

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 61, №3–4, 2008 Химический журнал Армении

УДК 543.54 + 543.583

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ МИНЕРАЛЬНОЙ КИСЛОТЫ В МОБИЛЬНОЙ ФАЗЕ НА
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

А. Ф. АРУТЮНЯН^а, А. Г. ГРИГОРЯН^а, Ф. А. АРУТЮНЯН^а, С. С. АЙРАПЕТЯН^б,
С. М. ВАРДАПЕТЯН^б и А. Г. ХАЧАТРЯН^б

^аГосударственный аграрный университет Армении
Армения, 0009, Ереван, ул. В.Теряна, 74
Факс: (37410) 272504 E-mail: maran@maran.am

^бЕреванский государственный университет
Армения, 0049, Ереван, ул. А.Манукяна, 1
Факс: (37410) 570663, E-mail: gold@ysu.am

Поступило 18 IV 2008

Рассмотрено влияние природы минеральной кислоты в мобильной фазе при хроматографическом разделении и определении органических кислот. Исследования проводили в режиме обращённо-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с применением колонок размером 250 x 4.0 мм, заполненных микросферическим силикагелем (размеры частиц 7.5-1.5 мкм; пористые характеристики: удельная поверхность 250 м²/г; объём пор 0.56 см³/г; средний диаметр пор 10 нм), модифицированным диметилктадецилхлорсиланом. В качестве минеральных кислот использованы серная, ортофосфорная и перхлорная кислоты.

Рис. 5, табл. 2, библиограф. ссылок 19.

Ранее органическим кислотам приписывалось возбуждающее аппетит, желчегонное, бактерицидное и противогнилостное действие в кишечнике. В последние годы установлено, что низшие карбоновые кислоты ускоряют восстановление организма после тяжелых физических нагрузок. Янтарная, яблочная, кетоглутаровая дикарбоновые кислоты относятся к группе энергодающих соединений и субстратов. Большинство органических кислот являются биогенными стимуляторами. Органические кислоты, особенно яблочная и лимонная, содержатся во многих плодах и овощах. Так как органические кислоты имеют и жаждоутоляющие свойства, их используют в качестве добавок в алкогольные напитки в виде фруктовых и ягодных соков

С проблемой определения органических кислот сталкиваются в основном при анализе пищевых продуктов [1-19]. В частности, при проведении ВЭЖХ анализа таких материалов, как вина виноградные, оригинальные и плодовые, напитки винные, соки и сокосодержащие напитки, винома-

териалы виноградные и плодовые, сула для определения массовой концентрации органических кислот (щавелевой, уксусной, лимонной, винной, яблочной, суммы молочной и янтарной).

Экспериментальная часть

В качестве стандартной смеси органических кислот при хроматографических исследованиях применяется следующая смесь компонентов: щавелевая (1), муравьиная (2), винная (3), яблочная (4), уксусная (5), лимонная (6), янтарная (7), фумаровая (8) кислоты.

Обычно при хроматографировании органических кислот в режиме ВЭЖХ в качестве подвижной фазы используют 0,005 N раствор H_2SO_4 .

Химические реагенты и растворы.

Использовали химические реагенты квалификации «ч.д.а», воду и ацетонитрил (АЦН) квалификации «для жидкостной хроматографии».

Хроматографическая система.

Использовали ВЭЖХ систему фирмы “Waters” (Waters 600 S Controller, Waters 626 Pump, Waters 486 Absorbance Tunable Detector).

Хроматографическая колонка (250(4.0 мм) – “Армсфер Si-100 C_{18} ” 7.5 мкм.

При определении фактора удерживания колонки для значения мертвого объема брали время выхода тиомочевина на указанной колонке при ее тестировании смесью, состоящей из тиомочевина, фенола, бензола и толуола. Хроматографирование тестовой смеси было проведено мобильной фазой, состоящей из смеси АЦН/вода 50/50, при скорости потока 1 мл/мин. При этом время выхода тиомочевина 2.0 мин.

Детектор УФ – 210 нм.

Обсуждение результатов

На рис. 1 представлены хроматограммы смеси вышеуказанных органических кислот, полученные на колонке “Армсфер Si-100 C_{18} ” (размером 250×4.0 мм). В качестве мобильной фазы использовали смесь воды, подкисленной ортофосфорной кислотой, и АЦН. Содержание последнего варьировали пределах 2-8 об. %.

