



УДК 543.544.14

Определение щавелевой кислоты методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием на ионитах различного типа

Юсенко Е.В., Лыжова А.И., Калякина О.П.,
Полынцева Е.А., Ефремов А.А.

Сибирский федеральный университет, Красноярск

Поступила в редакцию 3.08.2012 г.

Аннотация

Изучено применение двух типов ионитов: центрально-привитого (ЦПИ) и поверхностно-привитого (ППИ) для определения щавелевой кислоты методом ионной хроматографии (ИХ) с кондуктометрическим детектированием. Разработана методика определения оксалат-ионов. Предел обнаружения оксалатов составил 0,03 мг/л. Методика апробирована при анализе чая.

Ключевые слова: оксалат-ионы, методика определения, ионная хроматография, пищевые продукты

Two types of ion exchangers (central localized and surface layer) for qualitative determination of oxalic acid by ion chromatography with conductivity detection were studied. The limit of detection of oxalate was 0.03 mg/l. The method was tested in the analysis of tea.

Keywords: oxalate ions, method for determination, ion chromatography, food product

Введение

В настоящее время для идентификации оксалат-ионов в объектах сложного состава применяют такие методы как титрование, колориметрия, капиллярный электрофорез [1], хемилюминесценция [2], высокоэффективная жидкостная (ВЭЖХ), газовая (ГХ) [3] и ионная [4] хроматографии. Анализ методом ГХ требует сложной и длительной пробоподготовки с предварительной дериватизацией. В методе ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием определять щавелевую кислоту нерационально, так как она не имеет четкого максимума поглощения и ее спектр схож со спектром воды. Поскольку это сильная органическая кислота с $pK_{a_1} = 1,27$ и $pK_{a_2} = 3,80$, эффективнее ее определять методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием, однако известна всего лишь одна такая работа [5].

Щавелевая кислота присутствует во многих продуктах питания, таких как шпинат, ревень, петрушка, свекла, кофе, чай и шоколад [6-7]. Нерастворимые оксалаты кальция и магния способны накапливаться в виде мочевых камней в организме человека, оказывая неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему и приводя к различным патологиям [8-9]. Целью настоящей работы

являлась разработка аналитической методики определения щавелевой кислоты методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием, определение ее метрологических характеристик и апробация на образцах чая.

Эксперимент

Модельные растворы смеси анионов, содержащие фторид-, хлорид-, фосфат-, нитрат- и сульфат-ионы, готовили из ГСО (ОАО «Уральский завод химических реактивов», Россия, 1 г/л), внося соответствующие аликвоты растворов в мерную колбу и доводя до метки деионизованной водой. Раствор оксалат-иона с концентрацией 1 г/л готовили путем растворения точной навески щавелевой кислоты (Sigma-Aldrich) в деионизованной воде. Градуировочные растворы (0,01-20 мг/л) готовили последовательным разбавлением модельных растворов непосредственно перед анализом.

Работу выполняли на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu) с кондуктометрическим детектором. Изучена возможность применения двух хроматографических колонок: 120x5 мм КанК-АСт-14 мкм (элюент: 1,9 мМ Na₂CO₃+2,4 мМ NaHCO₃, скорость потока элюента 1,5 мл/мин) и 250x4 мм Shodex IC SI-90 4E-9 мкм (элюент: 1,8 мМ Na₂CO₃+1,7 мМ NaHCO₃, скорость подачи 1,0 мл/мин). В обеих системах применяли подавительную колонку: 200x6 мм СПС-SAC-50 мкм; температура термостата 33 °С, объем вводимой пробы 20 мкл. Управление прибором и обработку хроматограмм осуществляли с использованием программы LCsolution на персональном компьютере.

Образцы чая («Тесс» китайский чай зеленый байховый, Россия; «Тесс» цейлонский чай черный байховый, Россия) заваривали по ISO 3103 [10]. Для этого брали 2 г сухого чая и 100 мл деионизованной воды температурой 100 °С, выдерживали 6 мин. После чего декантировали, фильтровали от механических примесей, разбавляли в 10 раз и подвергали хроматографическому анализу.

