

© Купчик О.Ю., 2015

Чернігівський національний педагогічний університет
імені Т.Г. Шевченка, вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів,
14013, Тел. 3-36-10; E-mail chnpu @ chnpu.edu.ua

ВИЗНАЧЕННЯ БЕНЗОЙНОЇ ТА СОРБІНОВОЇ КИСЛОТ МЕТОДОМ МІЦЕЛЯРНОЇ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Метод міцелярної тонкошарової хроматографії використано для розділення кислот-консервантів: бензойної та сорбінової. Найліпший результат розділення бензойної та сорбінової кислот на нормально-фазових пластинках Sorbfil UV-254 отримано з гібридним міцелярним елюентом, що містить додецилсульфат натрію з молярною концентрацією $5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л та 1-бутанолом з об'ємною часткою 2 %, доведений до рН 3 хлоридною кислотою. Запропонована методика апробована на визначенні кислот-консервантів у алкогольному напої. Застосування міцелярного елюенту дозволило скоротити час розділення в порівнянні з використанням елюенту на основі органічних розчинників.

Ключові слова: міцелярна тонкошарова хроматографія, додецилсульфат натрію, бензойна кислота, сорбінова кислота, консерванти.

У сучасному виробництві продуктів харчування, ліків, косметичі та парфумерних товарів широко використовуються хімічні речовини – консерванти. До найбільш розповсюджених консервантів продуктів харчування відносяться бензойна та сорбінова кислоти [1].

Аналітичне визначення консервантів відіграє важливу роль у забезпеченні якості потреби товарів, захисту інтересів і безпеки споживача. Немає універсальних консервантів, які були б придатні для всіх продуктів споживання. Усе частіше для розширення спектра антимікробної дії використовуються суміші консервантів. Серед методів контролю вмісту консервантів найбільший інтерес представляють методи, що забезпечують одночасно селективне виявлення окремих консервантів у продуктах харчування.

Для попередньої оцінки вмісту консервантів часто використовують метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). У 1979 Армстронг запропонував використовувати в ТШХ нові екологічно безпечні елюенти – міцелярні розчини поверхнево-активних речовин (ПАР), що покляло початок новому розділу ТШХ – міцелярній тонкошаровій хроматографії (МТШХ) [2]. Застосуванню МТШХ присвячений багато статей [3–7], у яких зазначені основні переваги даного методу, заснованого на екологічній безпеці розчинів ПАР, їх біорозкладі,

солубілізуючої дії та відносно дешевій вартості.

За останні роки для визначення окремих консервантів у продуктах харчування запропоновані методики обернено-фазової рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ), газової хроматографії, капілярного електрофорезу, міцелярної електрокінетичної хроматографії, міцелярної рідинної хроматографії [8].

Метою даної роботи є пошук розчинів аніонної ПАР, які придатні як рухомі фази для ТШХ-розділення бензойної та сорбінової кислот.

Для приготування елюентів використовували: етанол (відігнаний; фракція, що кипить при 78,39 °С, густина 0,7893 г/см³); 1-пропанол (Merk; осч, 99,9 % основного компонента, фракція, що кипить при 97,4 °С, густина 0,8035 г/см³); 1-бутанол (відігнаний; фракція, що кипить при 117 °С, густина 0,8099 г/см³); 1-пентанол (відігнаний; фракція, що кипить при 137,8 °С, густина 0,8144 г/см³); петролейний естер (Hltermann Products, Німеччина; фракція, що кипить при 40–70 °С); хлороформ, (Merk; осч, 99,0–99,4 % (в/в), густина 1,479–1,482 г/см³, фракція, що кипить при 60–62 °С); діетиловий етер (Hltermann Products, Німеччина; фракція, що кипить при 34,6 °С); мурашина кислота (Hltermann Products, Німеччина; ч., фракція, що кипить при 101 °С, густина 1,22 г/см³; 85,0 % основного компоненту); додецилсульфат натрію, ДСН (Merk,

густина $1,014 \text{ г/см}^3$). Значення рН рухомих фаз варіювали від 1,5 до 10 за допомогою хлороводневої кислоти, гідроксиду натрію та фосфатних буферних розчинів.

Вихідні розчини бензойної кислоти (Sigma) та сорбінової кислоти (Sigma) готували за точно зваженими наважками речовин і переносили їх у мірні колби та доводили до мітки етиловим спиртом.

