

Т.Н. Кабанова, С.И. Сирицо, В.Н. Филимонов

Новомосковский институт Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева, Новомосковск, Россия

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА И СВОЙСТВ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ УДЕРЖИВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ В ИОННОЙ ВЭЖХ

Dependence of keeping of water-soluble vitamins on structure of a binary mobile phase is studied. The structure effluent is chosen, allowing to divide vitamins of group B and vitamin C.

Изучена зависимость удерживания водорастворимых витаминов от состава бинарной подвижной фазы. Выбран состав элюента, позволяющий разделить витамины группы В и витамина С.

Введение. Среди огромного многообразия физиологически и биологически активных органических соединений – гормонов, антибиотиков, алкалоидов и других – витамины занимают особое место. Недостаточное потребление витаминов ведет к нарушениям зависящих от них биохимических (главным образом ферментативных) процессов и физиологических функций организма, обуславливает серьезные расстройства обмена веществ [1]. При поступлении на современный рынок синтетические поливитаминные препараты, витаминизированные продукты пищевой и косметической промышленности, имеющие в своем составе различные витамины (жирорастворимого или водорастворимого ряда), вызывают необходимость разработки экспрессных и воспроизводимых методик, чрезвычайно важных для контроля качественных и количественных многокомпонентных рецептур. Поэтому, одной из актуальных задач современной аналитической химии является разработка высокочувствительных и надежных способов анализа биологически активных соединений (в частности витаминов) в сложных рецептурах на базе современных физико-химических методов, а также разделения и количественного контроля содержания данного класса веществ в многокомпонентных системах [2].

Эффективным средством позволяющим обеспечить решение этой проблемы, является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – универсальный аналитический метод разделения и анализа многокомпозиционных смесей, которая характеризуется высокой воспроизводимостью, низким пределом обнаружения и точностью количественных определений [3].

Целью данной работы является выбор условий разделения водорастворимых витаминов (В1 – тиаминхлорид, В2 – рибофлавин, В3 – пантатеновая кислота, В6 – пиридингидрохлорид, В12, С – аскорбиновая кислота, РР – никотиновая кислота) в режиме ионной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Эксперимент.

Хроматографические исследования были выполнены на отечественном хроматографе «Цвет-3006» в двухколоночном режиме хроматографирования. Использовался кондуктометрический детектор. Изучение ионохроматографического поведения исследуемых сорбатов вели в изократическом режиме. Анализы проводили на стальной аналитической колонке размером 100x5,4 мм, заполненной суспензионным способом анионообменником ХИКС-1. Подавительную колонку заполняли катионитом КРС-6П в Н-форме и периодически регенерировали 0,5М раствором HNO₃. В качестве подвижной фазы использовали свежеприготовленные водные растворы Na₂CO₃, NaHCO₃ (концентрация от 0,5 ммоль/л до 6 ммоль/л) и их смесь. Скорость подачи элюента – 1,5мл/мин.

Обсуждение результатов. При проведении работы было исследовано влияние различных рН и компонентного состава подвижной фазы на хроматографические характеристики водорастворимых витаминов.

Водорастворимые витамины (ВРВ) относятся к различным классам химических соединений [2], что приводит к сложности ионохроматографического определения вышеуказанных сорбатов и оптимизации условий разделения их методом ИЖХ. Это вносит некоторые трудности в процесс разделения смеси, имеющей в своем составе все ВРВ. Поэтому особый интерес представляет выбор условий хроматографирования, позволяющий определять несколько ВРВ одновременно. При выборе данных условий хроматографирования была изучена зависимость изменения удерживания сорбатов от состава и рН бинарной (вода : соль) подвижной фазы.

Хроматографические пики сорбатов при элюировании ВРВ разбавленными растворами (до 0,5 ммоль/л) гидрокарбоната натрия соответствуют оптимальным значениям критерия асимметрии (As) от 0,7 до 1,5 (табл. 1).

Табл. 1 Зависимость коэффициента асимметрии пика (As) водорастворимых витаминов от состава бинарного элюента

Элюент, концентрация, моль/л		Коэффициент асимметрии пика						
Na ₂ CO ₃	NaHCO ₃	B3	B1	B6	B2	C	B12	PP
6,0·10 ⁻³	-	2,00	1,50	1,50	1,30	1,00	-	-
3,0·10 ⁻³	-	2,00	1,30	1,70	1,00	1,00	-	-
2,1·10 ⁻³	-	2,70	2,00	2,20	1,70	0,84	-	-
1,3·10 ⁻³	-	0,90	1,60	0,63	1,04	1,80	-	-
0,5·10 ⁻³	-	0,90	1,20	1,20	1,00	1,32	-	-
-	3,0·10 ⁻³	2,25	1,30	1,30	1,05	0,78	-	3,28
-	2,1·10 ⁻³	1,33	1,15	1,00	1,40	1,00	3,75	3,25
-	1,3·10 ⁻³	1,36	1,06	1,06	0,94	1,08	1,20	3,33
-	0,5·10 ⁻³	1,00	1,00	1,10	0,99	0,90	1,10	4,30

Уменьшение удерживания витаминов В1, В6, В3, С достигается путем увеличения концентрации до 3,0 ммоль/л. Незначительное увеличение удерживания В2 и уменьшение удерживания В12, по-видимому, связано с проявлением комбинированных сорбционных и ионообменных механизмов на хроматографических колонках, вызывая формирование сильно размытых вершин пиков [4]. Следствием этого является отсутствие разделения витаминов В2 и В12 гидрокарбонатным элюентом, несмотря на значительную разницу в удерживании (табл. 2).

Табл. 2. Зависимость времени (мин) удерживания водорастворимых витаминов от состава элюента

Элюент, концентрация (моль/л)		Водорастворимые витамины						
Na ₂ CO ₃	NaHCO ₃	B3	B1	B6	B2	C	B12	PP
6,0·10 ⁻³	-	3,80	3,25	3,25	7,18	4,50	∞	∞
3,0·10 ⁻³	-	4,00	4,35	4,38	7,50	9,50	∞	∞
2,1·10 ⁻³	-	4,13	4,75	4,86	8,63	13,86	∞	∞
1,3·10 ⁻³	-	6,00	8,38	8,39	41,40	6,25	∞	∞
0,5·10 ⁻³	-	7,70	10,80	10,25	40,21	9,12	∞	∞
-	3,0·10 ⁻³	8,72	15,00	14,75	40,00	10,75	19,00	80,50
-	2,1·10 ⁻³	11,92	22,25	21,85	19,70	14,25	20,62	129,30
-	1,3·10 ⁻³	16,25	27,40	26,80	28,40	19,25	29,50	178,50
-	0,5·10 ⁻³	21,35	39,23	38,75	39,10	25,75	42,75	356

При переходе к карбонатному элюенту с увеличением рН подвижной фазы (от 10,51 до 10,89) наблюдается снижение времени удерживания ВРВ и ухудшение селективности разделения, так как большинство сорбатов, имея близкие значения t_R , выходят одним пиком. Из-за частой необходимости регенерации подавительной колонки увеличивается продолжительность анализа при использовании элюента данного состава. Кроме того, регистрирование хроматографических пиков витаминов В12 и РР практически невозможно, вследствие, по-видимому, возникновения и усилением неионообменной сорбции молекул малодиссоциированных сорбатов на ионообменной смоле хроматографической системы.

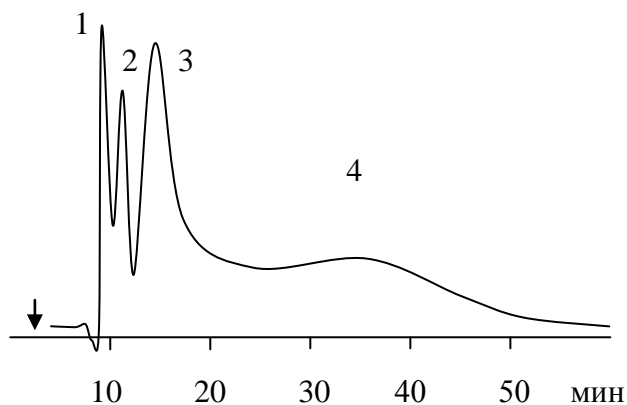


Рис. 1. Хроматограмма водорастворимых витаминов. Витамины: 1 – В3; 2 – С; 3 – В6; 4 – В2. Элюент - $2 \cdot 10^{-3}$ М Na_2CO_3

В целом отмечено, что при элюировании карбонатными элюентами определяемые вещества по удержанию делятся на: сильно-, средне- и слабоудерживаемые. Достичь оптимального разделения ($RS > 1,00$) внутри группы в настоящем эксперименте не удается, так как времена удерживания сорбатов близки.

Проведенный анализ показал, что применение в качестве подвижной фазы растворов гидрокарбоната натрия обеспечивает разделение смеси ВРВ группы В и витамина С. Чтобы улучшить хроматографические параметры и достичь одновременного разделения всех ВРВ необходимо использовать трехкомпонентные элюенты на основе растворов карбоната натрия с добавлением гидрокарбоната (вода: NaHCO_3 : Na_2CO_3) с $\text{pH} > 8,8$.

Выявленные закономерности удерживания могут быть положены в основу разработки аналитических методик ионхроматографического контроля ВРВ в фармакологической, пищевой и косметической промышленности.

Список литературы

- 1 Солдатенков, А.Т. Основы органической химии лекарственных веществ/ А.Т.Солдатенков, Н.М.Колядина, И.В.Шендрик. – М.: Химия, 2001. – 192 с.
- 2 Березовский, В.М. Химия витаминов/ В.М.Березовский – М.: Пищепроиздат, 1959. – 600 с.
- 3 Шатц, В.Д. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии/ В.Д.Шатц, О.В.Сахартова – Рига: Зинатие, 1988. – 220 с.
- 4 Иванов, А.А. Ионная хроматография органических карбоновых кислот. Определение дикарбоновых и оксикислот/ А.А.Иванов, О.А.Шпигун, Ю.А. Золотов // Журн. аналит. Химии, 1987, т.42. -№4.- С. 694-698.