Обсуждение результатов

В ходе предварительных экспериментов были оптимизированы условия для разделения наиболее распространенных в биологических объектах и пищевых продуктах неорганических анионов: фторидов, хлоридов, фосфатов, нитратов, сульфатов. Установлено, что для хроматографической системы с использованием колонки КанК-АСт наилучшее разделение наблюдается при использовании элюента состава 1,9 мМ Na₂CO₃+2,4 мМ NaHCO₃ при скорости элюирования 1,5 мл/мин. Для изучения возможности идентификации оксалатов с использованием данной системы установили время удерживания оксалат-ионов в оптимальных для неорганических анионов условиях, оно составило $t_R=13,73\pm 0,01$ мин. Из литературных [6] и экспериментальных данных следует, что определению оксалатов мешает присутствие сульфат-ионов ($t_R=12,20\pm 0,01$ мин). На рисунке 1 представлена хроматограмма модельного раствора, содержащего эквивалентные количества сульфат- и оксалат-ионов. Разрешение пиков составило $R_s=0,91$.

Количественно идентифицировать оксалаты в данных условиях нецелесообразно. Поэтому было изучено влияние различных факторов на степень разделения пиков. Проведенные эксперименты показали, что при снижении скорости элюирования достигается незначительное увеличение разрешения пиков. При разбавлении элюента также не было достаточного увеличения в степени разделения (табл. 1).

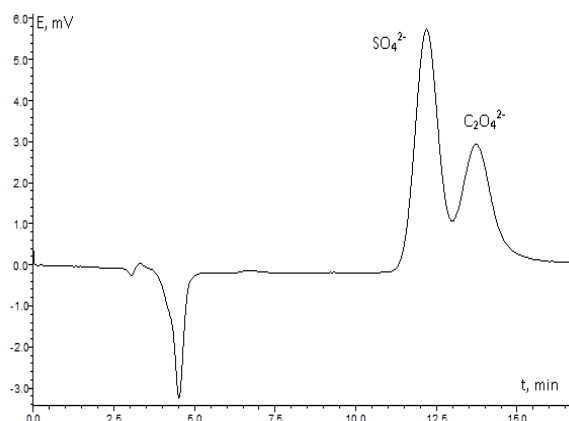


Рис. 1. Хроматограмма модельного раствора оксалат- и сульфат- ионов $C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 1/1$ на колонке КанК-АСт (120x5 мм). Элюент: 1,9 мМ Na_2CO_3 + 2,4 мМ $NaHCO_3$, скорость подачи элюента 1,5 мл/мин

Таблица 1. Изучение влияния скорости элюирования и состава элюента на степень разделения оксалат- и сульфат-ионов с использованием ЦПИ

Скорость элюирования, мл/мин	Степень разрешения, R_s	Состав элюента $Na_2CO_3/NaHCO_3$ мМ	Степень разрешения, R_s
1.5	0.91	1.9/2.4	0.91
1.0	1.02	1.9/2.0	0.98
0.5	1.14	1.9/1.7	1.16

В данной хроматографической системе использовали аналитическую колонку, заполненную центрально-привитым ионитом (ЦПИ). Зерно ЦПИ в центральной части имеет ядро с ионообменными функциональными группами, окруженное проницаемым слоем полимера, инертного по отношению к обмениваемым ионам. Полимерный слой вокруг ядра придает зерну необходимую жесткость и достаточно большие размеры, предотвращая чрезмерное гидродинамическое сопротивление слоя, обеспечивает быстрый транспорт ионов к ионообменному ядру и равномерно распределяет поток ионов на границе с ядром, уменьшает емкость слоя сорбента до требуемых значений [11-12]. Возможно, вследствие того, что сульфат- и оксалат-ионы имеют одинаковые заряды, размеры гидратированных ионов и близкие константы обмена, пики этих сильноудерживаемых анионов размываются на данном сорбенте и изменение скорости подачи и состава элюента не позволяют добиться полного разрешения. В работе исследовали возможность применения другого типа сорбента — поверхностно-привитого ионита (ППИ), отличающегося тем, что функциональные группы расположены в поверхностном слое зерна сорбента, что обеспечивает хорошую внутридиффузионную кинетику [13]. Вероятнее всего, это будет способствовать меньшему размыванию пиков сульфат- и оксалат-ионов и их лучшему разрешению.

