



УДК 543.544.943.3

Тонкослойная хроматография флавоноидов на силикагеле в модифицированных мицеллярных подвижных фазах на основе додецилсульфата натрия

Сумина Е.Г.¹, Штыков С.Н.¹, Сорокина О.Н.²,
Петракова А.В.¹, Угланова В.З.¹

¹Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов

Поступила в редакцию 22.09.2013 г.

Аннотация

Методом тонкослойной хроматографии изучены хроматографические свойства четырех флавоноидов – кверцетина, рутина, гиперозида и флаворина – в водно-органических и мицеллярных подвижных фазах при варьировании природы и концентрации поверхностно-активных веществ, органического растворителя и сильного электролита. Найдены оптимальные хроматографические системы и условия их применения в ТСХ исследуемых флавоноидов. Разработаны методики количественного определения кверцетина и рутина в софоре японской, прополисе (в виде настойки и сухого вещества) и шелухе лука.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография, флавоноиды, поверхностно-активные вещества, мицеллы.

The chromatographic properties of four flavonoids (quercetin, routine, hyperoside, and flaronin) in water–organic and micellar mobile phases were studied by means of TLC with various natures and concentrations of surfactants, organic solvents, and strong electrolytes. Optimal chromatographic systems and conditions of their application in TLC of the said flavonoids were found. Quantitative analysis techniques for quercetin and routine in *Styphnolobium japonicum*, propolis (as tincture and solid), and onion peel have been developed.

Keywords: thin layer chromatography, flavonoids, surfactants, micelles

Введение

Флавоноиды, основным источником которых является растительное сырье различного происхождения, давно привлекают ученых своей биологической активностью (БА) и чрезвычайно низкой токсичностью [1]. В растениях и биологических жидкостях флавоноиды находятся, в основном, в виде разнообразных гликозидов [1]. Следует отметить, что в одном и том же биологическом материале присутствуют сложные смеси различных видов свободных и связанных флавоноидов, что определяет актуальность разработки способов их разделения и определения в каждой конкретной смеси. Наиболее часто для этой цели применяют методы колоночной жидкостной хроматографии или ТСХ, используя в качестве подвижных фаз (ПФ) водно-органические элюенты [2-11]. В отдельных работах

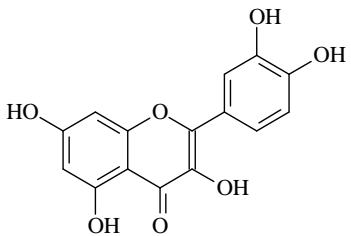
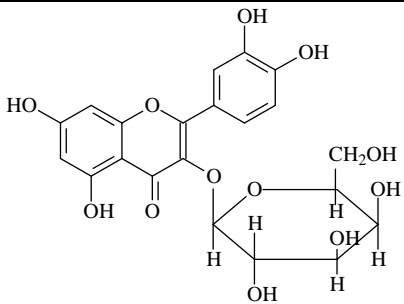
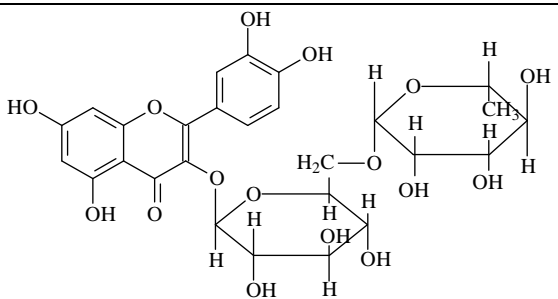
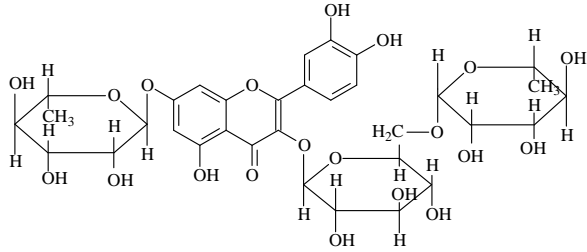
отмечается, что для разделения флавоноидов перспективны и мицеллярные ПФ (МПФ) [3, 12-14]. Аналогичные исследования в тонкослойной хроматографии (ТСХ) практически не проводились. В связи с этим, цель настоящей работы заключалась в сопоставлении аналитических возможностей водно-органических ПФ и МПФ при определении флавоноидов в объектах природного происхождения методом тонкослойной хроматографии.

Эксперимент

Объектами исследования служили кверцетин и его гликозидные производные: рутин, гиперозид, флаворин (“Alfa Aesar”, США), структурные формулы которых представлены в табл. 1. Содержание основного вещества в коммерческих препаратах флавоноидов составляло более 97%. Стандартные растворы исследуемых флавоноидов в этаноле концентрации 1 мг/мл готовили по точной навеске. Рабочие растворы получали разбавлением стандартных этанолом и хранили в холодильнике не более 10 дней.

Для исследования применяли метод восходящей ТСХ в камерах, предварительно насыщенных парами растворителей, образующих подвижную фазу. В случае водных растворов поверхностно-активных веществ (ПАВ) камеру предварительно не насыщали. Для детектирования и количественного измерения хроматограмм применяли видеоденситометр Сорбфил (“Сорбполимер”, Краснодар, Россия). Хроматографирование проводили на пластинках Сорбфил (“Сорбполимер”, Краснодар, Россия) с полярной неподвижной фазой (НФ) на алюминиевой (А1) и полимерной (ПП) матрицах, а для сравнения также на слабополярном Полиамиде-6 (“Мерк”, Дармштадт, Германия).