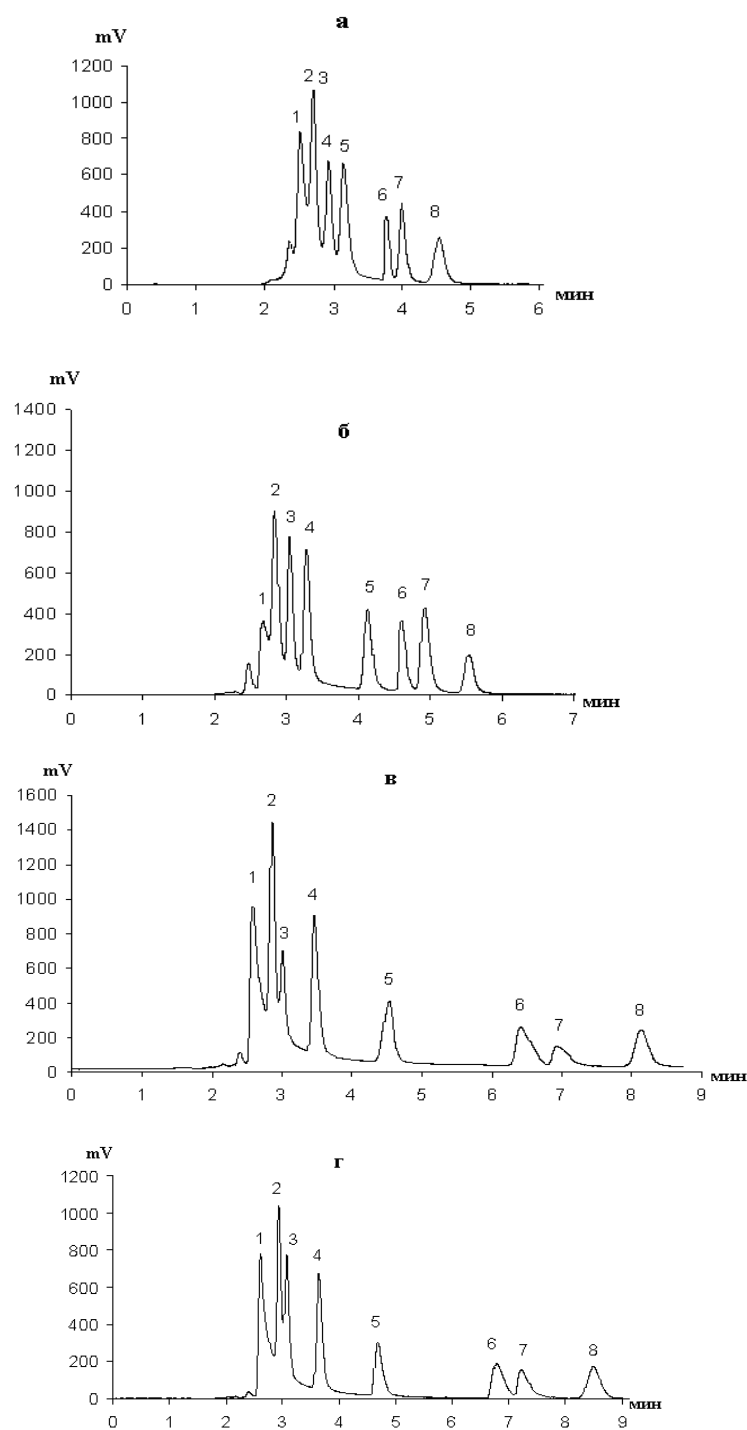


Рис. 1. Хроматограммы смеси органических кислот: 1 – щавелевая, 2 – муравьиная, 3 – винная, 4 – яблочная, 5 – уксусная, 6 – лимонная, 7 – янтарная, 8 – фумаровая. Элюент подкислен ортофосфорной кислотой. Количество АЦН в мобильной фазе (об.%) : а – 8, б – 7, в – 5, г – 2.

В табл. 1 представлены значения времен удерживания вышеуказанных кислот, а в табл. 2 – значения факторов их удерживания. На основе данных табл. 2 построены кривые зависимости значений факторов удерживания от содержания АЦН в мобильной фазе (рис. 2 и 3).

