

УДК 543.544

СОРБЦИЯ КОФЕИНА И ТЕОФИЛЛИНА НА СВЕРХСШИТОМ ПОЛИСТИРОЛЕ

Е.Ю. Андреева, С.Г. Дмитриенко, Ю.А. Золотов

(кафедра аналитической химии; e-mail: dmitrienko@analyt.chem.msu.ru)

Изучена сорбция кофеина и теофиллина из водных растворов сверхсшитым полистиролом MN-200 (ССПС). Показано, что сорбция описывается уравнением Ленгмюра. Найдены условия динамического сорбционного концентрирования кофеина и теофиллина на концентрирующей колонке, а также условия их десорбции. Предложена методика спектрофотометрического определения кофеина и теофиллина с предварительным динамическим концентрированием.

Ключевые слова: кофеин, теофиллин, сверхсшитый полистирол.

Алкалоиды кофеин и теофиллин содержатся в листьях чая, зернах кофе, орехах колы [1]. Они оказывают возбуждающее действие на центральную нервную систему, усиливают сердечную деятельность, стимулируют диурез [2]. Теофиллин давно используют как средство для лечения астмы и других заболеваний дыхательных путей [3]. Поскольку границы диапазонов лечебной и токсической концентраций этих веществ близки, необходим тщательный контроль за содержанием кофеина и теофиллина в организме. Например, теофиллин оказывает лечебный эффект при содержании его в сыворотке крови 10–20 мкг/мл, а уже при концентрации его свыше 20 мкг/мл начинает оказывать токсическое воздействие [3]. Международный олимпийский комитет считает, что спортсмен употребляет стимулятор, если концентрация кофеина в моче больше 12 мкг/мл [4].

Для определения низких содержаний веществ и увеличения селективности применяют предварительное концентрирование, в частности (и даже особенно) сорбционное. Для сорбционного концентрирования кофеина и теофиллина используют сорбенты различной природы, среди которых наибольшее распространение получили силикагели, модифицированные гидрофобными алкильными группами [5], полимерные сорбенты *Oasis[®] HLB* и *Absolut* [6], полимеры и кремнеземы с молекулярными отпечатками [7]. Основная проблема, возникающая при сорбционном концентрировании кофеина и теофиллина, заключается в низкой эффективности концентрирования, поскольку эти полярные соединения имеют низкое сродство к поверхности многих гидрофобных сорбентов.

Для сорбционного выделения и концентрирования полярных органических соединений успешно используют сверхсшитые полистиролы (ССПС). Эти сорбенты отличаются высокоразвитой удельной поверхностью, относительно маленьким размером пор и выраженное сродство к полярным органическим соединениям. Благодаря сверхсшитой природе эти сорбенты устойчивы к физическим и химическим воздействиям, а также легко регенерируются [8]. С применением сверхсшитых полистиролов разработаны методики сорбционного концентрирования фенолов [9], алифатических аминов [10], фенолкарбоновых кислот [11], фенилгидразина и его производных [12]. В литературе есть упоминание о том, что сверхсшитые полистиролы можно применять для хроматографического разделения кофеина и теофиллина [13]. Для твердофазной экстракции этих соединений ССПС ранее не применяли.

В настоящей работе изучена сорбция кофеина и теофиллина на ССПС и оценена возможность его использования для динамического сорбционного концентрирования этих веществ с их последующим спектрофотометрическим определением.

Экспериментальная часть

Объекты исследования, реагенты и аппаратура. Исходные растворы кофеина (*Carl Roth GmbH+Co.KG*, Германия) и теофиллина (*Acros organics*, Бельгия) готовили растворением их точных навесок в дистиллированной воде. В качестве спектрофотометрического реагента использовали тетрафторборат 4-нитрофенилдиазония (4-НФД) (“х.ч.”).

Исходный раствор тетрафторбората 4-нитрофенилдиазония (5×10^{-4} М) готовили растворением точной навески реагента в воде непосредственно перед использованием. Кроме того, использовали гидроксид калия (“ч.д.а.”), ледяную уксусную кислоту (“х.ч.”), этанол (“х.ч.”). Все вещества применяли без дополнительной очистки.