Таблица 1. Структурные формулы исследуемых флавоноидов.

 <p style="text-align: center;">Кверцетин (Кв)</p>	 <p style="text-align: center;">Гиперозид (Гп)</p>
 <p style="text-align: center;">Рутин (Рт)</p>	 <p style="text-align: center;">Флаворин (Фл)</p>

Водно-органические ПФ, содержали ацетонитрил, пропанол-1, бутанол-1 и этилацетат (ч.д.а.), а также ПФ, в состав которых входили поверхностно-активные вещества (ПАВ) разного типа: катионные (хлорид цетилпиридиния (ЦПХ)), анионные (додецилсульфат натрия (ДДС)), неионные (третон X-100 (ТХ-100)). Препараты ПАВ содержали не менее 96-98% основного вещества. Исходные водные растворы ПАВ имели концентрацию 0.05-0.1 М. Для создания необходимой кислотности использовали буферные растворы различной природы, контролируя рН на рН-метре-иономере РХ-150 МП. Пробоподготовку реальных объектов проводили согласно [5].

Обсуждение результатов

Хроматографирование в водно-органических ПФ

При выборе оптимальной НФ кверцетин и его гликозид рутин хроматографировали на пластинках Сорбфил (ПП), Сорбфил (А1), а также Полиамид-6. В состав всех водно-органических ПФ входил этилацетат, рекомендуемый для хроматографирования флавоноидов [14]. Установлено, что использование пластинок марки Сорбфил (А1) позволяет получать четкие, ярко окрашенные пятна кверцетина и рутина с величинами R_f в диапазоне от 0.15 (рутин) до 0.90 (кверцетин) (рис. 1 б). Хроматографические зоны флавоноидов на пластинках Сорбфил (ПП) были менее четкими и имели менее интенсивную окраску (рис. 1 а). На пластинках Полиамида-6 хроматографические зоны сильно размыты и из-за близких величин R_f флавоноиды не разделялись. В связи с этим, дальнейшие исследования проводили на пластинках Сорбфил (А1) (рис. 1 б).

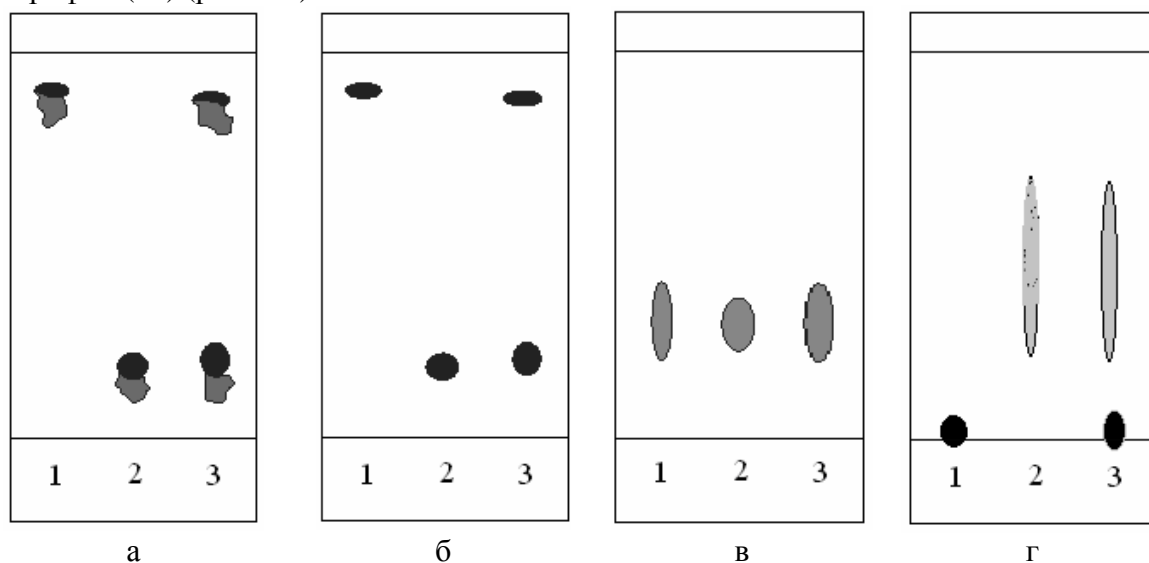


Рис. 1. Влияние природы НФ на хроматографическое поведение кверцетина и рутина. НФ: а) Сорбфил (ПП); б) Сорбфил (А1); в, г) Полиамид-6. ПФ: а, б, в) этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20); г) ацетонитрил – вода (70:30).

1 – Кв, 2 – Рт, 3 – смесь Кв и Рт; $C_R=1.0$ мг/мл.

