении и в отличие тетрафторборатов, широко используемых для поверхностной модификации, хорошо растворимы в воде и многих органических растворителях. Были получены поверхностно модифицированные графитовые электроды путем выдерживания электрода в водных растворах диазониевых солей $4-RC_6H_4N_2^+TsO^-$ ($R=COOH$, NH_2 , NO_2). Реакция протекает в течение 5...10 с и в результате на поверхности электрода формируются

ковалентно связанные с углеродом органические слои, содержащие соответствующие функциональные группы $4-RC_6H_4-$. Процесс модификации можно представить следующей схемой:



где С – поверхность графитового электрода.

При сравнении модифицированных электродов с различными заместителями было замечено, что аналитический сигнал определяемого вещества больше при использовании электрода, модифицированного арилдиазоний тозилатами с карбоксильной (ГЭ-СООН) или аминогруппой (ГЭ-NH₂) по сравнению с нитрогруппой (ГЭ-NO₂), а также от заместителя модификатора [16] (рис. 1).

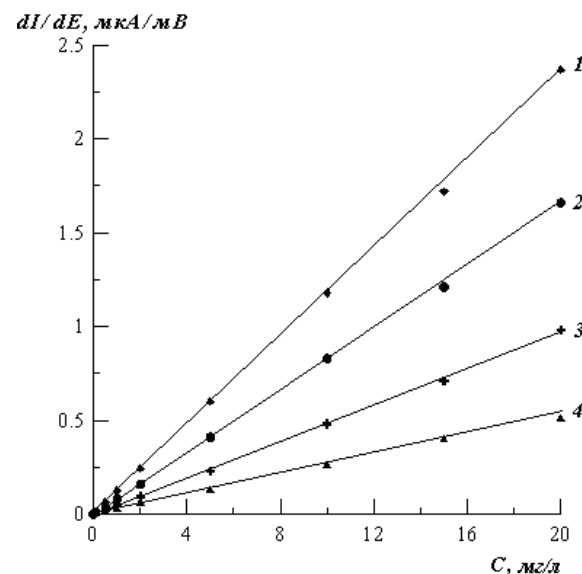


Рис. 1. Градуировочная зависимость электроокисления витамина С на модифицированных графитовых с различными заместителями: 1) ГЭ-СООН; 2) ГЭ-NH₂; 3) ГЭ-NO₂ и графитовом (4) электродах

Органо-модифицированные электроды ГЭ-СООН были использованы для ВА определения витаминов С и В₂. На рис. 2 приведена полученная вольтамперограмма для витамина В₂ (концентрация витамина В₂ в растворе 2,0 мг/л).

Для получения аналитических сигналов витамина В₁ на поверхность графитового и модифицированных различными заместителями электродов предварительно электрохимически была нанесена ртуть (ГЭ-Hg-СООН). Полученная вольтамперограмма для витамина В₁ представлена на рис. 3 (концентрация витамина В₁ в растворе 2,0 мг/л).

На примере модифицированного графитового электрода ГЭ-СООН было исследовано влияние концентрации модификатора и времени контакта графитового электрода с раствором диазониевой соли на аналитический сигнал витамина В₂. Оптимальной для приготовления ГЭ-СООН концентрацией арилдиазоний тозилатов является 0,1 ммоль/л, дальнейшее увеличение его концентрации приводит к снижению аналитического сигнала. Время контакта подложки графитового элект-

троя с раствором диазониевой соли с карбоксильным заместителем в пределах 5...10 с сравнительно мало влияет на величину аналитического сигнала, однако при увеличении времени контакта (от 15 до 30 с) наблюдается его снижение (табл. 1).

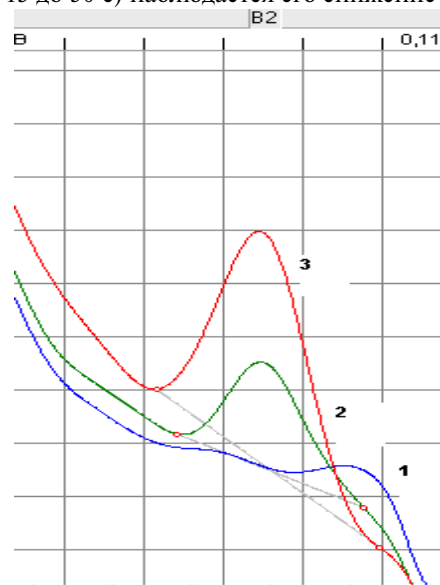


Рис. 2. Вольтамперограммы витамина B_2 : 1) фон 0,01M HCl; 2) витамин B_2 на ГЭ; 3) витамин B_2 на ГЭ-COOH