В условиях, указанных в паспорте колонки Shodex IC SI-90, заполненной ППИ, применяемой для определения неорганических анионов (1,8 мМ Na_2CO_3 + 1,7 мМ $NaHCO_3$, скорость подачи 1,0 мл/мин), было изучено поведение оксалат-ионов. Также как и в предыдущей системе сульфат- и оксалат-ионы имели близкие времена удерживания, но степень разрешения при их эквимольных соотношениях составляла уже $R_s=1,64$, что позволило количественно определять оксалаты. Было

изучено мешающее влияние, оказываемое сульфат-ионами. На рис. 2 приведена хроматограмма модельного раствора двух анионов в соотношении $C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 5/1$.

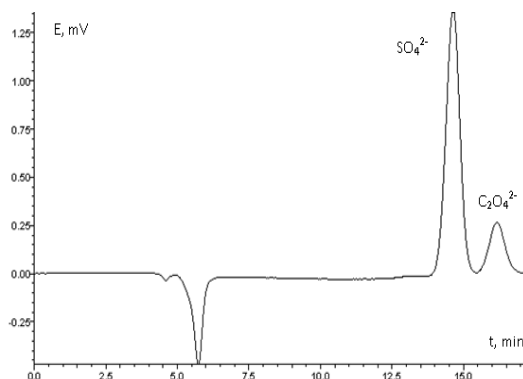


Рис. 2. Хроматограмма модельного раствора оксалат- и сульфат-ионов $C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 5/1$ на колонке Shodex IC SI-90 (250×4 мм). Элюент: 1,8 мМ Na_2CO_3 +1,7 мМ $NaHCO_3$, скорость подачи элюента 1,0 мл/мин

В табл. 2 показано влияние различных соотношений сульфат-ионов на определение оксалатов. Видно, что использование данной аналитической колонки позволяет добиться удовлетворительного разделения оксалат- и сульфат-ионов даже при 20-ти кратном избытке последнего.

Согласно литературным данным [14] содержание сульфат-ионов в большинстве биологических объектах и продуктах питания не превышает 20-ти кратного избытка. Далее установили метрологические характеристики разработанной методики с применением колонки Shodex IC SI-90, результаты приведены в табл. 3.

Для проверки возможности применения разработанной методики в анализе пищевых продуктов было проведено определение оксалат-ионов в образцах черного и зеленого непакетированного чая без добавок одной фирмы производителя. Проведение апробации методики на образцах чая обусловлено тем, что он является вторым по популярности напитком в рейтинге самых употребляемых жидкостей, уступая лишь воде, и находится в списке продуктов с высоким содержанием оксалатов [15].

На рис. 3 представлены хроматограммы черного и зеленого чая «Тесс». Идентификацию компонентов проводили по временам удерживания каждого компонента, сравнивая хроматограмму образца и модельного раствора.

Таблица 2. Изучение мешающего влияния сульфат-ионов на определение оксалат-ионов с использованием ППИ (n=3; p=0,95)

Определяемый ион	Время удерживания t_R , мин	Ширина пика у основания W_b , мин	Степень разрешения, R_s
1	2	3	4
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 1/1$			
SO_4^{2-}	14.26	0.86	1.64
$C_2O_4^{2-}$	15.76	0.97	
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 2/1$			
SO_4^{2-}	14.24	0.88	1.61
$C_2O_4^{2-}$	15.71	0.95	

1	2	3	4
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 5/1$			
SO ₄ ²⁻	14.40	0.93	1.59
C ₂ O ₄ ²⁻	15.92	0.99	
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 20/1$			
SO ₄ ²⁻	14.50	0.90	1.58
C ₂ O ₄ ²⁻	15.98	0.99	
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 30/1$			
SO ₄ ²⁻	14.37	0.99	1.13
C ₂ O ₄ ²⁻	15.82	1.60	
$C_{SO_4^{2-}} / C_{C_2O_4^{2-}} = 50/1$			
SO ₄ ²⁻	14.42	0.87	1.01
C ₂ O ₄ ²⁻	15.86	1.99	

Таблица 3. Характеристики методики определения оксалат-ионов с использованием ППИ (n=3; p=0,95)

Время удерживания t _R , мин	Уравнение градуировочного графика	r	Диапазон определяемых содержаний, мг/л*	Предел обнаружения, мг/л
15.83±0.01	C=0.0002·S+0.0419	0.9998	0.06-20	0.03

*Диапазон измеряемых содержаний приведен без учета возможного разбавления/упаривания пробы

По результатам исследований в пробах чая были идентифицированы фторид-, хлорид-, нитрат-, фосфат-, сульфат- и оксалат-ионы. Из полученной хроматограммы видно, что пик фторид-иона имеет несимметричную форму, что свидетельствует о присутствии нескольких анионов, имеющих близкие времена удерживания с фтором и, следовательно, выходящих с ним одним пиком. По литературным данным известно, что такими компонентами могут быть ацетат- и формиат-ионы [16]. Для точной идентификации и количественного определения фторид-ионов необходимы дальнейшие исследования.