Установлено, что при увеличении концентрации этилацетата подвижность рутина монотонно снижается (рис. 2), т.е. его сорбция на поверхности сорбента, модифицированного растворителем, усиливается; при этом, подвижность кверцетина, не содержащего гликозидные остатки, практически не меняется. Введение уксусной кислоты в качестве компонента ПФ позволило улучшить

компактность зон обоих реагентов. Возможно это, связано с тем, что в кислой среде молекулы исследуемых флавоноидов перешли в одну недиссоциированную (молекулярную) форму ($pK_{\text{дисс}}$ кверцетина = 6.9) [14], так же как и силанольные группы силикагеля, что обеспечило один тип связывания молекул разделяемых соединений с поверхностью сорбента. Кроме того, уксусная кислота, являясь сильным модификатором, способствовала вытеснению воды с поверхности силикагеля и стабилизации удерживания. Таким образом, для разделения кверцетина и рутина методом ТСХ наиболее пригодны пластины Сорбфил (А1) в системе растворителей этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20), позволяющей получать более четкие и разрешенные зоны исследуемых веществ.

Установлено, что введение в выбранную ПФ добавок *спиртов* и *ацетонитрила* приводит к резкому увеличению подвижности рутина, зона которого сближается с зоной кверцетина на пластинах Сорбфил (А1) и Сорбфил (ПП), что не позволяет разделять флавоноиды. На Полиамиде-6 (рис. 1 г) хроматографическая зона рутина сильно размыта, а пятно кверцетина расположено вблизи линии старта, т.е. произошло обращение порядка элюирования этих флавоноидов. Разделять два эти флавоноида можно, а все четыре нельзя.

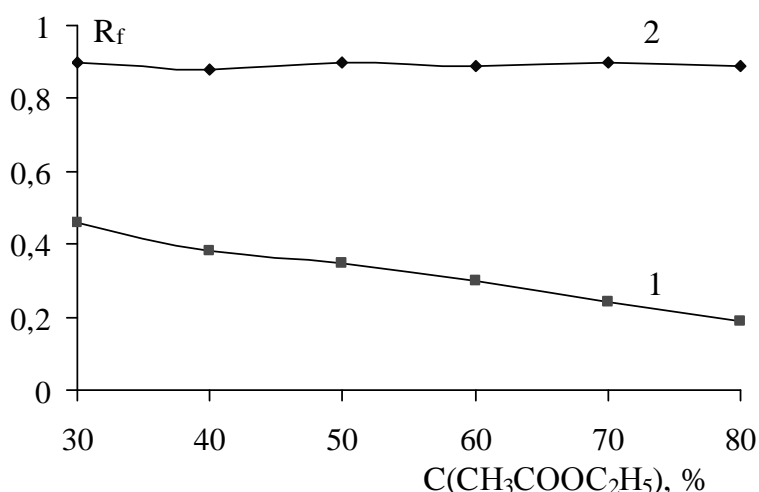


Рис. 2. Зависимость подвижности кверцетина и рутина от концентрации этилацетата. НФ: Сорбфил (А1). ПФ: этилацетат – уксусная кислота – вода (х:10:у). 1 – Рт, 2 – Кв. $C_{R} = 1.0$ мг/мл

Модификация выбранной ПФ заменой воды различными по природе и значениям рН буферными растворами, рекомендованными в [14], показала, что из трех буферов: ацетатно-аммиачного (рН=6.5), фосфатного (рН=6.5) и уротропинового (рН=6.5, 4.8, 3.5) лучшие результаты дает последний при рН=4.8. Его использование не только улучшило компактность зон флавоноидов, но и позволило снизить содержание этилацетата в ПФ с 70 до 50%. Дальнейшее уменьшение доли этилацетата вызывало сильное размывание зон обоих сорбатов. В связи с этим, лучшей водно-органической подвижной фазой являлась ПФ: этилацетат – уксусная кислота – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) (50:10:40).

Хроматографирование в модифицированных мицеллярных подвижных фазах

Предварительные исследования показали, что, независимо от природы и концентрации ПАВ, при использовании водно-мицеллярных ПФ подвижность кверцетина равна нулю, а более полярный рутин движется вместе с фронтом

элюента. Из этого факта вытекают два следствия: во-первых в присутствии мицелл ПАВ происходит гидрофобизация поверхности силикагеля и порядок элюирования флавоноидов соответствует обращенно-фазовой ТСХ, а во-вторых такая МПФ для разделения этих флавоноидов не пригодна. В связи с этим мы предприняли попытку модифицирования МПФ введением в их состав сильных электролитов и органических растворителей [15].

Установлено, что при добавлении в ПФ хлорида калия в интервале концентраций 0.25-1.25 М зоны обоих флавоноидов остаются на старте, т.е. электролит не только не улучшил подвижность кверцетина, но и полностью устранил подвижность рутина (эффект высаливания). Введение в МПФ 5-10% этилацетата также не привело к улучшению хроматографических свойств обоих веществ. Поэтому, была апробирована возможность комбинирования выбранной ранее водно-органической ПФ с мицеллярной, т.е. использования многокомпонентной системы, содержащей этилацетат – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) – ПАВ. Полученные результаты представлены на рис. 3, из которого видно, что при добавлении н-ПАВ и к-ПАВ зона кверцетина движется вместе с фронтом ПФ, т.е. эти комбинированные системы не пригодны для хроматографирования. Объединение водно-органической ПФ с мицеллярным раствором ДДС уменьшило подвижность кверцетина ($R_f \sim 0.90-0.95$) и увеличило подвижность рутина ($R_f \sim 0.37-0.38$), т.е. способствовало их отдельному определению. Кроме того введение ДДС позволило уменьшить концентрацию этилацетата в ПФ с 50 до 30%. Оптимальное соотношение компонентов в такой модифицированной ПФ равно: этилацетат – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) – ДДС ($C_{исх}=0.1$ М) (30:60:10). Следует также отметить, что ПФ на основе ДДС, модифицированная этилацетатом, позволила увеличить ΔR_f между зонами флавоноидов (табл. 2).