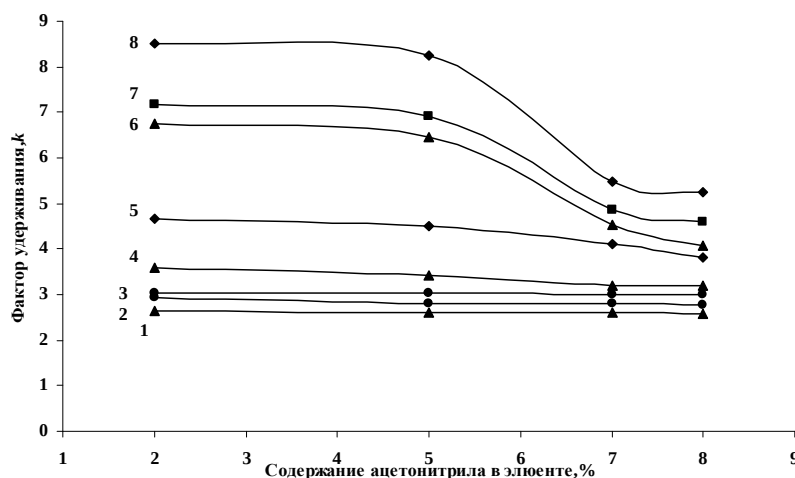


Рис. 2. Изменение фактора удерживания k в зависимости от содержания АЦН в мобильной фазе.

Для щавелевой (1), муравьиной (2), винной (3) и яблочной (4) кислот эта зависимость носит линейный характер, а для фумаровой, янтарной, лимонной и уксусной кислот зависимость нелинейна (рис. 3) и описывается следующими уравнениями:

$$k = -0.1267x^2 + 0.6477x + 7.8048; R^2 = 0.9235 \text{ (фумаровая кислота)}$$

$$k = -0.0976x^2 + 0.4952x + 6.6306; R^2 = 0.9380 \text{ (янтарная кислота)}$$

$$k = -0.1037x^2 + 0.5516x + 6.1105; R^2 = 0.9635 \text{ (лимонная кислота)}$$

$$k = -0.0297x^2 + 0.1561x + 4.4559; R^2 = 0.9998 \text{ (уксусная кислота)}$$

Начиная с фумаровой кислоты ($R^2 = 0.9235$) коэффициент регрессии увеличивается и практически равен единице в случае уксусной кислоты $R^2 = 0.9998$, что свидетельствует о весьма четко выраженной корреляции.

Аналогичные зависимости для хроматографических показателей получаются и при использовании элюента, подкисленного серной кислотой. Однако при этом селективность хуже, чем при использовании в качестве подкисляющего агента ортофосфорной кислоты.

На рис. 4 представлены хроматограммы вышеуказанной смеси органических кислот. В качестве мобильной фазы использовали смесь воды, подкисленной серной кислотой, и АЦН. Содержание последнего варьировали в пределах 2-8%.

Таблица 1

Времена выхода кислот при использовании элюентов с различным содержанием АЦН

Состав элюента, об. %		Мертвый объем колон- ки, t ₀	Времена выхода, мин							
АЦН	вода		t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇	t ₈
8	92	2.0	2.58	2.76	3.00	3.18	3.80	4.08	4.60	5.24
7	93	2.0	2.60	2.80	3.01	3.20	4.10	4.54	4.86	5.47
5	95	2.0	2.62	2.82	3.02	3.42	4.49	6.47	6.92	8.24
2	98	2.0	2.64	2.92	3.04	3.59	4.65	6.76	7.18	8.52

Таблица 2

Значения фактора удерживания кислот

Состав элюента, об. %		Мертвый объем колон- ки, t ₀	Факторы удерживания, k							
АЦН	вода		k ₁	k ₂	k ₃	k ₄	k ₅	k ₆	k ₇	k ₈
8	92	2.0	0.29	0.38	0.50	0.59	0.90	1.04	1.3	1.62
7	93	2.0	0.30	0.40	0.51	0.60	1.05	1.27	1.43	1.73
5	95	2.0	0.31	0.41	0.51	0.71	1.24	2.23	2.46	3.12
2	98	2.0	0.32	0.46	0.51	0.80	1.32	2.39	3.59	4.26