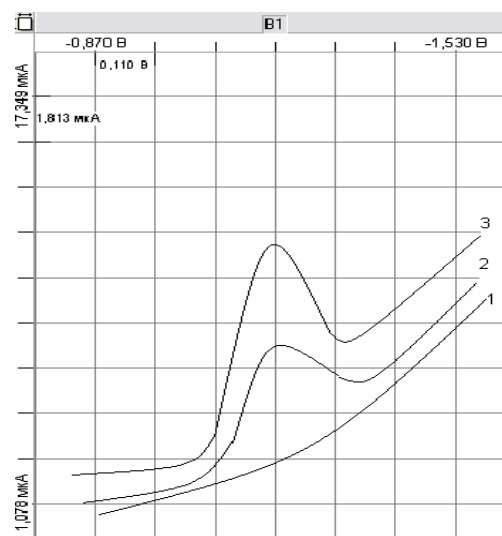


Рис. 3. Вольтамперограммы витамина B_1 : 1) фон 0,1M Na_2HPO_4 ; 2) витамин B_1 на ГЭ; 3) витамин B_1 на ГЭ-Hg-COOH

Данные эффекты можно объяснить образованием многослойных и менее прочных покрытий поверхности графитового электрода органическими фрагментами при увеличении концентрации диазониевых солей и продолжительном контакте с электродами.

Полученные электроды сохраняют свою стабильность в работе в течении 15–20 опытов и устойчивы при хранении в бидистиллированной воде не менее 3–4 суток. По истечению срока службы электродов возможна их повторная модификация.

Таблица 1. Зависимость тока пика витамина B_2 от условий получения ГЭ-COOH, концентрация витамина B_2 2,0 мг/л, фон – 0,01 M HCl

Концентрация соли 4- $COONC_6H_4N_2^+ TsO^-$, ммоль/л	Время погружения, с	Ток пика, мкА
0,1	5	$1,35 \pm 0,19$
0,1	10	$2,03 \pm 0,28$
1,0	5	$1,44 \pm 0,20$
1,0	10	$1,34 \pm 0,19$
2,0	5	$1,33 \pm 0,19$
2,0	10	$1,29 \pm 0,18$
3,0	5	$1,15 \pm 0,16$
3,0	10	$1,04 \pm 0,15$

На основе проведенных исследований предложены условия вольтамперометрического определения витаминов С, B_2 на ГЭ-COOH, а витамина B_1 на ГЭ-Hg-COOH и разработан алгоритм пробоподготовки для вольтамперометрического определения этих веществ в соках и сокосодержащих продуктах.

В качестве анализируемых объектов были взяты апельсиновый и яблочный соки различных марок, распространяемых на территории г. Томска и Томской области.

Правильность результатов была подтверждена методом «введено-найденно» (табл. 2).

Таблица 2. Результаты вольтамперометрического определения водорастворимых витаминов в соке «Фруто-няня» (ОАО «Лебедянский» ТУ 9163-074-18008485-08) методом «введено-найденно»

Определяемый витамин	Содержание витаминов, мг/100 мл			Погрешность определения, %
	Проба	Введено	Найдено	
С	$16,60 \pm 2,32$	10,0	$27,27 \pm 3,82$	14
B_1	$0,30 \pm 0,04$	0,5	$0,73 \pm 0,10$	18
B_2	$0,34 \pm 0,01$	0,5	$0,74 \pm 0,12$	15

На основе проведенных исследований была разработана методика вольтамперометрического определения витаминов С, B_1 , B_2 в соках и сокосодержащих продуктах на модифицированных тозалатными солями арилдиазония электродах. Нами были проанализированы соки «Добрый» и «J7» и проведена сравнительная оценка результатов, полученных по ранее известным ГОСТ Р [11], МУ [17, 18] и предложенной методике определения витаминов на модифицированных электродах (табл. 3). Содержание витамина С в данных соках по рецептуре не менее 20 мг/100 мл. Концентрация определяемых витаминов указана в таблице в мг/100 мл.

Из табл. 3 видно, что предложенная методика определения витаминов С и группы В на модифицированных электродах позволяет повысить чувствительность и уменьшить погрешность определения.

По предложенной методике был проведен анализ содержания водорастворимых витаминов в соках и нектарах известных марок (табл. 4).

Таблица 3. Сравнение результатов вольтамперометрического определения водорастворимых витаминов в соках по ГОСТ Р [11], МУ [17, 18] (числитель) и предложенной методикам (знаменатель)

Наименование сока	Содержание витаминов, мг/100 мл		
	С	В ₁	В ₂
«Добрый» (апельсин) (ЗАО «Мултон», ТУ 9163-001-56232828-2002)	18,35±3,67/21,02±2,94	Менее 0,01/0,008±0,001	Менее 0,02/0,009±0,001
«J7» (апельсин) (ОАО «Раменский молочный комбинат», ТУ 9163-052-05269043-05)	18,98±3,79/22,31±3,12	Менее 0,01/0,009±0,002	Менее 0,02/0,012±0,002

Таблица 4. Содержание водорастворимых витаминов в соках и нектарах различных марок (числитель – концентрация по рецептуре (мг/100 мл), знаменатель – экспериментально установленная концентрация (мг/100 мл))

Наименование сока	Витамин		
	С	В ₁	В ₂
«Фруто-няня» (яблоко-персик), (ОАО «Лебедянский», ТУ 9163-074-18008485-08)	15/16,60±2,32	0,35/0,30±0,04	0,40/0,34±0,05
«Моя семья» с витамином С (яблоко), (ОАО «Нидан соки», ТУ 9163-006-047823324-00)	Не менее 20/16,09±4,02	–/–	–/–
«Моя семья» (апельсин), (ОАО «Нидан соки», ТУ 9163-008-49085249-02)	Не менее 20/18,23±4,56	–/0,007±0,001	–/0,007±0,001
«Я» (апельсин), (ЗАО «Мултон», ТУ 9163-001-56232828-2002)	Не менее 20/22,54±3,16	–/0,02±0,003	–/0,04±0,006

Выводы

Предложен способ поверхностной модификации графитовых электродов тозилатными солями арилдиазония, позволяющий повысить чувствительность графитовых электродов в 3...4 раза. Исследовано влияние концентрации используемого модификатора и время контакта графитового электрода с раствором диазониевой соли на аналитический сигнал во-

дорастворимых витаминов (В₁, В₂ и С). Оптимизированы условия определения и разработана методика количественного химического анализа водорастворимых витаминов С, В₁, В₂ на модифицированных электродах в соках и нектарах. Погрешность определения составляет 14...18 %.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-13643-р-офи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Степанова Е.Н., Сапожникова Г.А., Нефедова Р.С. Сравнительное изучение различных методов определения витаминов в пищевых продуктах // Вопросы питания. – 1969. – Т. 28. – № 5. – С. 14–18.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1983. – 728 с.
3. Hehderleiter J.A., Hystop R.M. The analysis of riboflavin in urine using fluorescence // J. Chem. Educ. – 1996. – V. 73. – № 6. – P. 563–564.
4. Мелентьева Г.А. Фармацевтическая химия. – М.: Медицина, 1976. – 600 с.
5. Зуев И.В. Модификация флуориметрического микрометода для определения витаминов // Медицинский журнал Узбекистана. – 1984. – № 7. – С. 68–70.
6. Lumley I.D., Wiggins R.A. Determination thiamin and riboflavin in foodstuffs using high liquid chromatography // Analyst. – 1981. – V. 106. – № 1267. – P. 1103–1108.
7. Augustin Y. Simultaneous determination of thiamin and riboflavin in selected foods by high-performance liquid chromatography // J. Assoc. Offic. Anal. Chem. – 1984. – V. 67. – № 5. – P. 1012–1015.
8. Якушина Л.М. Использование методов высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения витаминов в биологических жидкостях и пищевых продуктах // Вопросы питания. – 1993. – № 1. – С. 43–48.
9. ГОСТ Р 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С.
10. ГОСТ Р 25999-83. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витаминов В₁ и В₂.
11. ГОСТ Р 52690-2006. Продукты пищевые. Вольтамперометрический метод определения массовой концентрации витамина С.
12. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Муринов Ю.И. Вольтамперометрия с модифицированными и микроэлектродами. – М.: Наука, 1994. – 239 с.
13. Berger F., Delhalle J., Mekhalif Z. Hybrid coating on steel: ZnNi electrodeposition and surface modification with organothiols and diazonium salts // Electrochimica Acta. – 2008. – V. 53. – № 6. – P. 2852–2861.
14. ТУ 4215-001-20694097–98. Комплекс СТА аналитический вольтамперометрический. Технические условия.
15. Filimonov V.D., Trusova M.E., Postnikov P.S., Krasnckutskaya E.A., et al. Unusually Stable, Versatile, and Pure Arenediazonium Tosylates: their Preparation, Structures, and Synthetic Applicability // Org. Lett. – 2008. – V. 10. – № 8. – P. 3961–3964.
16. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Постников П.С., Трусова М.Е., Фам Кам Ньюнг, Филимонов В.Д. Новые возможности вольтамперометрического определения фармацевтических препаратов на органо-модифицированных электродах // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2009. – Т. 75. – № 12. – С. 10–14.
17. МУ 08-47/164. Овощи, фрукты, ягоды и продукты их переработки, продукты детского питания. Вольтамперометрический метод определения массовой концентрации витамина В₁.
18. МУ 08-47/144. Продукты детского питания, соки, фрукты, ягоды и витаминизированные препараты. Вольтамперометрический метод определения массовой концентрации витамина В₂.

Поступила 27.05.2010 г.