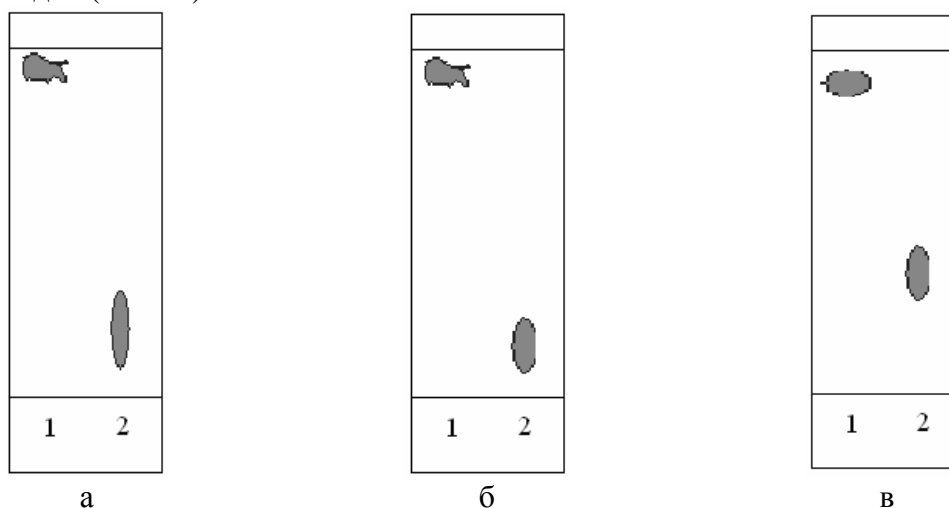


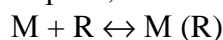
Рис. 3. Хроматограммы кверцетина и рутина. НФ: Сорбфил (Al). ПФ: этилацетат – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) – ПАВ (30:10:60). а – ТХ-100, б – ЦПХ, в – ДДС. $C(\text{ТХ-100})=0.3 \cdot 10^{-3}$ М, $C(\text{ЦТА}) = 1.0 \cdot 10^{-3}$ М, $C(\text{ДДС}) = 1.0 \cdot 10^{-2}$ М. 1 – Кв, 2 – Рт. $C_R=1.0$ мг/мл.

Анализ экспериментальных данных (рис. 4, табл. 2) позволил выявить следующие особенности, присущие хроматографическому разделению исследуемых флавоноидов в модифицированных МПФ:

- зависимость удерживания соединений от концентрации ПАВ;
- зависимость удерживания от гидрофобности веществ;

- влияние концентрации ПАВ на селективность разделения;
 - влияние концентрации ПАВ на эффективность разделения.
- Рассмотрим их более подробно.

1. Установлено, что с увеличением концентрации ДДС подвижность флавоноидов (кроме кверцетина) линейно растет в интервале концентраций ДДС $(1-5) \cdot 10^{-2}$ М (рис. 4). Этот факт согласуется с известными данными [16, 17] и результатами наших предыдущих исследований [18-23] и может быть связан с усилением связывания флавоноидов (R) с мицеллами ПАВ в ПФ вследствие смещения равновесия солюбилизации вправо,



где M – мицелла, M(R) – мицелла ПАВ с солюбилизированным флавоноидом, и их десорбции с поверхности силикагеля. При дальнейшем увеличении концентрации ДДС хроматографические зоны полярных флавоноидов размываются, а кверцетин перемещается вместе с фронтом ПФ.

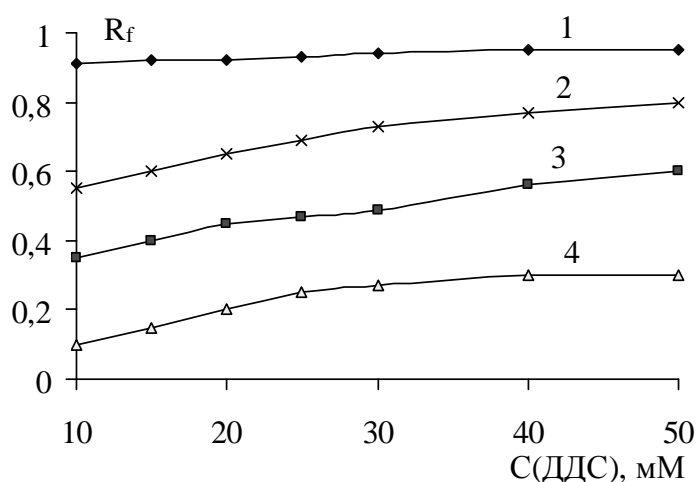
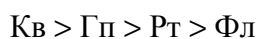


Рис. 4. Зависимость подвижности исследуемых флавоноидов от концентрации ДДС. НФ: Сорбфил (А1). ПФ: этилацетат – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) – ДДС. 1 – Кв, 2 – Гп, 3 – Рт, 4 – Фл. $C_R = 1.0$ мг/мл

2. Более гидрофобные вещества слабее удерживаются полярной неподвижной фазой, дополнительно модифицированной органическим растворителем и уксусной кислотой, и активнее переносятся модифицированной МПФ. На основании полученных данных построен ряд элюирования исследуемых флавоноидов, коррелирующий с изменением их гидрофобности в системе н-октанол – вода (табл. 2):



Можно отметить, что при использовании модифицированных растворителями МПФ эта последовательность такая же, как в исходной водно-органической ПФ. Это связано, по-видимому, с сильной адсорбцией органических растворителей на поверхности НФ, препятствующей адсорбции ПАВ и гидрофобизации неподвижной фазы. В результате порядок элюирования остается таким же, как в чистой водно-органической ПФ.

