УДК 543.544.33

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ ФИЛЛОХИНОНА НА ДИПРОПИЛДИТИОКАРБАМАТЕ МЕДИ

[1]Гавриленко М.А., [2]Слижов Ю.Г., [1]Бурметьева М.С., [1]Билялов А.А., [1]Гавриленко Н.А.

[1]ГОУ ВПО НИ «Томский политехнический университет», Томск, e-mail: dce@mail.ru;
[2]ГОУ ВПО НИ «Томский государственный университет», Томск

В статье исследована избирательная сорбция витамина К в присутствии других кислородсодержащих соединений на поверхностном слое диалкилдитиокарбаматных комплексах металлов с последующим газохроматографическим определением. Показана возможность сорбционного концентрирования филлохинона на слое дипропилдитиокарбамата меди нанесенном на полимерный сорбент полисорб-2. Комплекс меди с этиловым фрагментом менее эффективно сорбирует кислородсодержащие вещества, что можно объяснить его частичной растворимостью. Предложенный метод включает предварительную экстракцию горячей водой, затем базовую экстракцию смесью изопропанола с гексаном в соотношении 2:1. Исследованы зависимости полноты экстракции витамина различными растворителями и их смесями, а также степень разрушения филлохинона под действием УФ-излучения. Предложена методика газохроматографического определения в настоях листьев зеленого чая с предварительным сорбционным концентрированием. Предел обнаружения методики составляет 5 мг/л при использовании дипропилдитиокарбамата меди в концентрационном устройстве.

Ключевые слова: филлохинон, комплекс меди, диалкилдитиокарбамат, хроматография

CONCENTRATION OF PHYLLOQUINONE BY COPPER DIPROPYLDITHIOCARBAMATE

[1]Gavrilenko M.A., [2]Slizhov Y.G., [1]Burmetieva M.S., [1]Bilyalov A.A., [1]Gavrilenko N.A.

[1]Tomsk Polytechnic university, Tomsk, e-mail: dce@mail.ru;
[2]Tomsk state university, Tomsk

Selective sorption of vitamin K in the presence of other oxygen containing substances on the surface layer of the dialkyldithiocarbamate metal complexes followed by gas chromatographic determination was investigated in the article. Sorption concentration of phylloquinone is carried out on a layer of copper dipropyldithiocarbamate bonded to surface of polymeric sorbent Polysorb-2. Copper complex with ethyl fragment less efficiently absorbs oxygen containing substances that can be deal with its partial destruction. Dependences of extraction of vitamin are studied by various solvents and their mixes, also destruction of phylloquinone is defined under the influence of UF-radiation. The proposed method comprises pre-extraction with hot water then base extraction with isopropanol and hexane in a ratio of 2:1. The technique of gas chromatographic determination is carried out from extracts of leaves of green tea with preliminary treatment. The limit of detection techniques is 5 mg/L using copper dipropylditiocarbamate into the concentrator.

Keywords: phylloquinone, copper complex, dialkyldithiocarbamate, chromatography

Наиболее используемыми для группового концентрирования органических веществ из растворов являются полимеры, а также модифицированные и немодифицированные кремнеземы [1, 8, 9]. Проще и дешевле использовать для этой цели полимерные сорбенты, однако их недостатком является склонность к неизбирательной сорбции максимального количества компонентов раствора. Повышение селективности связано с приданием гидрофобности поверхностному слою и модифицированием комплексами металлов, как это было показано ранее для силикагелей [4, 7].

Витамин К1 (филлохинон) наиболее распространен в природных растительных экстрактах, в том числе получаемых из чайных листьев. Его определение является непростой аналитической задачей вследствие значительного количества мешающих веществ. Предварительное концентрирование проводят обычно на полидиметилсилоксане [2] и других неполярных полимерах, способных к неизбирательной сорбции на своей поверхности большинства полярных соединений [7, 9].

Целью настоящей работы является исследование избирательной сорбции филлохинона в присутствии других кислородсодержащих соединений на поверхностном слое дипропилдитиокарбамата меди $Cu(dpdtc)_2$ с последующим газохроматографическим определением.

Экспериментальная часть

Хроматографическое исследование проведено на газовом хроматографе «Agilent Technologies – 6890 N» с пламенно-ионизационным детектором и приставкой парофазного ввода пробы. Использована капиллярная колонка FFAP (Angilent) длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки 0,3 мкм. Температура колонки на начальном этапе 40 °С, затем нагрев в течение 5 мин со скоростью 4 °С/мин до 175 °С, выдержка при 200 °С в течение 5 мин. Скорость прохождения газа через колонку 4 мл/мин.