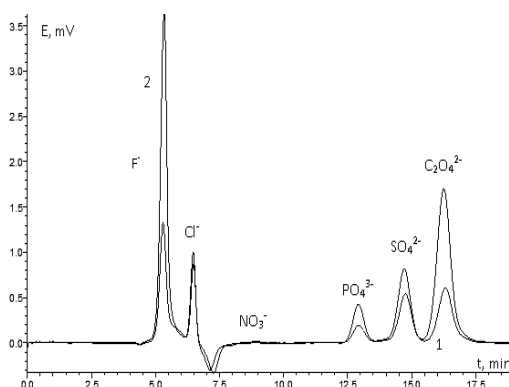


Рис. 3. Хроматограммы образцов зеленого (1) и черного (2) чая «Tess»
Разделяющая колонка Shodex IC SI-90 (250×4 мм). Элюент:
1,8 мМ Na₂CO₃+1,7 мМ NaHCO₃, скорость подачи элюента 1,0 мл/мин

Присутствие в образцах чая нитрат-, фосфат-, сульфат-ионов может быть объяснено использованием различных удобрений и пестицидов при выращивании растения. Самым распространенным классом пестицидов являются

хлорорганические и фосфорорганические соединения. Легко растворяясь в дождевой воде, пестициды проникают в почву. Несмотря на широчайшую рекламу их безвредности и эффективности, они являются одними из самых опасных веществ, вызывающих злокачественные опухоли, аллергии и другие заболевания (табл. 4) [17-18].

Таблица 4. Результаты анализа образцов чая «Tess» (n=3; p=0,95)

Категория чая	Содержание определяемого иона, мг/л				
	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	C ₂ O ₄ ²⁻
Черный	35±2	0.34±0.01	4.1±0.1	43±2	113±5
Зеленый	26±1	0.44±0.01	1.91±0.07	44±2	43±2

Черный чай проходит несколько часов окисления до пропарки и сушки, в отличие от зеленого чая, который не подвергается окислительным процессам [19]. Содержание оксалатов самое высокое в черном чае и самое низкое в зеленом, что и подтверждается нашими исследованиями. Правильность и воспроизводимость результатов подтверждены методом «введено-найденно» (табл. 5).

Таблица 5. Результаты определения оксалат-ионов методом «введено–найденно» (n=3; p=0,95)

Концентрация в пробе чая, мг/л	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	S _r
113±5	5	118±6	0.03
	10	123±6	0.03
	20	133±7	0.04

Заключение

Таким образом, разработана селективная методика количественного определения щавелевой кислоты методом ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием с использованием поверхностно-привитого ионита. Предел обнаружения оксалатов составляет 0,03 мг/л, диапазон определяемых содержаний 0,06-20 мг/л. Данная методика также позволяет одновременно с оксалат-ионами количественно определять хлорид-, нитрат-, фосфат-, сульфат-ионы. Разработанная методика может быть использована для анализа объектов сложного состава – пищевых продуктов.

Список литературы

1. Fu C., Wang L., Fang Y. Determination of oxalic acid in urine by co-electroosmotic capillary electrophoresis with amperometric detection // *Talanta*. 1999. V. 50. P. 953-958.
2. Rubinsteln I., Martin C.A., Bard A.J. Electrogenerated chemiluminescent determination of oxalate // *Analytical Chemistry*. 1983. V. 55. P. 1580-1582.
3. Kawamura K., Barrie L.A., Toom-Sauntry D. Intercomparison of the measurements of oxalic acid in aerosols by gas chromatography and ion chromatography // *Atmospheric environment*. 2010. V. 44. P. 5316 – 5319.
4. Lachenmeir D., Richling E., Lopez G. Multivariate analysis of FTIR and chromatographic data for quality control // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005. V. 53. P. 2151-2157.
5. Geng X., Zhang S., Wang Q., Zhao Z. Determination of organic acids in the presence of inorganic anions by ion chromatography with suppressed conductivity detection // *Journal of Chromatography A*. 2008. V. 1192. P.187-190.