Увеличение ΔR_f между зонами всех флавоноидов (табл. 2) в присутствии ДДС имеет не только практическое значение, но и свидетельствует о возможной роли мицелл на подвижность веществ, что позволяет применить для количественной оценки взаимодействий в хроматографической системе модель Армстронга и Ноума [25].

Таблица 2. Удерживание исследуемых флавоноидов на полярной неподвижной фазе (Сорбфил (Al)). (n=3, P=0.95)

Сорбат	lgP	R _f	
		Водно-органическая ПФ	Модифицированная МПФ
Кверцетин	0.35	0.85	0.95
Гиперозид	-1.4	0.37	0.54
Рутин	-2.3	0.25	0.37
Фларонин	-2.9	0.18	0.09

3. Сравнительные характеристики эффективности и селективности разделения сорбатов в водно-органической и модифицированной мицеллярной ПФ представлены в табл. 3. Видно, что в модифицированной МПФ по сравнению с водно-органической ПФ селективность и эффективность разделения лучше. Так, для кверцетина значения N увеличиваются в 2 раза, для рутина в 10 раз. Значения R_s для рутина также меняются более существенно, чем для кверцетина.

Таблица 3. Параметры эффективности и селективности хроматографических систем. (n = 3, P = 0.95)

Сорбат	ПФ	R _f	ΔR _f	N·10 ⁻³	H, мм	R _s
Кверцетин	этилацетат – CH ₃ COOH – H ₂ O (70:10:20)	0.85	0.60	2.4	0.0024	65
Рутин		0.25		0.023	0.25	6.0
Кверцетин	этилацетат – уротропиновый буферный раствор – ДДС (30:60:10)	0.95	0.58	4.1	0.0013	98
Рутин		0.37		0.210	0.026	22

Количественная характеристика процессов в мицеллярной хроматографической системе

Согласно модели Армстронга и Ноума в мицеллярной жидкостной хроматографии (МЖХ) в отличие от ЖХ с водно-органическими ПФ, вещество распределяется не только между НФ и ПФ, но и дополнительно внутри самой ПФ – между водой и мицеллами ПАВ (присутствие растворителя можно не учитывать, считая его концентрацию постоянной, если зависимости R_f/(1-R_f) – C_{ПАВ} в модифицированной МПФ являются линейными [25]). Поэтому хроматографическое поведение сорбата зависит от соотношения трех коэффициентов распределения: K_{mw} – коэффициента распределения между мицеллой и водой; K_{sw} – коэффициента распределения между неподвижной фазой и водой; K_{sm} – коэффициента распределения между неподвижной фазой и мицеллой.

Возможность количественной оценки распределения веществ в системе вода – мицелла ПАВ методом ЖХ установлена Армстронгом и Стайном [18] и использована авторами этой статьи в ряде работ по мицеллярной ТСХ [22-24, 27, 28]. Для расчета величин параметров указанных коэффициентов распределения использовали уравнение вида:

$$\frac{R_f}{1-R_f} = \frac{V_m}{V_s} \cdot \left(\frac{\nu \cdot (K_{mw} - 1)}{K_{sw}} \right) \cdot C_m + \frac{V_m}{V_s} \cdot \frac{1}{K_{sw}}, \quad (1)$$

где V_s – объем неподвижной фазы; V_m – объем подвижной фазы; ν – парциальный удельный объем, мл/г, для ДДС ν=0,862 мл/г [24]; C_m – концентрация мицелл в подвижной фазе, C_m = (C-ККМ); C – общая концентрация поверхностно-активного

вещества в ПФ, K_{KM} – критическая концентрация мицеллообразования, г/мл; V_m/V_s – фазовое отношение.

Соотношение, описывающее зависимость удерживания (значения R_f) в ТСХ от концентрации мицелл ПАВ, может быть представлено уравнением прямой $y=ax+b$, в котором коэффициенты равны:

$$a = \frac{V_m}{V_s} \cdot \left[\frac{(K_{mw} - 1) \cdot \nu}{K_{sw}} \right], \quad (2)$$

$$b = \frac{V_m}{V_s} \cdot \frac{1}{K_{sw}}. \quad (3)$$

Переход к отношению a/b , т.е. к отношению угла наклона этой прямой (коэффициент a) к отрезку, отсекаемому на оси ординат (коэффициент b), позволяет сократить в уравнении величины V_m/V_s и K_{sw} и получить зависимости:

$$\frac{a}{b} = \frac{V_m \cdot (K_{mw} - 1) \nu \cdot K_{sw} \cdot V_s}{V_s \cdot K_{sw} \cdot V_m} = (K_{sw} - 1) \cdot \nu. \quad (4)$$

Тогда, измерив величину R_f и построив графическую функцию $R_f/(1-R_f) = f(C_m)$, коэффициенты распределения сорбатов между водой и мицеллами ПАВ в подвижной фазе можно рассчитать по формуле:

$$K_{mw} = \frac{a}{b \cdot \nu} + 1. \quad (5)$$

Коэффициент распределения K_{sw} можно вычислить, используя выражение (3).