Патрон-концентратор представляет собой стальную трубку, содержащую 0,1–1,0 г сорбен-

та полисорб-2 с адсорбционным слоем хелатного комплекса. Приготовление сорбента включало нанесение комплекса на поверхность путем испарения раствора хлороформа, содержащего 5 мас. % комплекса металла по отношению к массе носителя. Затем сорбент высушивали при пониженном давлении 650–700 мм рт. ст и комнатной температуре.

Таблица 1

Характеристика поверхности сорбентов на основе полисорба-2, модифицированных хелатами металлов

Характеристика	Cu-*diethyl-DTC*	Cu-*dipropyl-DTC*	Cu-*dibutyl-DTC*
$S_{уд}$, м^2/г	71,6 ± 0,8	74,2 ± 0,7	76,2 ± 0,8
Средний объем пор, см^3/г	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Средний диаметр пор, нм	16 ± 2	9 ± 1	11 ± 2

Сорбцию в динамическом режиме проводили, прокачивая через патрон-концентратор водный или водно-этанольный раствор модельной смеси альдегидов, кетонов и сложных эфиров с концентрациями 10–50 мг/л со скоростью 1 мл/мин. Для создания потока образца через сорбент использовали микронасос Gilson Minipuls-2 (США). После концентрирования осуществляли обратную продувку концентратора гелием в течение 5 мин для удаления избытка воды и этанола. Обработанный таким образом концентратор помещали в 10 мл виал с герметично закрытый пробкой и проводили термодесорбцию из парофазной приставки в сорбционную петлю-ловушку при 180 °С в течении 20 мин, затем в газовую линию хроматографа.

В отсутствие концентрирования аликвоту объемом 5 мл помещали в герметично закрытый виал объемом 10 мл. В парофазной приставке виал термостатировали при 90 °С в течение 12 мин, что обеспечивает полный перевод жидкости в паровую фазу и, таким образом, соответствие компонентного состава раствора и анализируемой паровой пробы.

Для предварительной экстракции к 20 г листьев зеленого чая добавляли 150 мл органического растворителя или их смесь и 50 мл бидистиллированной воды, затем перемешивали в ультразвуковой ванне 30 минут. Ультрафиолетовое облучение образцов чайных листьев проводили лампой Vilber Lourmat VL-6.M мощностью 6 Вт с длиной волны 312 нм в течение 1–8 часов и термостатировании при 40 °С в течение 3–12 ч.

Количественный анализ проводили методом внутреннего стандарта по фторэтанолу, качественный анализ по временам удерживания библиотеки Angilent для колонки Angilent-FFAP.

Абсолютную погрешность определения массовой доли кислородсодержащих компонентов в смеси определяли по формуле

$$X_{M_i} = \frac{X_i \cdot \rho_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^{n} (X_i \cdot \rho_i)},$$

которую рассчитывали последовательно [6]. Сначала вычисляли абсолютную погрешность U_1 по формуле:

$$\Delta U_{1_i} = X_i \cdot \rho_i \cdot \sqrt{\left(\frac{\Delta X_i}{X_i}\right)^2 + \left(\frac{\Delta \rho_i}{\rho_i}\right)^2},$$

где ΔX_i – абсолютная погрешность определения объемной доли каждого компонента; $\Delta\rho_i$ – абсолютная погрешность определения плотности каждого компонента.

Затем рассчитывали абсолютную погрешность суммы произведений U_1, по формуле:

$$\Delta U_2 = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \left(\Delta U_{1_i}\right)^2}.$$

Окончательную абсолютную погрешность определения кислородсодержащих компонентов в смеси рассчитываем по формуле:

$$\Delta X_{M_i} = X_{M_i} \cdot \sqrt{\left(\frac{\Delta X_i}{X_i}\right)^2 + \left(\frac{\Delta \rho_i}{\rho_i}\right)^2 + \left(\frac{\Delta U_2}{\sum_{i=1}^{n} (X_i \cdot \rho_i)}\right)^2}.$$

Результаты исследований и их обсуждение

Для твердофазной экстракции филлохинона апробирована серия диалкилдитиокарбаматных комплексов меди, поскольку ранее была показана возможность сорбции веществ с фрагментами хинона на комплексах металлов подобного строения [5]. В качестве тестового вещества использован раствор 1,4-нафтохинона в этаноле. Из серии исследованных сорбентов с различной длиной углеводородной цепи в составе диалкилдитиокарбаматного комплекса меди наибольшей селективностью сорбции филлохинона обладает дипропилдитиокарбамат. Сравнение проводили с универсальным полимерным сорбентом тенакс, который часто используют для подобной пробоподготовки [9]. Раствор смеси кислородсодержащих веществ с различными концентрациями использовали в качестве модельного для сравнения эффективности сорбционного концентрирования (табл. 2).