При проведенні аналізу використано таке обладнання: камера для хроматографування; пластини для тонкошарової хроматографії фірми "Sorbfil", сорбент-силікагель, товщина шару складає 110 мкм; піпет дозатор «Fisher Scientific» ($V=1-10\text{мл}$, зроблено в США); піпет дозатор «Fisher Scientific» ($V=10-100\text{мл}$, зроблено в США); лампа УФО-254 (опромінювач бактерицидний стельовий ОБС УХП 41 ТУ 46-22-137-80). Об'єм проби, що наносили, складає 3 мкл. Нанесення проводили висушуванням проби в потоці теплого повітря.

Для вимірювання рН використовували рН-метр з індикаторним скляним електродом ЕСЛ 43-07 та хлорсрібним полуелементом порівняння ЕВЛ-1МЗ.

Хроматографічні зони виявляли при опроміненні УФ-світлом з довжиною хвилі 254 нм як темні плями на флуоресцируючому фоні пластинки. Як характеристики хроматографічної зони розглядали значення фактора запізнення (R_f), форму та інтенсивність плями.

Оптимальні умови хроматографування обирали, вивчаючи залежність R_f реагентів від концентрації міцелярних розчинів, кислотності середовища та добавки спиртів-модифікаторів.

Дослідження впливу концентрацій ДСН у широкому діапазоні на хроматографічне розділення консервантів показали, що використання міцелярного розчину ДСН недоцільне. Варіювання концентрації ДСН у доміцелярній області дозволило підібрати умови, при яких розділення реагентів задовільне. Установлено, що оптимальна концентрація ДСН складає $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л (рис. 1.1)

Плями стандартних розчинів мають різну рухливість, великі за розміром, за рахунок чого в суміші відбулося неповне розділення, бо плями розташовані близько одна до одної.

Рухомість компонентів суміші, яку розділяли, не змінюється при варіюванні рН елюенту. Відомо, що одним із прийомів, які поліпшують хроматографічні характеристики, є введення в міцелярну рухому фазу органічних розчинників, а саме спиртів: 1-пропанолу, 1-бутанолу та 1-пентанолу з такими об'ємними частками 1 % – 15 %, 1 % – 5 %, 1 % – 2 %, відповідно [9, 10] (рис. 1.2-1.4).

Порівнюючи отримані хроматограми (рис. 1), встановили, що найліпшим модифікатором є 1-бутанол. Елюент, модифікований 1-пропанолом та 1-пентанолом, не зовсім підходить для визначення кислот-консервантів, бо плями, що їм відповідали, накладалися одна на одну та мали неправильну форму.

Крім того, для всіх добавок спиртів-модифікаторів встановлено відносно швидкість переміщення речовини в тонкому шарі сорбенту, що характеризує коефіцієнт рухомості R_f і залежність R_f від добавки спирту-модифікатора (рис. 2).

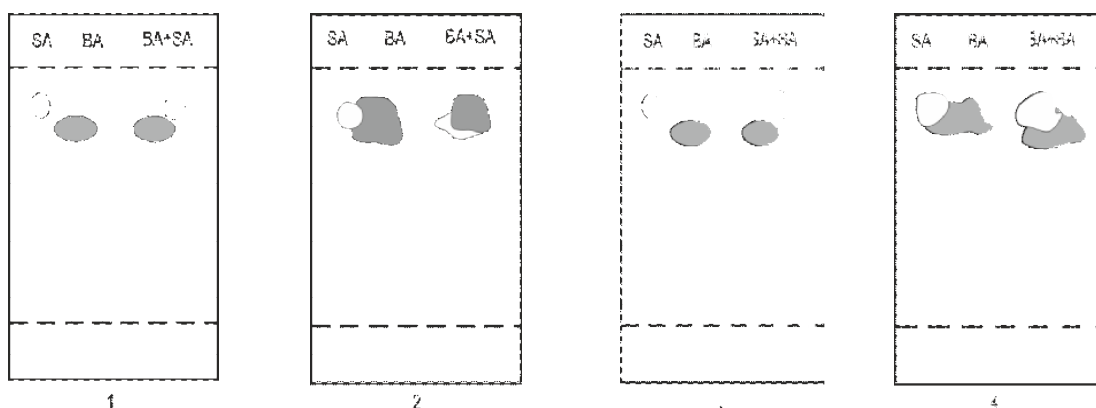


Рис. 1. Хроматограми ВА та СА; $C_{\text{ДСН}}=5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $\text{pH} \approx 3$ з додаванням модифікаторів:
1 – без додавання спирту; 2 – ф (1-пропанол) = 1 %, 3 – ф (1-бутанол) = 2 %, 4 – ф (1-пентанол) = 2 %

