

Анализ вещества

УДК 543.545.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЙОДИД-ИОНА В МОРСКОЙ КАПУСТЕ МЕТОДОМ МИКРОЭМУЛЬСИОННОЙ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОЭМУЛЬСИЙ ТИПА «ВОДА В МАСЛЕ» И ЭЛЕКТРОСТЭКИНГА¹

© А. А. Дербина, А. В. Пирогов, И. Д. Каргин, М. В. Попик, О. А. Шпигун²*Статья поступила 8 апреля 2015 г.*

Предложен способ определения йодид-иона в образцах морской капусты методом микроэмульсионной электрокинетической хроматографии с использованием микроэмульсий типа «вода в масле» в сочетании с предварительным электростэкингом. На примере модельной смеси неорганических анионов показано, что использование on-line концентрирования позволяет снизить пределы обнаружения аналитов в 490 – 930 раз. Установлено, что количественного извлечения йодид-иона удалось достичь при пробоподготовке высушенного образца морской капусты. Предложенный способ определения йодида характеризуется простотой, экспрессностью (время анализа составляет 10 мин, пробоподготовки — 16 мин). Сходимость результатов измерений — 5,2 %, внутрилабораторная прецизионность — 7,3 %, предел обнаружения — 110 мкг/кг высушенного образца (9,2 мкг/кг в пересчете на свежую морскую капусту).

Ключевые слова: йодид; микроэмульсия типа «вода в масле»; микроэмульсионная электрокинетическая хроматография; электростэкинг; он-лайн концентрирование.

Микроэмульсии представляют собой гомогенные многокомпонентные жидкие коллоидные смеси масла и воды, стабилизированные слоем поверхностно-активного вещества (ПАВ) [1, 2]. Под маслом в данном случае понимают любое органическое вещество, ограниченно растворимое в воде. В зависимости от того, какая жидкость образует макрофазу, выделяют два основных типа микроэмульсий (рис. 1): прямая микроэмульсия «масло в воде» (М/В) — микрокапли масла, взвешенные в водной среде; обратная микроэмульсия «вода в масле» (В/М) — микрокапли воды, взвешенные в неполярной органической фазе. В отличие от макроэмульсий (эмульсий) микроэмульсии являются термодинамически устойчивыми, оптически прозрачными системами с высокой площадью поверхности [3].

Микроэмульсионная электрокинетическая хроматография (МЭЭКХ) — вариант капиллярного электрофореза с использованием микроэмульсии в качестве фоновой электролита [4]. Метод МЭЭКХ пригоден для определения веществ, имеющих различие в элек-

трофоретической подвижности, и позволяет с высокой эффективностью разделять сложные смеси заряженных и нейтральных веществ, охватывающих широкий диапазон растворимости в воде. В большинстве работ, посвященных МЭЭКХ, описано использование микроэмульсий типа «масло в воде» для разделения сложных смесей гидрофобных веществ [5 – 7]. Вариант МЭЭКХ с использованием микроэмульсий типа «вода в масле» (В/М МЭЭКХ) практически не изучен и представляет большой интерес в связи с уникальностью свойств таких фоновых электролитов [8, 9]. Метод В/М МЭЭКХ пригоден для разделения сложных смесей полярных веществ нейтральной и ионной природы. Эта новая разновидность капил-

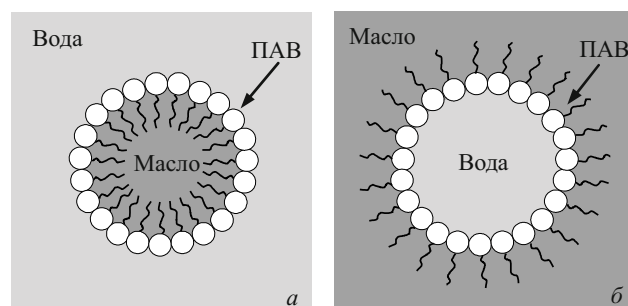


Рис. 1. Структура прямой (а) и обратной (б) микроэмульсий

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-03-00394) и Министерства образования РФ (грант № 14.513.11.075)

² МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия;
e-mail: a-derbina@list.ru

лярного электрофореза позволяет разделить вещества с очень близкими значениями коэффициента гидрофобности ($\log P$), что зачастую не удается при использовании М/В МЭЭКХ или мицеллярной электрокинетической хроматографии.