Видно, что хелатсодержащие сорбенты позволяют сорбировать многие кислородсодержащие вещества из индивидуальных растворов более эффективно, чем тенакс, вероятно, вследствие специфичных межмолекулярных взаимодействий электронодонорных атомов кислорода в функциональных группах сорбатов и акцепторными ионами металла в хелатах.

Таблица 2

Газохроматографическое определение кислородсодержащих органических веществ после концентрирования динамическим способом из 50 мл модельного 0,1 % раствора этанола индивидуальных веществ и нафтохинона из полной смеси перечисленных веществ

Вещество	Введено, мг	Найдено, мг			
		Tenax GC	CuDPDTC	CuDBDTC	CuDEDTC
Ацетальдегид	0,16	0,12 ± 0,05	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,06	0,11 ± 0,05
Метилацетат	0,48	0,50 ± 0,05	0,47 ± 0,04	0,44 ± 0,06	0,42 ± 0,06
Этилацетат	0,48	0,49 ± 0,05	0,44 ± 0,05	0,44 ± 0,07	0,45 ± 0,05
Пропилацетат	0,48	0,48 ± 0,07	0,50 ± 0,05	0,45 ± 0,07	0,40 ± 0,06
Этилизовалериат	0,48	0,44 ± 0,07	0,52 ± 0,06	0,42 ± 0,07	0,40 ± 0,06
Изоамилацетат	0,48	0,44 ± 0,07	0,47 ± 0,07	0,42 ± 0,08	0,40 ± 0,05
Этаналь	0,16	0,11 ± 0,05	0,17 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,12 ± 0,07
Пропаналь	0,16	0,12 ± 0,05	0,17 ± 0,04	0,18 ± 0,05	0,12 ± 0,08
Бензальдегид	0,16	0,16 ± 0,06	0,15 ± 0,04	0,13 ± 0,05	0,11 ± 0,08
Пропанон-2	0,64	0,60 ± 0,05	0,65 ± 0,05	0,65 ± 0,05	0,60 ± 0,06
Бутанон-2	0,64	0,65 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,66 ± 0,06	0,59 ± 0,08
1,4-нафтохинон	1,02	0,87 ± 0,17	0,99 ± 0,08	0,85 ± 0,14	0,52 ± 0,22

Комплекс меди с этиловым фрагментом менее эффективно сорбирует кислородсодержащие вещества, что можно объяснить частичной растворимостью указанного комплекса в этиловом спирте. При элюировании смеси через такой сорбент последний разрушается, и чем длительнее этот процесс, тем менее воспроизводим результат анализа.

При концентрировании из групповой смеси распределение сорбированных веществ для тенакса меняется в сторону преобладания небольших молекул вне зависимости от их нуклеофильности, что соответствует однородной поверхности полимера. Для диалкилкарбаматных комплексов меди наблюдается четко выраженное стремление к сорбции нуклеофильных веществ, причем модельному 1,1-нафтохинону соответствует комплекс меди с пропильным фрагментом. Вероятно, это обусловлено полученной геометрией поверхностного ансамбля меди. Общей закономерностью является факт, что вещества, обладающие склонностью к донорно-акцепторному взаимодействию, к которым относятся большинство кислородсодержащих соединений, более прочно удерживаются на хелатных комплексах вследствие образования ассоциата с электронодефицитной частью комплекса металла.

В литературе предложен ряд методик жидкостной экстракции филлохинона с помощью изопропанола, этанола, гексана и некоторых других распространенных органических растворителей [10, 11], однако отмечена проблема большого количества экстрагируемых веществ, в число которых входят гликозилированные и этерифицированные стероиды, терпеноиды, хиноны и убихиноны. Поскольку в качестве растворителей для предварительного извлечения органических веществ нами использованы гексан, пропанол-2, бутанол, диэтиловый эфир, вода и их смеси, методика была дополнена стадией предварительной экстракции горячей водой. Образец чая неоднократно экстрагировали горячей дистиллированной водой до отсутствия окраски. После этого листья высушивали и проводили экстракцию различными растворителями (табл. 3).