В качестве сорбента применяли сверхсшитый полистирол MN-200 (удельная поверхность $1020 \text{ м}^2/\text{г}$, степень сшивки 100%, размер частиц 75–125 мкм).

Спектры поглощения и оптические плотности растворов регистрировали на спектрофотометре СФ-103 (“Аквилон”, Россия), значения рН контролировали на иономере “Эксперт 001” (Россия), также использовали ультразвуковую ванну “Bransonic 1510R-DTH” (USA).

Методика изучения сорбции кофеина и теофиллина в статических условиях. Точные навески сорбента (0,020 г) помещали в пробирки с притертыми пробками, добавляли 5 мл водного раствора исследуемого вещества и встряхивали на электромеханическом вибросмесителе до установления сорбционного равновесия. Время контакта составляло 30 мин. Затем сорбент отделяли от раствора фильтрованием и определяли концентрацию исследуемых соединений в равновесной водной фазе спектрофотометрическим методом по их собственному поглощению в УФ-области (270 нм).

Методика изучения сорбции кофеина и теофиллина в динамических условиях. Для изучения сорбции кофеина и теофиллина в динамическом режиме использовали концентрирующую микроколонку объемом 0,15 мл ($25 \times 2,7$ мм), заполненную ССПС (0,055 г), и перистальтический насос “ЛАБ-НП-1-20М” (Россия). Перед использованием микроколонку, заполненную ССПС, промывали 100 мл дистиллированной воды. С помощью перистальтического насоса через нее пропускали 25 мл водного раствора кофеина или теофиллина при объемной скорости 0,7 мл/мин. Десорбцию проводили смесями этанол-вода (1:1)*, этанол-вода (3:7), метанол-вода (1:1), ацетонитрил-вода (1:1) и 0,1 и 1 мМ растворами гидроксида калия, пропуская элюент при помощи перистальтического насоса с объемной скоростью 0,7 мл/мин. После проведения сорбции и десорбции колонку промывали 3 мл этанола и 10 мл воды.

Методика спектрофотометрического определения кофеина и теофиллина. Спектрофотометричес-

кое определение кофеина (теофиллина) проводили на основе реакции азосочетания в выбранных ранее условиях. К 1 мл исследуемого раствора добавляли 1 мл 50%-го раствора гидроксида калия, проводили щелочной гидролиз в течение 30 мин при комнатной температуре (в ультразвуковой ванне), затем к раствору добавляли 2 мл (4,25 мл) воды и 3 мл (0,75 мл) водного раствора тетрафторбората 4-нитрофенилдиазония и через 2 мин раствор подкисляли 3 мл ледяной уксусной кислоты. Измеряли оптическую плотность раствора при 375 нм (500 нм).

Результаты и их обсуждение

Сорбция кофеина и теофиллина в статических условиях. Изучение влияния времени контакта фаз, необходимого для достижения сорбционного равновесия, показало, что для всех изученных соединений оно не превышает 30 мин. Максимальная сорбция кофеина (92%) наблюдается в интервале рН 3–12, а теофиллина (90%) – в интервале рН 3–8 (рис. 1). Характер зависимости степени извлечения от рН свидетельствует о том, что эти соединения сорбируются на ССПС в молекулярной форме.

Изотермы сорбции кофеина и теофиллина приведены на рис. 2. Начальные участки изотерм линейны до равновесных концентраций кофеина и теофиллина 0,5 мМ, в диапазоне 0,1–1,5 мМ равновесных концентраций кофеина и теофиллина в водном растворе изо-

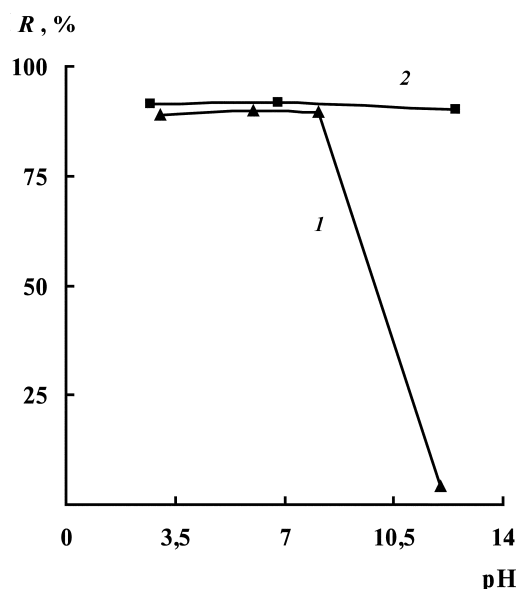


Рис. 1. Зависимость степени извлечения кофеина (1) и теофиллина (2) на ССПС от рН ($C_K = C_{ТФ} = 0,2$ мМ, $V = 5$ мл, $m_{ССПС} = 0,020 \pm 0,001$ г, $t = 30$ мин)

*Здесь и далее соотношение компонентов в смеси указано по объему.

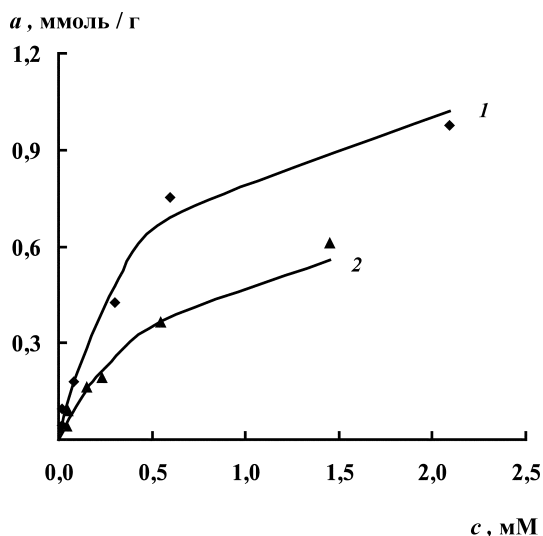


Рис. 2. Изотермы сорбции кофеина (1) и теофиллина (2) на ССПС ($V = 5$ мл, pH 6, $m_{\text{ССПС}} = 0,020 \pm 0,001$ г, $t = 30$ мин)

термы описываются уравнением Ленгмюра.

$$a = a_m \frac{Kc}{1 + Kc},$$

где a – удельная сорбция вещества, ммоль/г; c – его равновесная концентрация в растворе, ммоль/л; K – константа Ленгмюра, л/ммоль; a_m – сорбционная емкость сорбента, ммоль/г. Соответствие полученных изотерм сорбции уравнению Ленгмюра подтверждается линейностью зависимостей ($r = 0,98$), построенных в координатах $1/a - 1/c$ соответственно линейной форме уравнения Ленгмюра

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{a_m K} \cdot \frac{1}{c} + \frac{1}{a_m}.$$

Из уравнений линейных зависимостей рассчитаны некоторые физико-химические параметры: сорбционные емкости сорбента по отношению к кофеину и теофиллину a_m , их коэффициенты распределения D

как котангенсы углов наклона прямых, константы сорбционного равновесия K и изменения свободной энергии Гиббса ΔG_{298}° (табл. 1).

Несмотря на то, что кофеин и теофиллин обладают слабыми гидрофобными свойствами, значения их коэффициентов распределения и энергии сорбции на ССПС высоки. По-видимому, определенный вклад в сорбцию этих соединений на ССПС вносят специфические, в частности π - π -электронные, взаимодействия между сорбируемыми соединениями и матрицей ССПС.

Сорбция и десорбция кофеина и теофиллина в динамических условиях. Более эффективным и технологичным вариантом сорбции является динамическое сорбционное концентрирование, или твердофазная экстракция, которую обычно проводят на небольшой микроколонке. При этом важно так оптимизировать размеры колонки, чтобы обеспечить, с одной стороны, количественное извлечение определяемых компонентов, а с другой – десорбцию сорбатов минимальным объемом элюента. Степени извлечения кофеина и теофиллина на микроколонке из 25 мл 0,01 мМ растворов составляют 98 и 97% соответственно. Изучена зависимость степени десорбции исследуемых веществ от природы элюента, полученные результаты приведены в табл. 2. Установлено, что кофеин количественно десорбируется 1 мл смеси этанол-вода (1:1), 1,5 мл смеси метанол-вода (1:1) или 5 мл смеси ацетонитрил-вода (1:1). Теофиллин количественно десорбируется 1 мл смеси этанол-вода (1:1) или 2 мл смеси этанол-вода (3:7). Растворами гидроксида калия кофеин и теофиллин десорбировались мало. В качестве элюента кофеина и теофиллина использовали смесь этанол-вода в соотношении 1:1 и 3:7 соответственно.

Определение кофеина после концентрирования. Проведенные исследования позволили предложить методику динамического сорбционного концентрирования кофеина с его последующим спектрофотометри-

Т а б л и ц а 1

Параметры гидрофобности ($\lg P$) и физико-химические параметры сорбции кофеина и теофиллина на ССПС

Соединение	$\lg P$	a_m , ммоль/г	D , л/г	$K \cdot 10^{-3}$	$-\Delta G_{298}^\circ$, кДж/моль
Кофеин	$-0,13 \pm 0,37$	1,26	2,56	2,0	18,9
Теофиллин	$-0,17 \pm 0,31$	0,81	1,23	1,5	18,1

Т а б л и ц а 2

Степени десорбции ($R, \%$) кофеина и теофиллина с микроколоники, заполненной 0,055 г ССПС, в динамических условиях

Соединение	Элюент	Степень десорбции ($R, \%$) при количестве эдьюента в мл			
		0,5	1,0	1,5	2,0
Кофеин	КОН (0,1 мМ)	–	–	–	0,1
Кофеин	этанол–вода (1:1)	91,5	99,1	99,7	100
Кофеин	этанол–вода (1:1)	84,3	98,3	99,8	100
Кофеин	метанол–вода (1:1)	54,0	88,4	99,7	100
Кофеин	ацетонитрил–вода (1:1)	38,5	50,1	57,5	63,0
Теофиллин	КОН (0,1 мМ)	3,3	6,8	10,2	13,5
Теофиллин	этанол–вода (1:1)	94,5	98,9	99,6	100
Теофиллин	этанол–вода (3:7)	92,8	95,0	96,2	97,2

Т а б л и ц а 3

Метрологические характеристики спектрофотометрических методик определения кофеина и теофиллина после сорбционного концентрирования

Соединение	Уравнение градуировочного графика	Коэффициент корреляции	ДОС, мкг/мл	$S_{\text{мин}}$, мкг/мл
Кофеин	$y = 0,0316 C$	0,997	1,8–9,5	0,6
Теофиллин	$y = 0,1732 C$	0,975	0,4–9,2	0,1

ческим определением в водно-этанольных элюатах по реакции с тетрафторборатом 4-нитрофенилдиазония. Для построения градуировочной зависимости готовили серию растворов, содержащих от 2 до 19,5 мкг/мл кофеина в 25 мл раствора. Далее проводили сорбционное концентрирование, пропуская каждый раствор через микроколонику, заполненную ССПС, со скоростью 0,7 мл/мин. Десорбцию проводили 1 мл смеси этанол-вода (1:1). К каждому элюату добавляли 1 мл 50%-го раствора гидроксида калия; после проведения щелочного гидролиза к раствору добавляли 4 мл воды и водный раствор реактива и через 2 мин раствор подкисляли 3 мл ледяной уксусной кислоты. Измеряли оптическую плотность растворов

при 375 нм. В табл. 3 приведен диапазон определяемых концентраций и рассчитанный предел обнаружения. Правильность методики была проверена методом “введено-найдено” ($n = 3; P = 0,95$) на модельной смеси, приготовленной на основе дистиллированной воды, и смеси, имитирующей по своему составу мочу. Согласно литературным данным [14], искусственная моча готовится растворением 22,0 г мочевины, 1,50 г креатинина, 5,20 г хлорида натрия, 1,40 г дигидрофосфата натрия, 1,10 г гидрофосфата натрия, 1,0 г азидата натрия и 0,01 г тетразина в 1 л дистиллированной воды. При введении 12 мкг/мл кофеина в модельные смеси в обоих случаях найдено 11 ± 1 мкг/мл кофеина (относительное стандартное отклонение $s_r = 0,04$).

Определение теофиллина после концентрирования. Для построения градуировочной зависимости готовили серию растворов, содержащих от 1,8 до 9,2 мкг/мл теофиллина в 25 мл раствора. Далее проводили концентрирование, пропуская каждый раствор через микроколону, заполненную ССПС, со скоростью 0,7 мл/мин. Десорбцию проводили 1 мл смеси этанол-вода (3:7). К каждому элюату добавляли 1 мл 50%-го раствора гидроксида калия; после проведения щелочного гидролиза к раствору добавляли 4 мл воды и водный раствор реактива и через 2 мин раствор подкисляли 3 мл ледяной уксусной кислоты.

Измеряли оптическую плотность растворов при $\lambda = 500$ нм. В табл. 3 приведен диапазон определяемых концентраций и рассчитанный предел обнаружения. Правильность методики определения теофиллина после сорбционного динамического концентрирования была проверена методом “введено-найденно” ($n = 3$; $P = 0,95$) на модельной смеси, приготовленной на основе дистиллированной воды, и смеси, имитирующей по своему составу мочу. При введении 4,3 мкг/мл теофиллина в модельные смеси найдено $4,5 \pm 0,5$ мкг/мл ($s_r = 0,05$) и $3,8 \pm 0,5$ мкг/мл теофиллина ($s_r = 0,06$) соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глуценко Н.Н., Плетнева Т.В., Попков В.А. Фармацевтическая химия. М., 2004. С. 320.
2. Zambonin C.G., Aresta A., Palmisano F. // J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2004. **36**. P. 621.
3. Goicoechea H., Olivieri A.C., Munoz de la Pena A. // Anal. Chem. Acta. 1999. **384**. P. 95.
4. Aragao N.M., Veloso M.C.C., Bispo M.S., Ferreira S.L.C., Andrade J.B. // Talanta. 2005. **67**. 1007.
5. Naik J.P. // J. Agric. Food. Chem. 2001. **49**. P. 3579.
6. Georga K.A., Samanidou V.F., Papadoyannis I.N. // J. Chromatogr. B. 2001. **759**. P. 209.
7. Costa Silva R.G., Augusto F. // J. Chromatogr. A. 2006. **1114**. P. 216.
8. Davankov V.A., Tsyruva M. P. // Pure & Appl. Chem. 1989. **61**. N 11. P. 1881.
9. Хряцковский А.В., Подловченко М.В., Нестеренко П.Н., Шнигун О.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 1998. **39**. С. 196.
10. Тихомирова Т.И., Хряцковский А.В., Фадеева В.И., Нестеренко П.Н., Шнигун О.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 1999. **40**. С. 365.
11. Медведева О.М., Куракина В.С., Дмитриенко С.Г., Тихомирова Т.И., Шнигун О.А. // ЖАХ. 2004. **59**. № 7. С. 752.
12. Zhai Z.C., Chen J.L., Fei Z.H., Wang H.L., Li A.M., Zhang Q.X. // Reactive & Functional Polymers. 2003. **57**. P. 93.
13. Penner N.A., Nesterenko P.N., Ilyin M.M., Tsyruva M.P., Davankov V.A. // Chromatographia. 1999. **50**. N 9–10. P. 611.
14. Hansel M.C., Rowell F.J., London J., Sidki A.M. // Ann. Clin. Biochem. 1986. **23**. P. 596.

Поступила в редакцию 23.06.09

SORPTION OF CAFFEINE AND THEOPHYLLINE ON HYPERCROSSLINKED POLYSTYRENE

E.Yu. Andreeva, S.G. Dmitrienko, Yu.A. Zolotov

(Division of Analytical Chemistry)

The sorption of caffeine and theophylline from water solutions on hypercrosslinked polystyrene MN-200 was studied. It is shown, that sorption is described by the Langmuir equation. The conditions of dynamic sorption concentration of caffeine and theophylline on a concentrating column and the conditions of its desorption were found. A procedure of the spectrophotometric determination of caffeine and theophylline with dynamic preconcentration is proposed.

Key words: *caffeine, theophylline, hypercrosslinked polystyrene.*

Сведения об авторах: Андреева Елена Юрьевна – аспирантка химического факультета МГУ (andreevaeu@yandex.ru); Дмитриенко Станислава Григорьевна – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (dmitrienko@analyt.chem.msu.ru); Золотов Юрий Александрович – зав. кафедрой аналитической химии химического факультета МГУ, акад. РАН (zolotov@analyt.chem.msu.ru).