K_{sm} представляет собой отношение двух предыдущих коэффициентов $K_{sm} = \frac{K_{sw}}{K_{mw}}$.

Значения свободной энергии, соответствующие этим распределениям, рассчитаны согласно [28] по формулам 6 и 7:

$$\Delta G_{nep} = -RT \ln K_{mw}, \quad (6)$$

$$\Delta G_{adc} = 2.3RT \lg \left(\frac{V_s}{V_m} \right) - 2.3RT \lg \left(\frac{1 - R_f}{R_f} \right). \quad (7)$$

Фазовое отношение V_m/V_s и величина, обратная этому отношению V_s/V_m , рассчитаны гравиметрическим методом [29]. Для этого предварительно взвешивали пластинку до прохождения через неё мицеллярной подвижной фазы (V_s), а затем после прохождения МПФ (V_m). Взяв отношение этих величин, рассчитали V_s/V_m . Значение фазового отношения V_s/V_m для ДДС равно 0.8125 ($n=3$). Для расчета коэффициентов распределения исследуемых флавоноидов в системе вода – мицеллы ДДС нами предварительно получены зависимости их подвижности от мицеллярной концентрации ДДС в подвижной фазе и построены графики в координатах $R_f/(1-R_f) = f(C_m)$ (рис. 5). Результаты расчета коэффициентов распределения даны в табл. 4.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что все исследуемые соединения относятся, согласно классификации Армстронга [25], к связывающимся с мицеллами ПАВ, так как значения K_{mw} для них $\gg 0$. Однако, увеличение числа гликозидных остатков в их молекулах (т.е. гидрофильности) приводит не к уменьшению, а увеличению связывания с мицеллами ДДС, так как в этом же направлении увеличивается K_{mw} . Этот факт, по-видимому, связан с адсорбцией флавоноидов на гидрофильной поверхности мицелл [30-32] за счет донорно-акцепторных взаимодействий и переноса сорбата мицеллами ПАВ. Гидрофобизацию

поверхности сорбента ионами ПАВ при этом предотвращает введение модификаторов – органических растворителей, что отличает данный вариант ТСХ от истинного мицеллярного варианта.

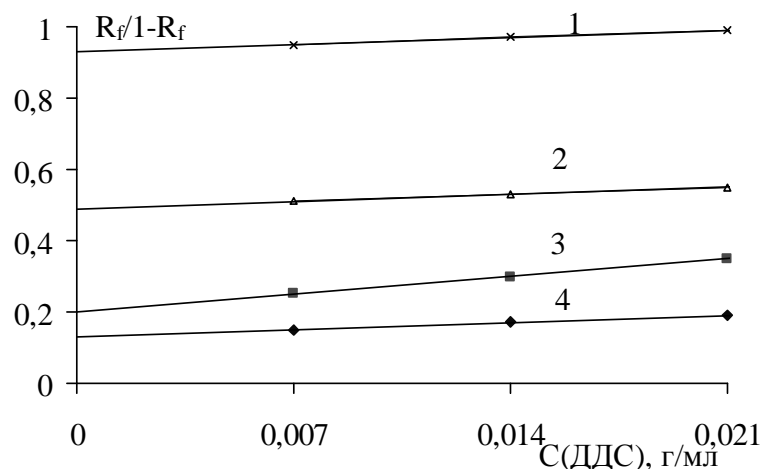


Рис. 5. Зависимости $R_f/(1-R_f)$ от концентрации мицеллярной формы ДДС для флавоноидов. НФ: Сорбфил (А1). ПФ: этилацетат – уротропиновый буферный раствор (рН=6.5) – ДДС (30:60:10). 1 – Кв, 2 – Гп, 3 – Рт, 4 – Фл. $C_R = 1.0$ мг/мл

Таблица 4. Коэффициенты распределения K_{mw} , K_{sw} , энергии переноса $\Delta G_{пер}$ реагентов из воды в мицеллы ДДС и энергии адсорбции $\Delta G_{адс}$ флавоноидов на Сорбфиле (А1)

Флавоноид	a	b	K_{mw}	$-\Delta G_{пер}$, кДж моль	K_{sw}	$-\Delta G_{адс}$, кДж моль	K_{sm}
Кверцетин	2.9	0.93	27	8.1	1.2	-0,05	22
Гиперозид	2.9	0.49	34	8.7	2.2	1.4	16
Рутин	5.7	0.23	$2.7 \cdot 10^2$	14	4.9	3.4	54
Фларонин	2.9	0.13	$3.7 \cdot 10^2$	15	8.6	4.8	43

Определение кверцетина и рутина в объектах

Полученные данные применены для разработки методик количественного определения кверцетина и рутина в лекарственных препаратах природного происхождения. С этой целью с применением исследованных ПФ построены градуировочные графики на кверцетин и рутин. Установлено, что использование мицеллярной ПФ обеспечивает лучшую чувствительность определения веществ. Также увеличивается коэффициент корреляции: для кверцетина от $R^2=0.993$ (водно-органическая ПФ) до $R^2=0.997$ (мицеллярная ПФ), для рутина от $R^2=0.995$ (водно-органическая ПФ) до $R^2=0.997$ (мицеллярная ПФ). В связи с этим, для количественного определения сорбатов в исследуемых объектах использовали ПФ, содержащую ДДС.