Таблица 3

Извлечение филлохинона различными растворителями и их смесями 1:1 (%), S_r = 0,01–0,04

Растворитель	Этанол	Пропанол-1	Пропанол-2	Бутанол-1	Гексан
Этанол	14,3	14,5	52,9	14,2	66,3
Пропанол-1	14,5	14,0	57,8	14,7	71,4
Пропанол-2	52,9	57,8	61,2	68,7	95,2
Бутанол-1	14,2	14,7	68,7	16,6	86,5
Гексан	66,3	71,4	95,2	86,5	88,1

Филлохинон растворим в алифатических спиртах линейного строения, однако наилучший результат получен при экстракции смесями спиртов с гексаном. Дальнейшая оптимизация экстракции позволила выбрать в качестве экстрагента

смесь пропанола-2 с гексаном в соотношении 2:1.

Указанными растворителями обрабатывали образцы чая по методике, описанной в экспериментальной части. Общую массу экстрактивных веществ определяли взвешиванием сухого остатка после высушивания в роторном испарителе при пониженном давлении (табл. 4). Предложенная методика газохроматографического определения филлохинона с последовательными жидкостной и твердофазной экстракцией апробирована на примере анализа товарных сортов зеленого чая (табл. 5). Достоверность полученных результатов подтверждена методом «введено-найдено» с 1,4-нафтохиноном в качестве эталона.

Таблица 4

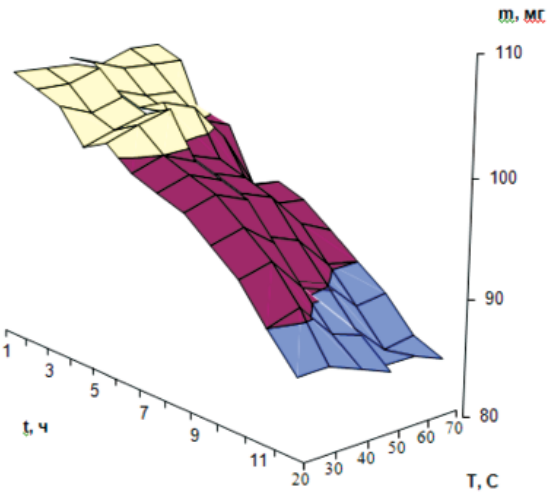
Содержание филлохинона в сухом экстракте зеленого чая

Наименование	Масса сухого остатка, г	Масса филлохинона, мг
Чай «Кертис»	0,61 ± 0,02	5,6 ± 0,1
Чай «Ява Премиум»	0,58 ± 0,03	5,1 ± 0,1
Чай «Ява Медиум»	0,40 ± 0,02	7,9 ± 0,1
Чай «Ахмад»	0,64 ± 0,02	5,9 ± 0,1
Чай «Сенча»	0,35 ± 0,01	1,1 ± 0,1

Таблица 5

Определение филлохинона в чаях методом «введено-найдено»

Чай	Введено, мг	Найдено, мг	S_r
«Кертис»	0	6,0 ± 0,1	0,10
	15	20,0 ± 0,1	
	30	36,0 ± 0,1	
«Ява Премиум»	0	5,0 ± 0,1	0,11
	15	20,0 ± 0,1	
	30	36,0 ± 0,1	
«Ява Медиум»	0	7,0 ± 0,1	0,13
	15	24,0 ± 0,1	
	30	38,0 ± 0,1	
«Ахмад»	0	6,0 ± 0,1	0,17
	15	22,0 ± 0,1	
	30	35,0 ± 0,1	
«Сенча»	0	1,0 ± 0,1	0,11
	15	16,0 ± 0,1	
	30	31,0 ± 0,1	



Влияние температуры и УФ-облучения на количество витамина К в модельном растворе

Повышенная температура до 80°С не влияет на содержание филлохинона в чайных листьях, а УФ-облучение снижает его концентрацию (рисунок).