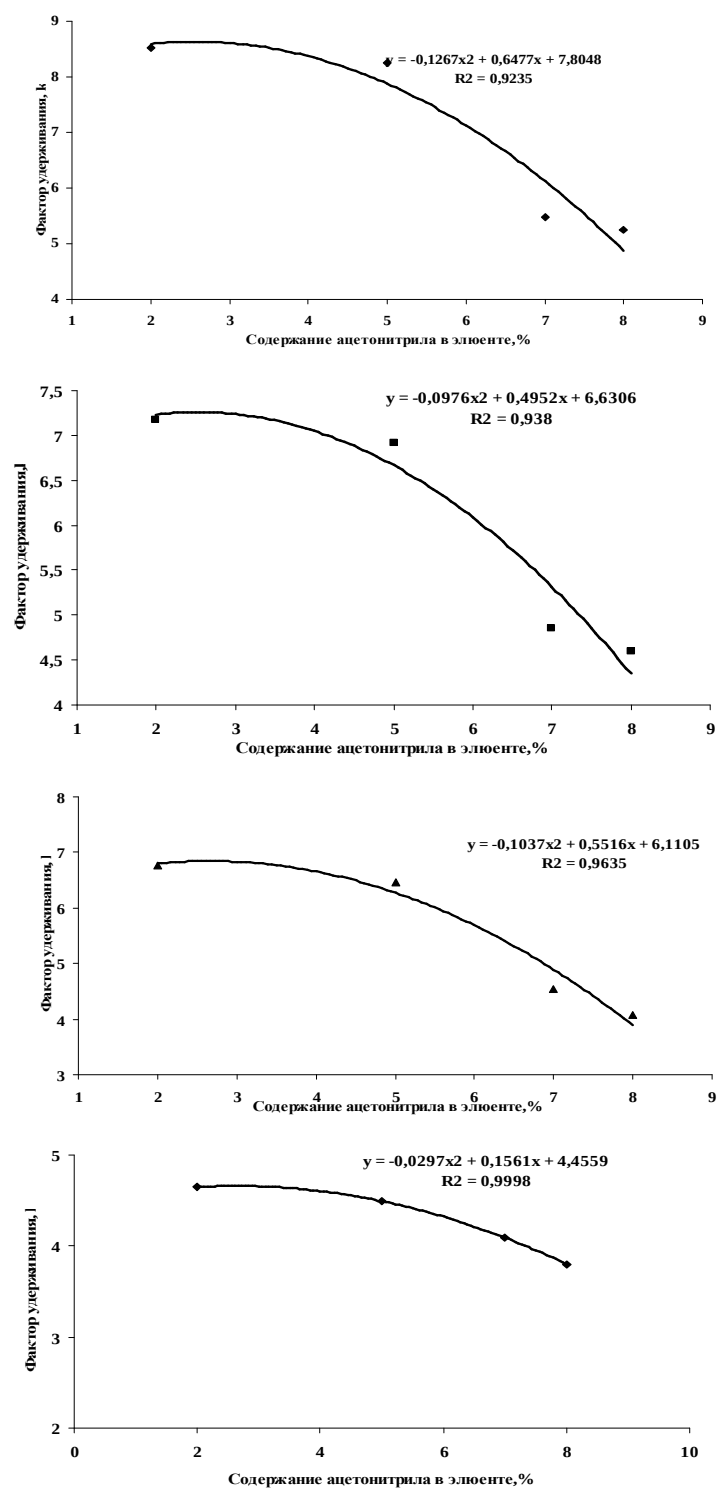


Рис. 3. Изменение факторов удерживания k фумаровой (а), янтарной (б), лимонной (в) и уксусной (г) кислот от содержания АЦН в мобильной фазе.