Было проанализировано четыре объекта: шелуха лука, софора японская, прополис (сухое вещество), настойка прополиса. Установлено, что подвижность кверцетина и рутина в индивидуальных препаратах, искусственной смеси и объектах совпадают, что является основой правильности идентификации определяемых веществ (рис. 6). Компоненты, мешающие определению кверцетина и рутина (пигменты различного происхождения и липофильные вещества), присутствующие в препаратах, удаляли с помощью избирательной экстракции четыреххлористым углеродом. Результаты определения представлены в табл. 5, 6 и на рис. 6.

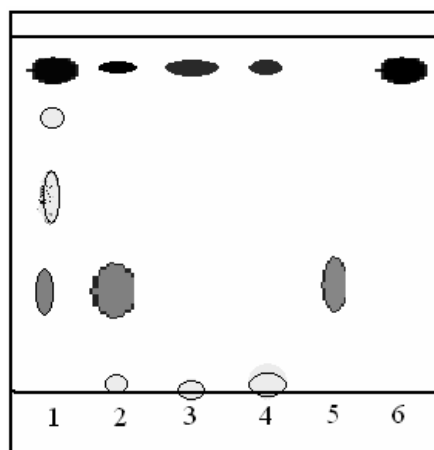


Рис. 6. Хроматограмма лекарственных препаратов и свидетелей. НФ: Сорбфил (Al). ПФ: этилацетат – уротропиновый буферный раствор (pH=6.5) – ДДС ($C=1.0 \cdot 10^{-2}$ М) (30:60:10). 1 – шелуха лука, 2 – софора японская, 3 – прополис (сухое вещество), 4 – настойка прополиса, 5 – Рт, 6 – Кв. $C_R=1.0$ мг/мл

Из рис. 6 видно, что в экстракте софоры японской и шелухе лука в разных соотношениях содержатся и кверцетин и рутин; в прополисе – только кверцетин. Так же в прополисе и в софоре японской обнаружено по одной неидентифицированной зоне, а в шелухе лука неидентифицированными остались две зоны.

Таблица 5. Результаты определения кверцетина и рутина в лекарственных объектах. ($n = 3$, $P = 0.95$)

Анализируемый образец	Найдено рутин		Найдено кверцетина			
	$X_{cp} \pm \Delta X$, мг/мл	Sr	$\Delta X / X_{cp}$, %	$X_{cp} \pm \Delta X$, мг/мл	Sr	$\Delta X / X_{cp}$, %
Софора японская	0.95 ± 0.10	0.036	11	0.25 ± 0.02	0.025	8
Шелуха лука	0.27 ± 0.04	0.051	15	0.90 ± 0.10	0.048	11
Прополис (сух. в-во)	-	-	-	0.71 ± 0.08	0.039	11
Прополис настойка	-	-	-	0.39 ± 0.04	0.035	10

Таблица 6. Правильность результатов определения флавоноидов в софоре японской ($n = 3$, $P = 0.95$)

Сорбат	Найдено в пробе, мг	Добавка, мг		Sr
		введено	найденно	
Кверцетин	25.0 ± 5.5	0.30	0.26 ± 0.03	0.041
Рутин	95.0 ± 2.0	0.30	0.27 ± 0.04	0.046

Таким образом, методом ТСХ проведено сравнение хроматографического поведения четырех флавоноидов – кверцетина, рутина, гиперозида и флаворина – в водно-органических и мицеллярных подвижных фазах при варьировании природы и концентрации ПАВ, органического растворителя и сильного электролита. В модифицированной МПФ найдены оптимальные условия для разделения зон флавоноидов и разработаны методики количественного определения кверцетина и

рутина в софоре японской, прополисе (в виде настойки и сухого вещества) и шелухе лука. Значения S_g не превышают 0.05.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 12-03-00450а.

Список литературы

1. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высш. школа, 1974. 214 с.
2. Будников Г.К., Зиятдинова Г.К. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии // Журн. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 7. С. 678-691.
3. Карцова Л.А., Алексеева А.В. Хроматографические и электрофоретические методы определения полифенольных соединений // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 11. С. 1126-1136.
4. Маркарян А.А., Абрамов А.А. Хроматографическое изучение фенольного состава сухого экстракта "Нефрофит" // Вестн. Московск. ун-та. Сер.2. Химия. 2003. Т. 44. № 5. С. 356-360.
5. Бубенчикова В.Н., Дроздова И.Л. Изучение состава фенольных соединений донника лекарственного методом ВЭЖХ // Хим. фарм. журн. 2004. Т. 38. № 4. С. 24-25.
6. Федосеева Л.М., Сивова Ю.С. Фитохимический анализ сбора на основе листьев бадана толстолистого // Вестн. АГМУ. Сер. Химия. 2005. № 6. С. 254.
7. Жукова О.Л., Абрамов А.А., Даргаева Т.Д., Маркарян А.А. Изучение фенольного состава подземных органов сабельника болотного // Вестн. Московск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2006. Т. 47. № 5. С. 342-345.
8. Kotani A., Miyashita N., Kusu F. Determination of catechins in human plasma after commercial canned green tea ingestion by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection using a microbore column // J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2003. V. 788. № 2. P. 269-275.
9. Ishii K., Furuta T., Kasuya Y. High-performance liquid chromatographic determination of quercetin in human plasma and urine utilizing solid-phase extraction and ultraviolet detection // J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2003. V. 794. № 1. P. 49-56.
10. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Качественный и количественный анализ сырья и препаратов солодки // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 1. С. 175-180.
11. Беланова Н.А., Карпов С.И., Селеменев В.Ф., Чепелева Е.О., Дроздова Н.В., Афиногенов Ю.П. Оптимизация разделения некоторых флавоноидов методом ТСХ // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2011. Т.11. № 6. С. 905-912.
12. Куликов А.Ю., Логинова Л.П., Самохина Л.В. Мицеллярная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе и других областях анализа (обзор) // Фармаком. 2004. Т. 4. № 1. С. 22-52.
13. Галат М.Н. Автореф. дисс. ...канд. хим. наук. Харьков: Харьковск. нац. ун-т им. В.Н. Каразина. Харьков, 2010. 20 с.
14. Карцова Л.А., Стрельникова Е.Г. Влияние организованных сред на хроматографическое и электрофоретическое определение лекарственных препаратов в биологических объектах // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64. № 2. С. 172-179.