Йод имеет большое значение для организма человека, поскольку входит в состав гормонов щитовидной железы (тироксин, трийодтиронин). Этот элемент является био- и иммуностимулятором, препятствует свертываемости крови и образованию тромбов, повышает потребление кислорода тканями организма. Согласно оценкам исследователей Всемирной организации здравоохранения около одного миллиарда людей в развивающихся странах имеет высокую вероятность развития заболеваний, вызванных дефицитом йода. Недостаток этого элемента можно компенсировать за счет употребления морепродуктов (креветок, морской рыбы, морской капусты). В меньших количествах йод содержится также и в других продуктах (печень, яйца, молоко).

Определение йода в различных продуктах питания является важной задачей, для решения которой применяют разные методы: как достаточно чувствительные, простые и доступные (титриметрический, фотометрический, ионометрический, вольтамперометрический) [10], так и менее доступные, высокоинформативные и чувствительные, но требующие хорошего инструментального оснащения или специальных реагентов. К последним могут быть отнесены методы изотопного разбавления, нейтронно-активационного анализа и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) [11]. Практически все методы определения йода требуют предварительной пробоподготовки, для большинства способов детектирования йода органическая составляющая пищевого продукта мешает проведению анализа.

Целью данной работы является изучение возможности использования метода В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным on-line концентрированием для определения йода в образцах морской капусты, выбор условий пробоподготовки, обеспечивающих количественное извлечение аналита, а также оценка метрологических характеристик предложенного подхода.

В работе использовали систему капиллярного электрофореза Agilent 3DCE (Agilent Technologies, США) с диодно-матричным детектором, автосэмплером, системой контроля температуры $(15 - 60) \pm 0,1$ °C и кварцевым капилляром общей длиной 48,5 см (эффективной длиной 40 см), внутренним диаметром 75 мкм (Polymicro Technologies, США). Регистрацию электрофореграмм осуществляли с помощью персонального компьютера и программного пакета «3D-CE ChemStation Rev. A.10.02 [1757]» (Agilent Technologies, США).

Для отбора точных аликвот вещества применяли автоматические дозаторы объемом 5 – 50, 20 – 200 и 100 – 1000 мкл с пределом допускаемой погрешности измерения не более ± 5 % (LABMATE, Польша). Пробоподготовку осуществляли с использованием ультразвуковой термостатируемой ванны («САПФИР», Россия). Точные навески отмеряли с помощью весов «Explorer Pro» (Ohaus Corporation, США), точность которых составляла 0,0001 г. Для центрифугирования образцов использовали центрифугу CM-50 (Elmi, Латвия).

В работе использовали следующие реактивы: додецилсульфат натрия (ДДСН, содержание основного компонента ≥ 85 %), бутанол-1 ($\geq 99,5$ %), гидрофосфат натрия моногидрат ($\geq 99,5$ %), дигидрофосфат натрия дигидрат (≥ 98 %) — все производства Panreac, Испания; тиоцианат калия (≥ 99 %), йодид калия (≥ 99 %), бромид калия (≥ 99 %), нитрат натрия (≥ 99 %), нитрит натрия (≥ 99 %) — все Merck, Германия; деионизованную воду с удельным сопротивлением не менее 18,2 МОм/см (Millipore, США). Все исследованные образцы морской капусты были приобретены в продуктовых магазинах г. Москва.

Новые кварцевые капилляры последовательно промывали 1 М раствором гидроксида натрия (в течение 10 мин), водой (10 мин) и В/М микроэмульсией (15 мин). Перед началом рабочего дня капилляр промывали 0,1 М раствором гидроксида натрия и водой (5 мин), затем В/М микроэмульсией (10 мин), а в конце рабочего дня — 0,1 М раствором гидроксида натрия и водой (по 15 мин). Между анализами капилляр промывали В/М микроэмульсией в течение 2 мин. Эксперименты проводили при 40 °C, приложенное напряжение составляло –30 кВ (с обращением полярности). Спектрофотометрическое детектирование осуществляли на длинах волн 200 – 254 нм.

Обратную микроэмульсию (В/М), содержащую 5 % ДДСН, 80 % бутанола-1, 15 % 70 мМ фосфатного буферного раствора (рН 7,0), готовили растворением навески ДДСН в точно измеренном объеме бутанола-1 с последующим добавлением водного фосфатного буферного раствора. Затем полученный раствор помещали в ультразвуковую ванну до образования стабильной и оптически прозрачной микроэмульсии (~5 мин).

Пробоподготовку реальных образцов морской капусты проводили следующим образом. Для анализа свежей морской капусты ее навеску массой 0,5 г измельчали в ступке, затем добавляли 10 мл деионизованной воды. Полученную смесь помещали в ультразвуковую ванну на 10 мин, после чего проводили центрифугирование при 16000 мин⁻¹ в течение 3 мин. Надосадочную жидкость отбирали для последующего анализа.

Для анализа высушенной морской капусты образец морской капусты предварительно высушивали при температуре 110 °C в течение 2 ч до постоянной мас-

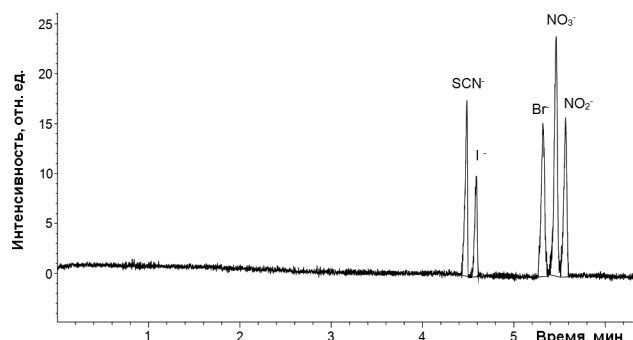


Рис. 2. Электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов ($c = 25$ мг/л) в варианте В/М МЭЭКХ; условия электрофоретического разделения — ввод пробы гидродинамический (50 мбар в течение 10 с), напряжение — 30 кВ (с обращением полярности), температура 40 °С, детектирование при 210 нм

сы. Точную навеску 0,2 г высушенного образца тщательно измельчали в ступке, затем добавляли 10 мл деионизованной воды. Полученную смесь помещали в ультразвуковую ванну, после чего центрифугировали при 16000 мин⁻¹ в течение 3 мин. Водную фазу отбিরали для последующего анализа.

Использование метода В/М МЭЭКХ для определения неорганических анионов

Метод В/М МЭЭКХ пригоден для анализа смесей полярных ионогенных и нейтральных веществ. Применимость этого варианта капиллярного электрофореза рассмотрена на примере анализа модельной смеси неорганических анионов (тиоцианат-, йодид-, бромид-, нитрат- и нитрит-ионов). Данные анионы имеют сильное поглощение в УФ области спектра и могут быть определены при спектрофотометрическом детектировании. Установлено, что использование В/М микроэмульсии оптимального состава (5 % масс. ДДСН, 80 % масс. бутанола-1 и 15 % масс. 70 мМ фосфатного водного буферного раствора) позволяет добиться полного разделения смеси анионов (рис. 2).

Наряду с другими аналитическими методами капиллярный электрофорез обладает рядом преимуществ, такими как высокая эффективность, простота, экспрессность, минимальный расход растворителей. Одним из основных недостатков этого метода является низкая чувствительность, связанная с малой длиной оптического пути при спектрофотометрическом детектировании и небольшим объемом вводимой пробы [12, 13]. Для значительного снижения пределов обнаружения зачастую используют различные варианты предварительного on-line концентрирования определяемых веществ в капилляре. Одним из наиболее эффективных вариантов концентрирования заряженных анионов, при котором чувствительность определения увеличивается примерно в 1000 раз, является стэкинг с усилением поля при вводе пробы или электростэкинг, основанный на электрокинетическом вводе

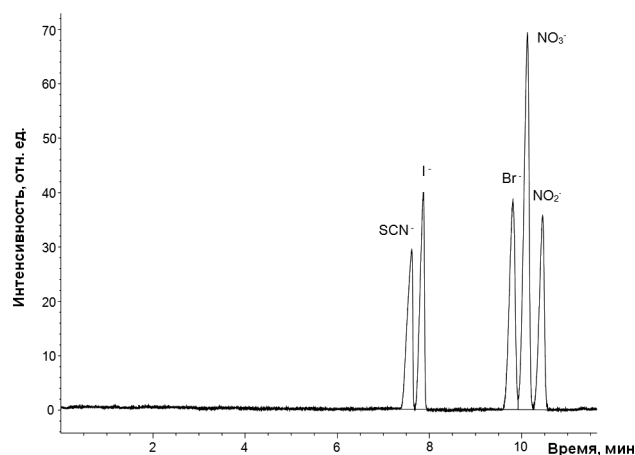


Рис. 3. Электрофореграмма модельной смеси неорганических анионов ($c = 100$ мкг/л) в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным электростэкингом: гидродинамический ввод зоны бутанола-1 (50 мбар в течение 10 с), затем электрокинетический ввод пробы (–20 кВ в течение 30 с)

ионогенных анионов, растворенных в низкопроводящей матрице [14, 15].

На примере модельной смеси неорганических анионов исследована возможность сочетания В/М МЭЭКХ с предварительным электростэкингом. Для дополнительного увеличения фактора концентрирования перед электрокинетическим вводом пробы в капилляр гидродинамически вводили зону низкопроводящего органического растворителя (бутанола-1) при 50 мбар в течение 10 с. Затем электрокинетически вводили пробу при напряжении – 20 кВ в течение 30 с, при этом анионные компоненты пробы концентрировались на границе раздела фаз бутанола-1 и В/М микроэмульсии. Далее входной конец капилляра помещали в раствор фонового электролита и проводили разделение анионов. На рис. 3 представлена электрофореграмма модельной смеси анионов в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным электростэкингом.

Для количественной оценки степени концентрирования используют фактор эффективности концентрирования (SEF — sensitivity enhancement factor), рассчитываемый на основании высот пиков (SEF_{height}):

$$SEF_{\text{height}} = \frac{\text{высота пика, полученного при концентрировании}}{\text{высота пика, полученного при обычных условиях ввода пробы}} \Delta,$$

где Δ — коэффициент разбавления [16].

В таблице представлены результаты определения анионов методом В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом в сравнении со стандартным вводом пробы.

Использование электростэкинга позволило добиться снижения пределов обнаружения неорганических анионов в 490 – 930 раз, пределы обнаружения анионов при этом составили 2,2 – 5,1 мкг/л.

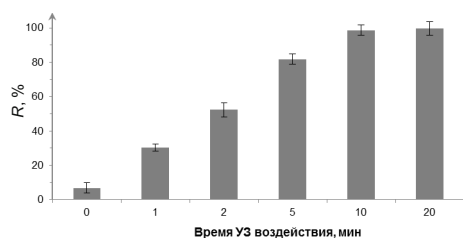


Рис. 4. Зависимость степени извлечения йодид-иона из образца высушенной морской капусты от времени УЗ воздействия

Определение йодид-иона в образцах морской капусты методом В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным электростэкингом

Определение йода в образце свежей морской капусты. Подготовленную пробу анализировали методом В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным on-line концентрированием. Ввод пробы проводили следующим образом: гидродинамический ввод зоны бутанола-1 (50 мбар в течение 10 с), затем электрокинетический ввод анализируемого образца (–20 кВ в течение 90 с). Степень извлечения определяемого аниона оценивали при введении добавки йодид-иона в измельченный образец свежей морской капусты. Установлено, что оптимальное время ультразвуковой (УЗ) обработки пробы при экстракции водой составляет 12 мин, при этом достигается максимальная степень извлечения йодида (72 ± 7 %).

Определение йода в образце высушенной морской капусты. После высушивания образца в течение нескольких часов потеря массы составила (92 ± 2) %. Степень извлечения определяемого аниона оценивали при введении добавки йодид-иона в измельченный образец высушенной морской капусты. Зависимость степени извлечения йода в зависимости от времени УЗ-обработки показана на рис. 4. Видно, что уже при 10 мин определяемое вещество извлекается практически количественно (99 ± 3 %). Полученные результаты свидетельствуют о том, что определение йода целесообразнее проводить в высушенной морской капусте, чем в свежем образце, поскольку в этом случае достигается наиболее полное извлечение аналита.

Результаты определения анионов методом В/М МЭЭКХ с электростэкингом и со стандартным вводом пробы

Анион	Пределы обнаружения, мг/л		SEF_{height}
	В/М МЭЭКХ (обычный ввод пробы)	В/М МЭЭКХ в сочетании с электростэкингом	
Тиоцианат	2,5	0,0051	490
Йодид	3,5	0,0038	930
Бромид	2,8	0,0039	710
Нитрат	1,7	0,0022	790
Нитрит	2,7	0,0042	640

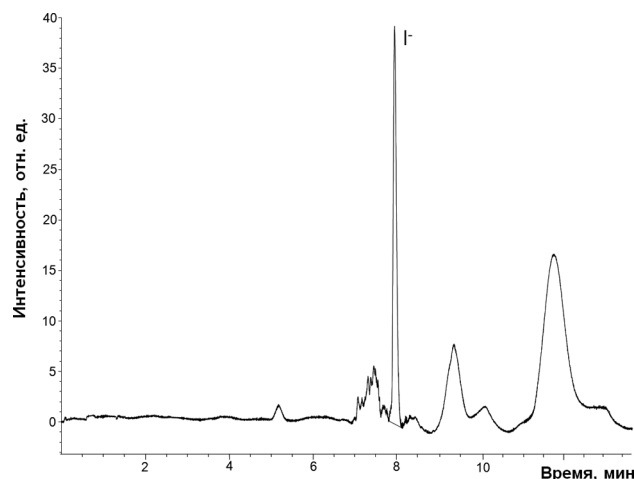


Рис. 5. Электрофореграмма образца высушенной морской капусты «Балтийский берег» в варианте В/М МЭЭКХ в сочетании с предварительным электростэкингом: гидродинамический ввод зоны бутанола-1 (50 мбар в течение 10 с), затем электрокинетический ввод пробы (–20 кВ в течение 90 с), детектирование при 222 нм

На рис. 5 представлена электрофореграмма образца высушенной морской капусты, полученная при оптимальных условиях. Важно отметить, что для количественной оценки содержания аналитов, определяемых методом капиллярного электрофореза в сочетании с предварительным электростэкингом, целесообразно использовать метод добавок, поскольку степень концентрирования компонентов пробы при ее электрокинетическом вводе может в значительной степени зависеть от матрицы образца и мешающего влияния других компонентов пробы. Метод добавок в отличие от метода градуировочного графика позволяет нивелировать влияние этих факторов. Добавку йодид-иона известной концентрации вводили в раствор пробы, полученный после центрифугирования реального образца.

Результаты определения йодида в образцах морской капусты различных марок («Балтийский берег» и «Русское море») составляют 49 ± 3 и 40 ± 2 мг/кг высушенной морской капусты соответственно ($n = 3$; $P = 0,95$). При пересчете на свежую морскую капусту (с учетом потери массы воды при высушивании образцов) его содержание составляет порядка 3200 – 4000 мкг/кг свежей морской капусты, что хорошо согласуется с литературными данными (50 – 5000 мкг/кг).

Предел обнаружения ($C_{\text{мин}}$) йодида составил 110 мкг/кг высушенного образца (9,2 мкг/кг в пересчете на свежую морскую капусту). Сходимость рассчитывали по пяти результатам определения йодид-иона в высушенном образце, полученным в течение одного дня; внутрилабораторную прецизионность — по результатам, полученным в течение 5 дней. Для образца «Русское море» с содержанием йодид-иона 40 мкг/кг высушенной морской капусты сходимость составила 5,2 %, внутрилабораторная пре-

цизионность — 7,3 %. Из представленных результатов видно, что предложенный способ определения йодид-иона характеризуется приемлемой правильностью и воспроизводимостью, а также низкими пределами обнаружения.

Таким образом, разработан способ определения йодид-иона в образцах морской капусты методом В/М МЭЭКХ. Сочетание предложенного метода с предварительным on-line концентрированием способствует значительному снижению предела обнаружения определяемого компонента (в 490 – 930 раз). Вариант пробоподготовки, заключающийся в экстракции йодид-иона водой из образца высушенной морской капусты в ультразвуковой ванне в течение 10 мин с последующим центрифугированием образца, позволяет достичь количественного извлечения аналита. Предложенный способ определения йодида характеризуется простотой, экспрессностью, высокой чувствительностью (предел обнаружения — 110 мкг/кг высушенного образца или 9,2 мкг/кг в пересчете на свежую морскую капусту), приемлемой правильностью.

Авторы выражают благодарность компании «Agilent Technologies» за предоставленное научное оборудование (Agilent 3DCE).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Cao J., Dun W.-L.** Separation and sweeping of flavonoids by microemulsion electrokinetic chromatography using mixed anionic and cationic surfactants / *Talanta*. 2011. Vol. 84. N 1. P. 155 – 159.
2. **McEvoy E., Marsh A., Donegan S., Power J.** Recent advances in the development and application of microemulsion EKC / *Electrophoresis*. 2007. Vol. 28. N 1 – 2. P. 193 – 207.
3. **McEvoy E.** The Development and application of oil-in-water microemulsion liquid and electrokinetic chromatography for pharmaceutical analysis. Diss. Ph.D. — Ireland: Waterford Inst. of Technology, 2008. 11 p.
4. **Yu L., Chu K., Ye H., Liu X., Yu L., Xu X., Chen G.** Recent advances in microemulsion electrokinetic chromatography / *Trends Anal. Chem.* 2012. Vol. 34. P. 140 – 151.
5. **Sanchez J. M., Salvado V.** Comparison of micellar and microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of water- and fat-soluble vitamins / *J. Chromatogr. A*. 2002. Vol. 950. N 1 – 2. P. 241 – 247.
6. **Lynen F., Saveedra L., Nickerson B., Sandra P.** Evaluation of a multiarray system for pharmaceutical analysis by microemulsion electrokinetic chromatography / *Talanta*. 2011. Vol. 84. N 3. P. 724 – 729.
7. **Hsieh S.-Y., Wang C.-C., Wu S.-M.** Microemulsion electrokinetic chromatography for analysis of phthalates in soft drinks / *Food Chem.* 2013. Vol. 141. N 4. P. 3486 – 3491.
8. **Nyunt K. T. N., Prutthiwanasan B., Suntornsuk L.** Microemulsion electrokinetic chromatography of β -carotene and astaxanthin / *J. Liq. Chromatogr. Rel. Tech.* 2013. Vol. 36. N 6. P. 671 – 686.
9. **Broderick M., Donegan S., Power J., Altria K.** Optimisation and use of water-in-oil MEEKC in pharmaceutical analysis / *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2005. Vol. 37. N 5. P. 877 – 884.
10. МЭК 4.1.1106–02. Определение массовой доли йода в пищевых продуктах и сырье титриметрическим методом.
11. **Julshamn K., Dahl L., Eckhoff K.** Determination of iodine in seafood by inductivity coupled plasma/mass spectrometry / *J. AOAC*. 2001. Vol. 84. N 6. P. 1976 – 1983.
12. **Simpson J. S. L., Quirino J. P., Terabe S.** On-line sample preconcentration in capillary electrophoresis: Fundamentals and applications / *J. Chromatogr. A*. 2008. Vol. 1184. N 1 – 2. P. 504 – 541.
13. **Osborn D. M., Weiss D. J., Lunte C. E.** On-line preconcentration methods for capillary electrophoresis / *Electrophoresis*. 2000. Vol. 21. N 14. P. 2768 – 2779.
14. **Jiang T.-F., Lv Y.-H., Yue M.-E., Peng J.-H.** On-line concentration by field-enhanced sample injection with reverse migrating micelles in micellar electrokinetic capillary chromatography for the analysis of triterpenoids from traditional Chinese medicine / *Журн. аналит. химии*. 2010. Т. 65. № 9. С. 966 – 971.
15. **Monton M. R. N., Terabe S.** Field-enhanced sample injection for high-sensitivity analysis of peptides and proteins in capillary electrophoresis-mass spectrometry / *J. Chromatogr. A*. 2004. Vol. 1032. N 1 – 2. P. 203 – 211.
16. **Jaafar J., Konishi K., Terabe S., Ikegami T., Tanaka N.** Field enhanced sample injection for the CE determination of arsenic compounds using successive multiple ionic polymer layer coated capillaries / *Chromatographia*. 2009. Vol. 69. N 11 – 12. P. 1437 – 1441.