Установлено, что существенное влияние оказывает снижение pH путем добавления соляной кислоты. При повышении концентрации водородных ионов до pH = 3 витамин К практически полностью можно перевести в недиссоциированное состояние. При повышении концентрации водородных ионов увеличивается число молекул недиссоциированного филлохинона, следовательно, возрастает степень экстракции органическими растворителями.

Список литературы

1. Бетхер В.Н., Кабина Е.А, Георгиади-Авдиенко К.А. Парофазная экстракция органических веществ из водных сред // Журнал аналитической химии. – 2007. – Т. 62. – № 4. – С. 342–349.

2. Гавриленко М.А. Концентрирование ацетата токоферола на поверхностном слое ацетилацетоната меди // Журнал аналитической химии. – 2009. – Т. 64. – № 6. – С. 589–591.

3. Гавриленко М.А. Разделение кислородсодержащих соединений на слоях диметилглиоксиматов металлов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. – Т. 7. – № 2. – С. 259–263.

4. Другов Ю.С., Родин А.А. Анализ загрязнения биосред и пищевых продуктов: практическое руководство. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 294 с.

5. Слижов 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.

6. Eurachem/citac Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement // Editors S.L.R. Ellison (LGC, UK), M. Rosslein (EMPA, Switzerland), A. Williams (UK). 2011. – 120 p.

7. Majchrzak D., Elmadfa I. Phylloquinone (vitamin K1) content of commercially-available baby food products // Food Chemistry. – 2001. – Vol. 74. – P. 275–280.

8. Ostermeyer, U., Schmidt, T. Determination of vitamin K in the edible part of fish by high-performance liquid chromatography // European Food Research and Technology. –2001. – Vol. 212. – P. 518–528.

9. Pawliszyn J. Theory of solid phase microextraction. New York: Wiley-VCH. 1997. pp. 43–96

10. Reto M., Figueira M.E., Filipe H.M., Almeida C.M. Analysis of vitamin K in green tea leafs and infusions by SPME–GC-FID // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 100. – P. 405–411.

11. Seifert, R. M. Analysis of vitamin K1 in some green leafy vegetables by gas chromatography // J. Agricultural and Food Chemistry. – 1979. – Vol. 27. – P. 1301–1304.

References

1. Bether V.N., Kabina E.A, Georgiadi-Avdienko K.A. Zhurnal analiticheskoj himii. 2007. T. 62. no. 4. pp. 342–349.

2. Gavrilenko M.A. Zhurnal analiticheskoj himii. 2009. T. 64. no. 6. pp. 589–591.

3. Gavrilenko M.A. Sorbcionnye i hromatograficheskie processy. 2007. T. 7. no. 2. pp. 259–263.

4. Drugov Yu.S., Rodin A.A. Analiz zagrjaznenija biosred i pishhevyh produktov: prakticheskoe rukovodstvo. M.: BINOM. Laboratorija znanij, 2007. 294 p.

5. Slizhov Yu.G., Gavrilenko M.A. Zhurnal koordinacionnoj himii. 2002. T. 28. no. 10. pp. 783–800.

6. Eurachem/citac Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement // Editors S.L.R. Ellison (LGC, UK), M. Rosslein (EMPA, Switzerland), A. Williams (UK). 2011. 120 p.

7. Majchrzak D., Elmadfa I. Phylloquinone (vitamin K1) content of commercially-available baby food products // Food Chemistry, 2001. Vol. 74. pp. 275–280.

8. Ostermeyer U., Schmidt T. Determination of vitamin K in the edible part of fish by high-performance liquid chromatography. // European Food Research and Technology, 2001. Vol. 212. pp. 518–528.

9. Pawliszyn J. Theory of solid phase microextraction. New York: Wiley-VCH. 1997. pp. 43–96

10. Reto M., Figueira M.E., Filipe H.M., Almeida C.M. Analysis of vitamin K in green tea leafs and infusions by SPME–GC-FID // Food Chemistry. 2007. Vol. 100. pp. 405–411.

11. Seifert R.M. Analysis of vitamin K1 in some green leafy vegetables by gas chromatography // J. Agricultural and Food Chemistry, 1979. Vol. 27. pp. 1301–1304.

Рецензенты:

Короткова Е.И., д.х.н., профессор кафедры физической и аналитической химии, заместитель проректора-директора по научной работе и инновационному развитию института природных ресурсов, ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск;

Косинцев В.И., д.т.н., профессор-консультант кафедры общей химической технологии Института природных ресурсов, ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск.

Работа поступила в редакцию 01.07.2013.