15. Шилина Т.С., Ермакова В.А., Самылина И.А. и др. Разработка технологии получения сухого экстракта из грудного сбора №3 и исследование его фенольного комплекса // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2004. № 2. С. 282-287.
16. Сумина Е.Г. Организованные наносистемы в тонкослойной хроматографии // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2010. Т. 10. Вып. 1. С. 150-160.
17. Armstrong D.W., Terril R.Q. Thin layer chromatographic separation of pesticides, decachlorobiphenyl and nucleosides with micellar solutions // Anal. Chem. 1979. V. 51. № 13. P. 2160-2167.
18. Armstrong D.W., Stine G.Y. Evaluation of Partition Coefficients to Micelles and Cyclodextrins via Planar Chromatography // J. Amer. Chem. Soc. 1983. V. 105. № 10. P. 2962-2964.
19. Shtykov S.N, Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Thin layer chromatography of fluoresceine derivatives on direct and reversed stationary phases with aqueous micellar solutions // J. Planar Chromatogr. 1999. V. 12. № 2. P. 129-134.
20. Shtykov S.N, Sumina E.G., Tyurina N.V. Micellar mobile phases in TLC separation of some transition metal ions and their 1,3-diketones // J. Planar Chromatogr. 2000. V. 13. № 4. P. 264-268.
21. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Паршина Е.В., Лопухова С.С. Применение мицеллярных подвижных фаз для разделения производных флуоресцеина методом ТСХ // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50. № 7. С. 747-751.
22. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Гидрофобная ТСХ фенолкарбоновых кислот трифенилметанового ряда в мицеллах ПАВ // Изв. вузов. Химия и хим. технол. 2001. Т. 44. № 4. С. 10-13.
23. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Мицеллярная тонкослойная хроматография. Физико-химические особенности метода // Журн. физ. химии. 2002. Т. 76. № 9. С. 1683-1688.
24. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Тюрина Н.В. Мицеллярная тонкослойная хроматография: особенности и аналитические возможности // Рос. хим. журн. 2003. Т. 47. № 1. С. 119-126.
25. Armstrong D.W., Nome F. Partitioning behavior of solutes eluted with micellar mobile phases in liquid chromatography // Anal. Chem. 1981. V. 53. № 14. P. 1662-1666.
26. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque C. Micellar Liquid Chromatography. – Marcell Dekker, 2000. 632 p.
27. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Тюрина Н.В. Расчет коэффициентов межфазного распределения органических реагентов в мицеллярной ТСХ // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 4. С. 383-387.
28. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Поверхностно-активные вещества в тонкослойной хроматографии: обзор // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58. № 8. С. 808-819.
29. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография). М.: Химия. 1999. Т. 1, 2.
30. Штыков С.Н. Организованные среды – стратегия, основанная на принципах биоподобия в аналитической химии // Вісник Харків. Нац. Унів. (Вестник ХНУ). 2000. № 495. Химия. Вып. 6(29). С.9-14.
31. Штыков С.Н. Поверхностно-активные вещества в анализе. Основные достижения и тенденции развития // Журн. аналит. химии. 2000. Т. 55. № 7. С. 679-686.
32. Штыков С.Н. Химический анализ в нанореакторах: основные понятия и применение // Журн. аналит. химии 2002. Т. 57. № 10. С.1018-1028 .

Сумина Елена Германовна – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Штыков Сергей Николаевич - д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Ольга Николаевна Сорокина – ст. преподаватель кафедры химии Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, Саратов

Петракова Анастасия Васильевна – студентка Института химии Саратовского государственного технического университета, Саратов

Угланова Варсения Загидовна – к.х.н., доцент кафедры нефтехимии и техносферной безопасности Института химии Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, кандидат химических наук, Саратов

Sumina Elena G. – Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov, E-mail: SuminaEG@yandex.ru

Shtykov Sergei N. - Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Sorokina Olga N. - senior lecturer, Chair of chemistry, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov

Petrakova Anastsiya V. – student of Institute of Chemistry, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Uglanova Varseniya Z. - candidate of chemical sciences, associate professor, Chair of oil chemistry and technospherical safety, Institute of Chemistry, Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov