

Методика количественного химического анализа грудного молока на содержание витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub> методом ИВ прошла метрологическую аттестацию и находится на стадии согласования и внесения в Федеральный Реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля.

#### Выводы

1. Разработаны методики количественного химического анализа грудного молока на содержание ви-

таминов В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub> методами инверсионной вольтамперометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. ИВ-методика метрологически аттестована. Результаты анализа на содержание витаминов сопоставимы, и отвечают метрологическим показателям межлабораторных испытаний.

2. При сравнении разработанных методик выявлено преимущество метода ИВ по таким показателям, как время анализа (сокращено в два раза), количество используемых реактивов и стоимость оборудования.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Лукоянова О.Л. Витамины в питании кормящей женщины и ее ребенка // Гинекология. – 2002. – № 4. – С. 56–58.
2. Nehderleiter J.A., Hystop R.M. The analysis of riboflavin in urine using fluorescence // J. Chem. Educ. – 1996. – V. 73. – № 6. – P. 563–564.
3. Amin M., Rresch J. High-performance liquid chromatography of water-soluble vitamins. Simultaneous determination of vitamins В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> and В<sub>12</sub> in pharmaceutical preparations // J. Chromatogr. – 1987. – V. 13. – № 7. – P. 448–453.
4. ТУ 4215-001-20694097. Комплекс аналитический вольтамперометрический СТА. Технические условия.
5. US.C.31.004.A № 12656. Хроматограф жидкостной. Сертификат об утверждении средств измерений.
6. МУ 08-47/144. Продукты детского питания, соки, фрукты, ягоды и витаминизированные препараты. Вольтамперометрическое определение массовой концентрации витамина В<sub>2</sub>. – 2004.
7. МУ 08-47/164. Овощи, фрукты, ягоды и продукты их переработки, продукты детского питания. Вольтамперометрический метод определения массовой концентрации витамина В<sub>1</sub>. – 2005.
8. РМГ 61-2003. ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – 2003.

Поступила 04.03.2008 г.

УДК 543.544.45

### ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ТОКОФЕРОЛА АЦЕТАТА НА СИЛИКАГЕЛЬ, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ АЦЕТИЛАЦЕТОНАТОМ НИКЕЛЯ

А.Г. Кузьмина, М.А. Гавриленко, Ж.В. Малышева, И.И. Устименко

Томский государственный университет  
E-mail: gavrilenko@mail.tsu.ru

*Показана возможность концентрирования токоферола ацетата в присутствии других органических молекул на привитый к силикагелю слой ацетилацетоната никеля. Определены оптимальные условия концентрирования и последующей десорбции. Приведены результаты определения витамина Е в поливитаминных препаратах.*

Аналитические методы детектирования низких концентраций витаминов в природных объектах и пищевой продукции требуют специальной пробоподготовки для минимизации влияния мешающих веществ и концентрирования аналита. Процедура твердофазной экстракции требуется для повышения точности и предела хроматографического определения витаминов в молоке [1], биологических жидкостях [2, 3] и растительных экстрактах [4–6]. К сорбентам для твердофазной экстракции предъявляется ряд требований, таких как достаточная сорбционная емкость, селективность, химическая и механическая устойчивость, индифферентность по отношению к растворителю и возможность полной десорбции сорбированного вещества.

Сорбционная емкость используемых в настоящее время сорбентов достаточно велика для полного извлечения целевого вещества, поэтому основным параметром выбора становится селективность, которая может быть достигнута химической, физической или комбинированным модифицированием поверхности основы [7]. В числе модификаторов могут быть использованы комплексы металлов, жидкие кристаллы, макрохелаты или другие металлорганические соединения в виде адсорбционных слоев или в составе комбинированных фаз с полимерами [8–12].

В связи с этим, актуальной проблемой остается поиск и целенаправленное создание модифицированных сорбентов для избирательной твердофазной

экстракции компонентов сложных органических смесей с возможностью дальнейшей десорбции и аналитического определения целевого вещества.

Целью настоящей работы было изучение сорбционной способности по отношению к токоферола ацетату (ТА) силикагеля, модифицированного поверхностными слоями ацетилацетоната никеля (*Ni-acac*), нанесенными адсорбцией (адсорбционно модифицированный силикагель, АМС) или синтезированными методом молекулярного наслаивания (химически модифицированный силикагель, ХМС).

### Экспериментальная часть

Органические кислоты и ТА анализировали в виде триметилсилильных производных на газовом хроматографе/масс-спектрометре Finnigan Trace DSQ с капиллярной колонкой HP-5 длиной 30 м и диаметром 0,32 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0,25 мкм. Температура детектора и инжектора составляла 320 °С, использовали делитель потока 1:40, скорость гелия 2 мл/мин. Режим программирования температуры от 200 до 300 °С со скоростью 5 °С/мин.

Летучие производные получали путем выпаривания раствора кислот при пониженном на 20–60 мм.рт.ст. давлении и температуре 40 °С в роторном испарителе ИРМ-120 и обработкой концентрата 2 мл силанизирующей смеси (пиридин : гексаметилдисилозан : триметилхлорсилан 5:2:1). Силанизированные образцы сушили при температуре 30 °С и растворяли в 0,5 мл гексана.

Адсорбция ТА из этанольного раствора на твердый сорбент изучена в присутствии различного количества 0,25, 0,5, 0,75 и 1,0 г сорбента, как исходного силикагеля, так и модифицированного поверхностным слоем *Ni-acac*. Раствор объемом 15 мл помещали в колбы объемом 25 мл и продували потоком гелия со скоростью 0,5 мл/мин для предотвращения окисления ТА кислородом воздуха. Встряхивание колб проводили при 25 °С в течение 12 ч. Для определения наступления момента равновесия каждые 30 мин отбирали аликвоту раствора объемом 0,2 мкл.

Для определения сорбции ТА в смеси с органическими кислотами в этанольном растворе аликвоту пробы объемом 10 мл, содержащую по 7 мг каждого компонента, перемешивали с 0,3 г сорбента в течение 4 ч, затем сорбент отделяли фильтрованием и измеряли концентрацию ТА в объеме фильтрата методом газовой хроматографии.

ХМС приготовлен путем нанесения  $NiCl_2$  на активированный азотной кислотой Силипор 075 с последующим синтезом на поверхности *Ni-acac* [13]. Образование *Ni-acac* на поверхности подтверждено ИК-спектрами на спектрофотометре Nicolet 5700. Для сравнения использовали АМС с 1,3 мас. % слоя хелата, что соответствует количеству *Ni-acac* в ХМС.

В работе использованы реактивы марок «х.ч.» и «ч.д.а.». Ацетат токоферола соответствовал градации 99,5 % (Fluka) с плотностью 0,950 г/мл.

### Результаты и их обсуждение

Твердофазная экстракция ТА модифицированным силикагелем исследована как функция равновесной концентрации. Установлено возрастание селективности экстракции по сравнению с исходным силикагелем, что, вероятно, является следствием формирования поверхностных комплексов, в котором каждая молекула витамина взаимодействует с несколькими сорбционными центрами.

Время, необходимое для достижения адсорбционного равновесия, определяли из кинетических зависимостей. Установлено, что адсорбционное равновесие достигается в течение 3...4 ч контакта с раствором, причем для более полярного исходного силикагеля необходимо большее время для достижения равновесия. Изотермы адсорбции-десорбции существенно различаются для исходного и модифицированного силикагеля, рис. 1. Адсорбционные кривые соответствуют Ленгмюровскому типу. Наивысшее значение адсорбции ТА достигнуто при равновесных концентрациях равных 3...4 мг/мл, что соответствует 0,087 мг/м<sup>3</sup> (~26 мг/г силикагеля). Для исходного силикагеля и АМС десорбционная ветвь изотермы совпадает с адсорбционной в широком интервале равновесных концентраций ТА, что свидетельствует о его слабом удерживании на поверхности этих сорбентов.

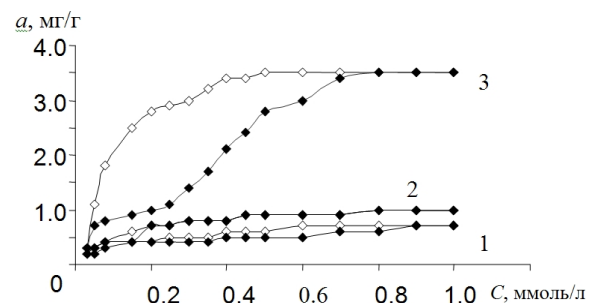


Рис. 1. Изотермы адсорбции-десорбции токоферола ацетата на поверхности: 1) исходного силикагеля; 2) адсорбционно модифицированного силикагеля; 3) химически модифицированного силикагеля при 22 °С

Важной экспериментально определяемой характеристикой адсорбции является время контакта сорбента с раствором (рис. 2). Время достижения равновесия может варьироваться от нескольких минут до суток в зависимости от сорбента, сорбируемого вещества и условий [14]. Установлено, что равновесие при адсорбции ТА достигается в течение 4 ч для всех исследованных сорбентов. При различных температурах время достижения равновесия меняется (рис. 3). Наибольшее количество сорбированного вещества отмечено для ХМС вследствие структурирования поверхностного слоя, что позволяет реализовать взаимодействия иона металла в хелатном комплексе с ТА.

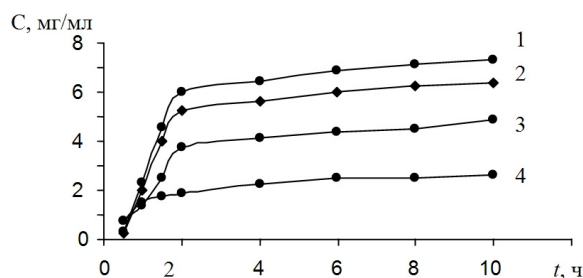


Рис. 2. Зависимость количества сорбированного токоферола ацетата от массы химически модифицированного силикагеля: 1) 1,0; 2) 0,75; 3) 0,5; 4) 0,25 г

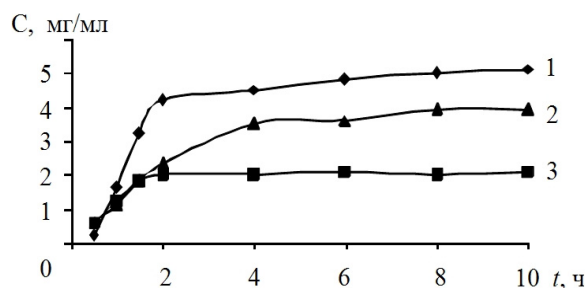


Рис. 3. Зависимость адсорбции токоферола ацетата силикагелем с синтезированным слоем Ni-acac массой 0,5 г при: 1) 10; 2) 25; 3) 45 °C

Для установления прочности сорбции ТА адсорбировали на поверхность модифицированного силикагеля массой 0,3 г из 25 мл 5 % этанольного раствора. Затем сорбент высушивали на воздухе при 60 °C в течение 3 ч. После такой обработки ТА вымывается с поверхности исходного силикагеля и АМС полностью после четырех промываний дистиллированной водой при 25 °C. Контроль полноты десорбции проводили по ИК-спектрам. Для ХМС полная десорбция ТА не наблюдается после 6 циклов смывания водой при 40 °C. Полученный результат показывает возможность использования привитого слоя Ni-acac для экстракции ТА из жидких сред. Полная десорбция достигается после промывания сорбента 2 мл гексана.

Таблица 1. Характеристики поверхности исследованных силикагелей

Сорбент	Площадь удельной поверхности, м <sup>2</sup> /г	Содержание Si-OH групп на нм <sup>2</sup>	Количество хелатных центров, ммоль/г	Количество адсорбированного токоферола ацетата, ммоль/г
Силипор 075	82±2	12	0,0	0,077
ХМС	71±2	2	0,45	0,170
АМС	74±3	2	0,55	0,150

Рассчитанные значения максимума адсорбции токоферола на поверхности силикагеля и экспериментальные данные порометрии после вакуумной термодесорбции приведены в табл. 1. Экспериментальные данные адсорбции ТА существенно ниже рассчитанных максимумов адсорбции при условии плотного расположения молекул на поверхности силикагеля (посадочная площадка ТА равна

2,83 нм<sup>2</sup>). Это может быть объяснено при условии сорбции каждым хелатным ансамблем одной молекулы ТА с учетом стерических затруднений, запрещающих захват молекулы токоферола соседними центрами, что обеспечивает изоляцию получаемых структур.

При модифицировании носителя синтезированными комплексами первоначально модификаторы оседают по краям пор. Поскольку «посадочная площадка» исследуемых хелатов составляет около 0,5 нм<sup>2</sup>, а диаметр большинства пор в несколько раз превосходит эту величину, поверхностный слой формируется на всей доступной поверхности носителя. В дальнейшем, при увеличении количества поверхностного слоя хелата, на привитом слое модифицирующего комплекса образуются островковые структуры в виде ассоциатов с углеводородными гранями, что снижает селективность разделения.

Методами Хартри-Фока, теории функционала плотности и теории возмущения Меллера-Плессе второго порядка выполнены квантово-химические расчеты с полной оптимизацией геометрии Ni-acac в комплексе с α-ТА по программе «Природа-04». Методы, явно учитывающие электронную корреляцию, свидетельствуют о сохранении общей структуры поверхностного ансамбля за счет образования координационных связей никеля в ацетилацетонате и кислородом α-ТА, рис. 4. Расчеты методом Хартри-Фока дают односторонне плоское строение комплекса.

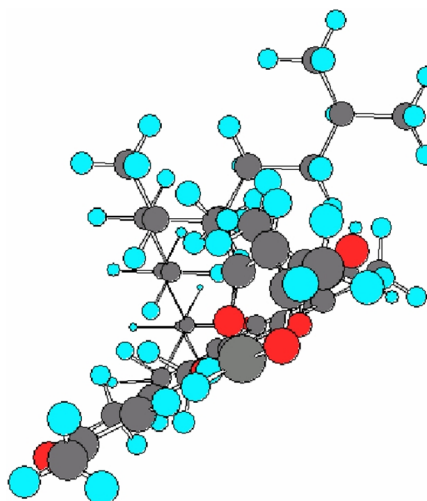


Рис. 4. Схема координационного комплекса химически модифицированного силикагеля с токоферола ацетатом, оптимизированного по плотности функционала методом Хартри-Фока

Односторонне-плоское строение ХМС увеличивает селективность твердофазной экстракции по сравнению с исходным сорбентом и АМС вследствие формирования поверхностных комплексов в котором каждая молекула ТА взаимодействует с одним или несколькими сорбционными центрами. Селективность извлечения ТА показана в присут-

ствии органических кислот в растворе этанола. Данные экспериментов по сорбции и последующей десорбции ТА на исходный и модифицированные силикагели массой по 0,3 г приведены в табл. 2.

**Таблица 2.** Количественные данные сорбции и десорбции ТА в присутствии органических кислот, мг

Силипор	Сорбция			
	ТА	Пальметиновая кислота	Стеариновая кислота	Олеиновая кислота
Исходный	7,0±0,2	6,3±0,1	6,8±0,1	7,1±0,2
ХМХ	7,0±0,1	2,2±0,1	1,9±0,2	3,3±0,1
АМХ	5,3±0,2	3,7±0,1	5,0±0,3	5,1±0,1
Десорбция				
Исходный	6,4±0,1	6,0±0,3	6,0±0,3	6,5±0,1
ХМХ	7,0±0,3	1,9±0,2	2,0±0,3	3,1±0,2
АМХ	5,2±0,1	3,0±0,3	4,6±0,1	3,4±0,2

**Таблица 3.** Определение содержания токоферола ацетата в витаминных препаратах с различными способами пробоподготовки (n=4–6)

Препарат	Содержание ТА, мг		
	Заявленное	Пробоподготовка ТФЭ на хелатсодержащем сорбенте	Жидкостная экстракция
Юникап М	10,0	9,4±0,3	9,1±0,4
Мульти-Табс	10,0	9,5±0,3	9,5±0,3
Триовит	40,0	41,2±0,4	38,3±0,5
Антиоксикапс	30,0	28,9±0,5	28,5±0,5

Изучено влияние компонентов ряда витаминных препаратов на величину экстракции ТА. В ка-

честве объектов исследования использованы препараты, содержащие комплекс витаминов (табл. 3). Для определения ТА образец препарата растворяли в 5 мл этанола. Раствор пропускали через концентратор с 0,3 г ХМС, затем трехкратно промывали 1 мл дистиллированной воды для удаления водорастворимых веществ и осуществляли смывание 0,5 мл гексана. Независимый контроль осуществляли с пробоподготовкой жидкостной экстракцией ТА, описанной ранее [6].