6. Rassam M., Laing W. Variation in ascorbic acid and oxalate levels in the fruit of *Actinidia chinensis* tissues and genotypes // *Journal Agric Food Chem.* 2005. V. 53(6). P. 2322-2326.
7. Schroder T., Vanhanen L., Savage G. Oxalate content in commercially produced cocoa and dark chocolate // *Journal of Food Composition and Analysis.* 2011. V. 24 (7). P. 916-922.
8. Hodgkinson A., Zarembski P. Oxalic acid metabolism in man // *Calc. Tiss. Res.* 1968. V. 2. P. 115-132.
9. Мельник А.В., Мельник А.И. Особенности обмена щавелевой кислоты при расстройствах тонкокишечного переваривания и всасывания у детей // *Сборник научных работ имени Я.Д. Витебского.* 1999. Вып III. С. 127 – 133.
10. ISO 3103:1980. Method for. Preparation of a liquor of tea for use in sensory tests. – 07.2002. London: Chiswick High Road. 2002. P. 11.
11. Долгоносов А.М. Ионная хроматография на центрально-привитом анионообменнике // *Журнал физической химии.* 1984. Т. 58, №8. С. 1989-1991.
12. Долгоносов А.М., Лазейкина М.А. Получение центрально-привитых анионитов и определение трудноразделяемых компонентов методом ионной хроматографии // *Журнал аналитической химии.* 1988. Т. 43, № 11. С. 2048-2052.
13. Чернова М.В., Шашнина Г.В., Пирогов А.В. Ионохроматографическое определение констант ионного обмена некоторых органических катионов и аминов на сульфоацелированном катионообменнике // *Вестник московского ун-та.* 2004. Т. 45, №1. С. 27-30.
14. Kok W., Groenendijk G. Determination of oxalic acid in biological matrices by liquid chromatography with amperometric detection // *Journal of Chromatography.* 1984. V. 315. P. 271-278.
15. Sang S., Lambert D., Ho C., Yang C. The chemistry and biotransformation of tea constituents // *Pharmacological Research.* 2011. V. 64. P. 87-99.
16. Тимофеева Е.А., Калякина О.П. Ионохроматографическое определение фторид-ионов в природных объектах г. Красноярска // *Материалы Всерос. конф. «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез».* Краснодар. 2010. С. 100.
17. Татарченко И.И., Мохначев И.Г., Касьянов Г.И. Химия субтропических и пищевкусных продуктов // *Академия.* 2003. 256 с.
18. Flaten T. Aluminium in tea - concentrations, speciation and bioavailability // *Coordination Chemistry Reviews.* 2002. V. 228. P. 385-395.
19. Trevisanato S.I., Kim Y.I. Tea and health // *Nutr Rev.* 2000. V. 58. P. 1-10.

Юсенко Елена Валерьевна – аспирант кафедры органической и аналитической химии ИЦМиМ Сибирского федерального университета, Красноярск

Лыжова Анна Игоревна – студент кафедры органической и аналитической химии ИЦМиМ СФУ, Красноярск

Калякина Ольга Петровна – канд. хим. наук, доцент кафедры химии и технологии природных энергоносителей и углеродных материалов ИНиГ СФУ, Красноярск

Полынцева Евгения Александровна – канд. хим. наук, старший преподаватель кафедры органической и аналитической химии ИЦМиМ СФУ, Красноярск

Ефремов Александр Алексеевич – д.х.н., профессору кафедры органической и аналитической химии ИЦМиМ СФУ, Красноярск

Yusenko Elena V. – graduate student of the Department of Organic and Analytical Chemistry, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, e-mail: elena.yusenko@yahoo.com

Lyzhova Anna I. - student of the Department of Organic and Analytical Chemistry, SFU, Krasnoyarsk

Kalyakin Olga P. – PhD, Associate Professor of the Department of Chemistry and Technology of Natural Fuels and Carbon Materials, SFU, Krasnoyarsk

Polyntseva Evgeniya A. – PhD, Senior Lecturer of the Department of Organic and Analytical Chemistry, SFU, Krasnoyarsk

Efremov Alexander A. – Doctor of Science, Professor of Organic and Analytical Chemistry, SFU, Krasnoyarsk