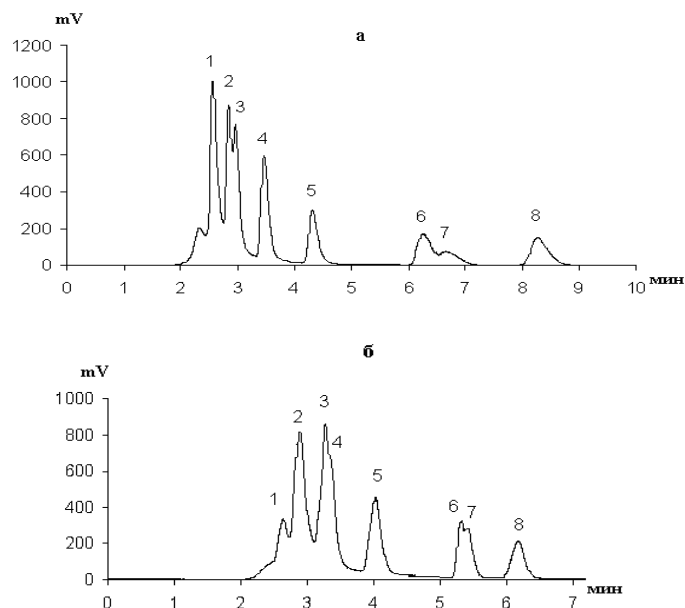


Рис. 4. Хроматограммы смеси органических кислот: 1 – щавелевая, 2 – муравьиная, 3 – винная кислота, 4 – яблочная, 5 – уксусная, 6 – лимонная, 7 – янтарная, 8 – фумаровая. Элюент подкислен серной кислотой. Количество АЦН в мобильной фазе (об.%): а – 5 и б – 8.

Из рис. 4 следует, что увеличение количества органического растворителя в составе элюента приводит к уменьшению значений времён выхода анализируемых веществ.

Разделение органических кислот намного хуже при использовании перхлорной кислоты. На рис. 5. представлены хроматограммы вышеуказанной смеси органических кислот. В качестве мобильной фазы использовали смесь воды, подкисленной перхлорной кислотой, и АЦН (5 об. %).

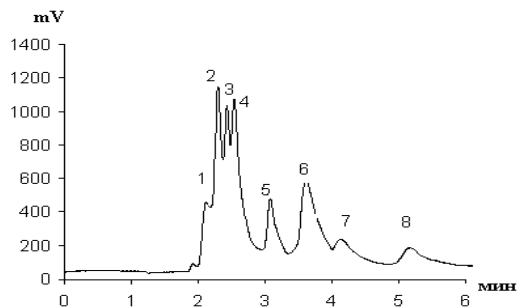


Рис. 5. Хроматограммы смеси органических кислот:
1 – щавелевая, 2 – муравьиная, 3 – винная кислота, 4 – яблочная,
5 – уксусная, 6 – лимонная, 7 – янтарная, 8 – фумаровая.
Элюент подкислен перхлорной кислотой.

Таким образом, нами установлено, что при хроматографировании органических кислот для подкисления элюента более целесообразно использовать ортофосфорную кислоту. При этом получаются более селективные пики, чем при использовании для этой цели серной и перхлорной кислот. Увеличение содержания ацетонитрила в составе мобильной фазы приводит к уменьшению фактора удерживания. Для щавелевой, муравьиной, винной и яблочной кислот эта зависимость линейна, а для фумаровой, янтарной, лимонной и уксусной кислот она нелинейна.

я

ՇԱՐԺՈՒՆ ՖԱԶՈՒՄ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ԹԹՎԻ ԲՆՈՒՑԹԻ ԱՁՂԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՕՐԳԱՆԱԿԱՆ ԹԹՈՒՆԵՐԻ ՔՐՈՄԱՏՈԳՐԱՖԻԱԿԱՆ ՎԱՐՔԻ ՎՐԱ

**Ա. Ֆ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Հ. Գ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ֆ. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ,
Ս. Ս. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ս. Մ. ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ և Հ. Գ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ**

Ուսումնասիրվել է շարժուն ֆազում հանքային թթուների բնույթի ազդեցությունը օրգանական թթուների քրոմատոգրաֆիական վարքի վրա: Ուսումնասիրություններն իրականացվել են շրջված ֆազերով բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիական ռեժիմում, կիրառելով 250×4.0 մմ չափի քրոմատոգրաֆիական աշտարակներ, որոնք լիցքավորված են եղել C₁₈ ֆազով մոդիֆիկացված միկրոգնդային սիլիկաժելային սորբենտով (մասնիկների չափերը՝ 7.5±1.5 մկմ, ծակոտկեն բնութագրերը՝ տեսակարար մակերեսը 250 մ²/գ, ծակոտիների ծավալը 0.56 մլ/գ, ծակոտիների միջին չափը 10 նմ): Որպես հանքային թթուներ կիրառվել են ծծմբական, օրթոֆոսֆորական և պերքլորական թթուները: Ցույց է տրվել, որ օրգանական թթուների քրոմատոգրաֆիայի համար առավել նպատակահարմար է շարժուն ֆազի թթվեցման համար կիրառել օրթոֆոսֆորական թթուն: Այդ դեպքում ստացվում են առավել ընտրողական պիկեր, քան երբ օգտագործում են ծծմբական և պերքլորական թթուներ:

THE INFLUENCE OF THE NATURE OF MINERAL ACID IN THE MOBILE PHASE ON THE CHROMATOGRAPHICAL BEHAVIOR OF ORGANIC ACIDS

**A. F. HARUTJUNYAN^a, H. G. GRIGORYAN^a, F. A. HARUTJUNYAN^a,
S. S. HAYRAPETYAN^b, S. M. VARDAPETYAN^b and H.G. KHACHATRYAN^b**

^aState Agricultural University of Armenia
Armenia, 0009, Yerevan, V. Teryan str., 74
Fax: (37410) 272504; E-mail: maran@maran.am

^bYerevan State University
Armenia, 0049, Yerevan, Alek Manoukian str., 1
Fax: (37410) 570663, E-mail: gold@ysu.am

The influence of the mineral acid nature in the mobile phase during the chromatographical separation and determination of organic acids has been viewed. The investigations has been carried out in the reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) regime using the columns (250 4.0 mm) packed with micro-spherical silica gel (7.5±1.5 (m particles; porous characteristics: specific surface area 250 m²/g; average pore volume 0.56 cm³/g, average pore diameter 10 nm) modified by C₁₈ phase. The sulphuric, perchloric and orthophosphoric acids have been used as mineral acids. It has been shown that it is more expedient to use ortophosphoric acid to

acidify mobile phase during the chromatographic separation of organic acid mixtures. The peaks in this case are more selective as compared with the cases when using sulphuric, perchloric acids.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Mato I., Suarez-Luque S.* // Food Research International, 2005, v.38, issue 10, p.1175.
- [2] *Soyer Y., Koca N., Karadeniz F.* // J. Food Composition and Analyses, 2003, v.16, issue 5, p.629.
- [3] *Ryan J.J., Dupont J.A.* // Food Chemistry, 1973, v.21, p.45.
- [4] *Coppola E.D., Ster M.S.* // J. AOAC International, 1986, v.69, p.594.
- [5] *Fuleki T., Pelayo E., Palaby R.* // J. AOAC International, 1993, v.76, p.591.
- [6] *Romero E.G., Munoz G.S.* // J. Chromatogr. A, 1993, v.655, p.111.
- [7] *Laminkara O., Inyang I.D., Leong S.* // J. Agricultural and Food Chemistry, 1995, v.43, p.3026.
- [8] *Caccamo F., Carfagnini G., Di Corcica A., Samperi R.* // J.Chromatogr. A, 1986, v.362, p.47.
- [9] *Buglass A.J., Lee S.H.* // J. Chromatogr. Sci., 2001, v.39, p.453.
- [10] *Casella G., Gatta M.* // J. Agricultural and Food Chemistry, 2002, v.50, p.23.
- [11] *Castellari M., Versari A., Spinabelli U., Galassi S., Amati A.* // J. Liquid Chromatography and Related Technologies, 2000, v.23, p.2047.
- [12] *Chinnici P., Spinabelli U., Amati A.* // J. Liquid Chromatography and Related Technologies, 2002, v.25, p.2551.
- [13] *Edelmann A., Diewok J., Baena J., Lendl B.* // Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2003, v.376, p.92.
- [14] *Escobal A., Gonzalez J., Iriondo C.* // J. Food Chemistry, 1997, v.58, p.381.
- [15] *Carcia-Romero E., Sanchez-Munoz G., Martin-Alvarez P.J., Cabezudo-Ibanez M.D.* // J. Chromatogr., 1993, v.655, p.11.
- [16] *Kotani A., Muyaguchi Y., Tomita E., Takamura K., Kusu F.* // J. Agricultural and Food Chemistry, 2004, v.52, p.1440.
- [18] *Olalla-Herrera M., Lopez-Garcia H., Villalon-Mirand M., Lopez-Martinez M.C.* // J. Chromatogr., 1993, v.16, p.3101.
- [19] *Perez-Ruiz T., Martinez-Lozano C., Tomas V., Martin J.* // J.Chromatogr. A, 2004, v.1026, p.57.