Из таблицы видно, что препараты имели сопоставимое содержание ТА, причем заявленное содержание соответствует определяемой величине. Результат, полученный жидкостной экстракцией, характеризуется более широким доверительным интервалом, что является естественным следствием потерь анализа на стадии отделения экстрагента от анализируемого раствора. ТФЭ на твердых хелатсодержащих сорбент позволяет сократить число стадий пробоподготовки и избежать влияния мало-растворимых в этаноле веществ.

### Выводы

Силикагель с химически привитым поверхностным слоем Ni-*acas* может быть эффективно использован для твердофазной экстракции в пробоподготовке при определении токоферола ацетата. Полная сорбция достигается после 4-х ч экстракции 0,3 г химически модифицированного силикагеля слоем ацетилацетоната никеля из 10 мл анализируемого раствора при 22 °С.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рыке А., Sliwiok J. Chromatographic separation of tocopherols // J. Chromatogr. – 2001. – V. 935. – P. 71–73.
2. Михеева Е.В., Анисимова Л.С. Физико-химические методы определения витамина Е в различных объектах // Заводская лаборатория. – 2005. – Т. 71. – № 2. – С. 3–7.
3. Thurman E.V., Mills M.S. Solid-Phase extraction. Principles and Practice. – NY: Wiley, 1998. – 123 p.
4. Ball G.F.M. Handbook of food analysis. – NY: Marcel Dekker, 1996. – 318 p.
5. Chu B.S., Baharin B.S., Che Y.B. Man et al. Separation of vitamin E from palm fatty acid distillate using silica: Equilibrium of batch adsorption // J. Food Engineering. – 2004. – V. 62. – P. 97–101.
6. Bruni R., Medici A., Guerrini A. et al Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild Ecuadorian Theobroma subincanum (Sterculiaceae) seeds // J. Food Chemistry. – 2002. – V. 77. – P. 337–340.
7. Лисичкин Г.В. Химия привитых поверхностных соединений. – М.: Физматлит, 2003. – 592 с.
8. Березкин В.Г. Газо-жидко-твердофазная хроматография. – М.: Химия, 1986. – 112 с.
9. Vansant E.F., Van Der Voort P., Vrancken K.C. Characterization and Chemical Modification on the Silica Surface. – Amsterdam: Elsevier, 1995. – 184 p.
10. Гавриленко М.А. Разделение кислородсодержащих соединений на слоях диэтилдитиокарбаматов металлов // Аналитика и контроль. – 2004. – Т. 8. – № 4. – С. 36–41.
11. Fadeev A.Y., Lisichkin G.V. Adsorption on New and Modified Inorganic Sorbents // Studies in Surface Science and Catalysis. – 1995. – V. 99. – P. 191–213.
12. Слизов Ю.Г., Гавриленко М.А. Комплексообразование с участием хелатов металлов на границе раздела фаз в газовой хроматографии // Журнал координационной химии. – 2002. – Т. 28. – № 10. – С. 783–800.
13. Пат. 2314153 РФ. МПК<sup>7</sup> B01J 20/283. Способ получения композитного сорбента / М.А. Гавриленко, Ю.Г. Слизов. Заявлено 14.04.2006; Опубликовано 10.01.2008, Бюл. 1. – 12 с.
14. Мелихов И.В., Бердоносина Д.Г., Сигейкин Г.И. Механизм сорбции и прогнозирование поведения сорбентов в физико-химических системах // Успехи химии. – 2002. – Т. 71. – № 2. – С. 159–179.

Поступила 02.04.2008 г.