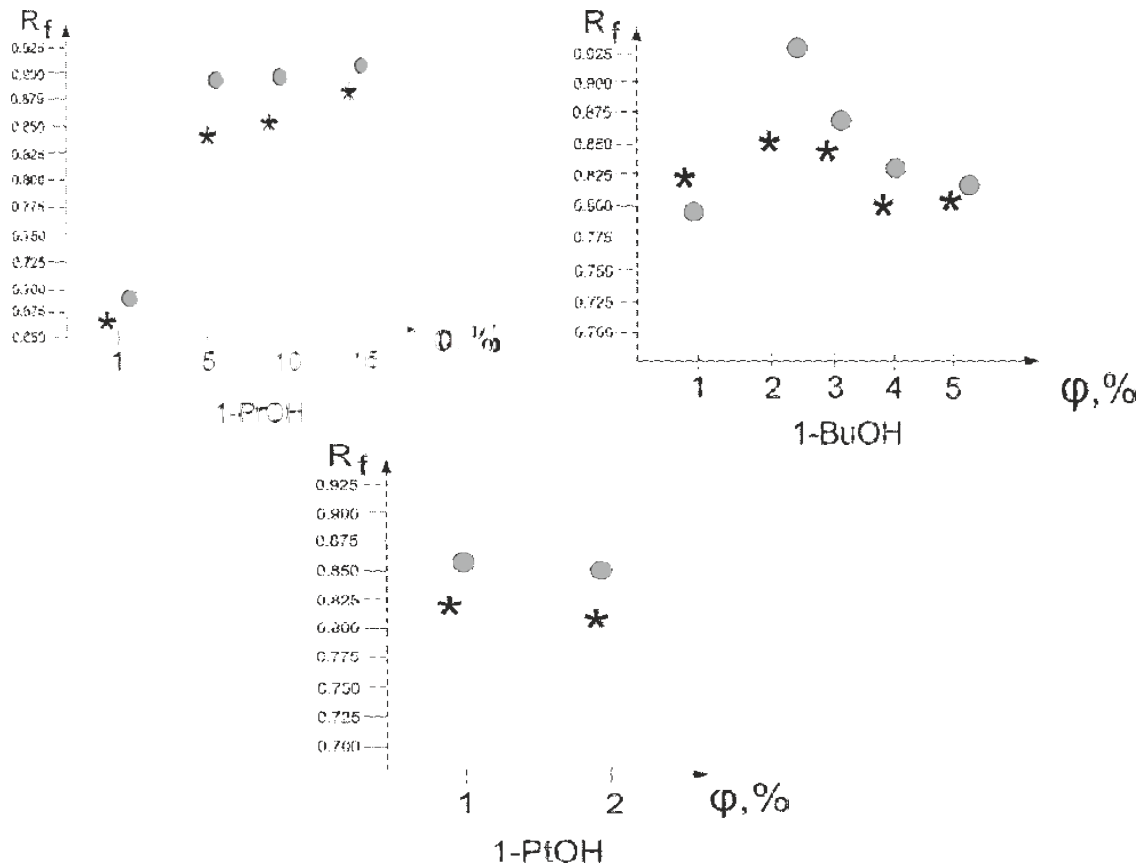


Рис. 2. Залежність величини R_f від добавок 1-пропанолу, 1-бутанолу та 1-пентанолу, * - SA, ● - $C_{ДСН} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л

Отже, встановлено, що оптимальне розділення бензойної та сорбінової кислот досягається при додаванні 1-бутанолу з об'ємною часткою 2 %.

Методику МТШХ порівняно з методикою традиційної ТШХ, у якій використовуються водно-органічні елюенти – суміш петролейний естер:хлороформ: діетиловий етер:мурашина кислота (20:8:2,8:1,2) [11]. У результаті хроматографування отримана хроматограма розділення суміші кислот-консервантів (рис. 3.).

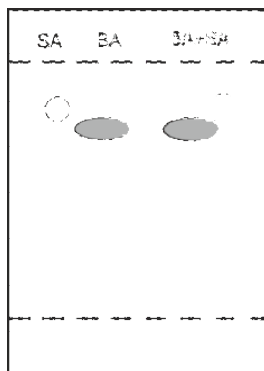


Рис. 3. Хроматограма кислот та їх суміші на основі водно-органічних елюентів — петролейний етер:хлороформ:діетиловий етер:мурашина кислота 20:8,0:2,8:1,2

У табл. 1 представлено розраховані час аналізу, різниця значення R_f сусідніх плям кислот-консервантів і токсичність з елюентом на основі суміші органічних розчинників і ПАР.

Порівнюючи значення різниці коефіцієнта рухомості бензойної та сорбінової кислот у випадку їх одночасної присутності, можна зробити висновок, що для ТШХ-розділення кислот-консервантів ліпшим елюентом є міцелярний розчин ДСН, модифікований 1-бутанолом. Також варто відзначити, що використання водних розчинів ПАР дозволяє обійтися без довготривалої операції, обов'язкової при використанні елюентів на основі органічних розчинників – попереднього насичення хроматографічної камери парами елюентів. Крім того, при використанні модифікованих розчинів ПАР як елюентів вартість аналізу зменшується приблизно у два рази в порівнянні з використанням суміші органічних розчинників. І ще: деякі компоненти органічної суміші є прекурсорами і для роботи з ними обов'язково треба мати відповідну ліцензію, а компоненти міцелярного елюенту – загальнодоступні.

Придатність запропонованого міцелярного елюенту випробували на реальному зразку — журавлині на коньяку «Nemiroff».

Таблиця 1

Характеристика методик ТШХ-розділення кислот-консервантів з використанням елюентів на основі ДСН і суміші органічних розчинників.

Характеристика	Склад елюентів	
	ДСН ($C = 5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л) + 1-бутанол ($\varphi = 2\%$)	Петролейний етер: Хлороформ: Діетиловий ефір: Мурашина кислота (20:8:2,8:1,2)
Час аналізу, хв	70	100 (час насичення камери парами елюенту 1 год, час розвитку хроматограми 40 хв)
ΔR_f	0,07	0,08
Токсичність	ДСН – за своїми властивостями не токсичний [12]	Найбільш токсичний компонент – хлороформ [13]

Попередня пробопідготовка не потрібна, тому що вибраний зразок уже є спиртовим розчином. Для проведення напівкількісного визначення бензойної кислоти на пластинку наносили 10 мкл проби, а поряд по 3 мкл стандартного розчину бензойної кислоти ($C_0 = 0,06; 0,20; 0,33; 0,46; 0,60$ моль/л) у цьому ж елюенті, тобто етанолі. Порівнювали інтенсивність плям проби та плям, що складають шкалу порівняння. Приклад визначення наведено на хроматограмі (рис. 4).

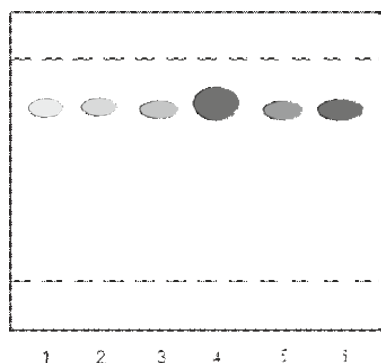


Рис. 4. Визначення вмісту бензойної кислоти в реальному зразку шляхом порівняння зі стандартною шкалою. Стандартні розчини ВА ($V_{пр} = 3$ мкл): 1 – $C_0 = 0,06$ моль/л; 2 – $C_0 = 0,20$ моль/л; 3 – $C_0 = 0,33$ моль/л; 4 – проба; 5 – $C_0 = 0,46$ моль/л; 6 – $C_0 = 0,60$ моль/л

Установлено, що кількість бензойної кислоти відповідає $0,6$ моль/л або 72 г/л, що входить у межі допустимих значень [14].

Висновки

1. Для ідентифікації таких харчових консервантів, як бензойна і сорбінова кислоти,

можливе використання методу МТШХ на основі додецилсульфату натрію.

2. Міцелярнхроматографічне розділення бензойної та сорбінової кислот методом ТШХ поліпшується при використанні гібридного міцелярного елюенту складу: додецилсульфат натрію ($C = 0,005$ моль/л), 1-бутанол ($\varphi = 2\%$) за $pH = 3$.

3. Розроблена методика дозволяє ідентифікувати та контролювати вміст бензойної та сорбінової кислот у напоях методом МТШХ.

Автор висловлює подяку інженеру I категорії випробувальної лабораторії харчової та сільськогосподарської продукції ДП «Луганськстандартметрологія» Ю.В. Панченко за допомогу в проведенні експерименту

Література

1. Булдаков А. Пищевые добавки. Справочник / А. Булдаков. – Санкт-Петербург, «УТ», 1996. – 240 с.
2. Armstrong D.W. Use of Aqueous Micellar Mobile Phases in Reverse Phase TLC / D.W. Armstrong, K.H. Bui // J. of Liquid Chromatograph. – 1982 – Vol.5 (6). – P. 1043–1050.
3. Штыков С.Н. Применение мицеллярных подвижных фаз для разделения производных флуоресцеина методом ТСХ / С.Н. Штыков, Е.Г. Сумина, Е.В. Паршина, С.С. Лопухова // Журнал аналитической химии. – 1995. – Т.50, №7. – С.747–751.
4. Штыков С.Н. Мицеллярная тонкослойная хроматография: особенности и аналитические возможности / С.Н. Штыков,

- Е.Г. Сумина, Н.В. Тюрина // Рос. хим. журн. – 2003. – №1. – С. 119–125.
5. Shtukov S.N. Micellar Mobile Phases for the TLC Separation of some Transition Metal Ions and their 1,3-Decetonates / S.N. Shtukov, E.G. Sumina, N.V. Tyurina // J. of Planar Chromatography. – 2000. – Vol.13. – P. 266–270.
6. Логинова Л.П. Контроль содержания п-гидроксibenзойной кислоты и парабенов в косметических средствах методом мицелярной тонкослойной хроматографии / Л.П. Логинова, Д.В. Едаменко, А.Ю. Куликов, А.Н. Лавриненко // Вісник ХНУ, 2006. – №731. Хімія. Вип.14 (37). – С. 127–134.
7. Ренкевич А.Ю. Разработка и валидация методики количественного определения 4-аминобутановой кислоты в таблетках алендроната натрия методом мицелярной тонкослойной хроматографии / А.Ю. Ранкевич, А.Ю. Куликов // Методы и объекты химического анализа. – 2013. – № 4. – С. 199–206.
8. Купчик Е.Ю. Определение бензойной и сорбиновой кислот в продуктах питания методом мицелярной жидкостной хроматографии / Е.Ю. Купчик // Наукові праці Донецького національного технічного університету. – 2014. – №1. – С. 157–163.
9. Саввин С.Б. Поверхностно-активные вещества / С.Б. Саввин, Р.К. Чернова, С.Н. Штыков – М.: Наука, 1991. – 251 с.
10. Berthod A. Micellar Liquid Chromatography / A. Berthod, M.C. Garcia-Alvarez-Coque. – New York: Marcel Dekker, 2000. – 632 p.
11. Способ количественного определения бензойной и сорбиновой кислот в пищевых продуктах и напитках. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.findpatent.ru/patent/164/1644880.html>.
12. Абрамзон А.А. Поверхностно-активные вещества: Справочник / А.А. Абрамзон – Л.: Химия, 1979. — 326 с.
13. Исаев Л.К. Контроль химических и биологических параметров окружающей среды / Л.К. Исаев – Санкт-Петербург: Союз, 1998. – 851 с.
14. Додаток № 1 до Санітарних правил і норм по застосуванню харчових добавок (втратив чинність на підставі Наказу МОЗ № 218 (z0569-98) від 23.07.98).

Summary

Kupchik E.Yu.

DETERMINATION OF BENZOIC AND SORBIC ACIDS USING MICELLAR THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Method of micellar layer chromatography was used to separate acid-preservatives: benzoic and sorbic. The best result of the separation of benzoic and sorbic acids in normal-phase plates Sorbfil UV-254 obtained with the hybrid micellar eluent containing sodium dodecyl sulfate with molar concentration of $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol/L and 1-butanol volume fraction of 2% brought to pH 3 hydrochloric acid. The technique has been tested on the determination of acid-preservative in alcoholic beverages. Application of micellar eluent has reduced the time division over using eluent based on organic solvents.

Key words: micellar thinlayer chromatography, sodium dodecyl sulfate, benzoic acid, sorbic acid, preservatives.