

гомогенності відбувається збільшення середнього ступеня окиснення Со. Перехід метал – напівпровідник зафіксовано при $x \geq 0,25$, тобто в не однофазній області.

1. Бусел А.И., Тинцова В.Г., Иванов В.М. Практическое руководство по аналитической химии редких элементов. – М., 1966. 2. Куличенко В.А., Неділько С.А., Дзязько О.Г. Визначення стехіометрії складних оксидів на основі лантану, нікелю, кобальту. // Вісник Київського університету. – 1996. – Т. 33. – С. 130–132. 3. Петров А.Н. Нестехиометрические твердые оксиды - новые материалы современной техники. // Известия Уральского государственного университета. – 2001. – №19. – С. 43–51. 4. Пришл П. Комплексоны в хим. анализе: Пер. с чеш. – М., – 1955. 5. Филонова Е.А. Фазовые равновесия и кристаллическая структура фаз, образующихся в системах $\text{LaMnO}_{3+\delta}$ – $\text{LaCoO}_{3+\delta}$ – MCoO_2

– MMnO_3 (M = Sr, Ba): Автореф. дис... канд. хим. наук. – Е., 1998. 6. Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексонометрическое титрование: Пер. с нем. – М., – 1970. 7. Borovskikh L., Mazo G., Kernitz E. Reactivity of oxygen of complex cobaltates $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{CoO}_{3-\delta}$ and LaSrCoO_4 // Solid state sciences. – 2003. – Vol.5, №3. – P. 409–417. 8. Lim K.S., Lee K. S., Han I.S. and al. Fabrication and Characterization of $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{Co}_{0.2}\text{Fe}_{0.8}\text{O}_{3-\delta}$ // Journal of the Korean Ceramic Society. – 2001. – Vol. 38, №10. – P. 886. 9. Moehlecke S., Westphal C.H., Torikachvili M.S. and al. Enhancement of the intergranular superconducting properties in $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CaCu}_2\text{O}_8$ with Li additions // Physica C: Superconductivity. – 1993. – Vol.211, №1–2. – P. 113–120. 10. Shannon R.D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides // Acta Cryst. – 1976. – Vol. A32, № 5. – P. 751–767.

Надійшла до редколегії 20.05.09

УДК 543.544:547.94

В. Халаф, канд. хім. наук., В. Зайцев, д-р хім. наук., В. Левчик, інж, О. Галицька, інж.

ВИЗНАЧЕННЯ КОФЕЇНУ В БЕЗАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЯХ МЕТОДОМ ОБЕРНЕНОФАЗОВОЇ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Вивчено вплив складу водно-ацетонітрильного елюенту, його кислотності та швидкості потоку рухомої фази на розділення компонентів безалкогольних напоїв методом оберненофазової високоефективної рідинної хроматографії. В оптимальних умовах розділення, при об'ємному співвідношенні ацетонітрил – ацетатний буферний розчин (рН 4,8) 12,5:87,5 з витратами рухомої фази 80 мкл/хв досліджені зразки чаю "Граф Грей", "Принцеса Нупі" та кави "Acteca", "Alescado", "Chibo exclusive", "Grand", "Nescafe Classic" на вміст кофеїну.

The influence of the composition of aqueous-acetonitrile eluate, its acidity and a flow rate of the mobile phase on the separation of ingredients of the soft beverages was studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. Samples of tea "Граф Грей", "Принцеса Нупі" and coffee "Acteca", "Alescado", "Chibo exclusive", "Grand", decaffeinate "Nescafe Classic" was analyzed in optimal conditions of separations, under the optimal composition of acetonitrile – acetic buffer solution (pH 4,8) – 12,5:87,5 (volume:volume), flow rate of the mobile phase 80 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Вступ. Відомо, що вміст кофеїну в безалкогольних напоях варіюється в широких межах: від 100 мг/мл (100 ppm) в газованих водах до 1000 мг/мл в певних сортах кави [2]. Стакан чаю містить 0,05–0,1 г кофеїну. Кофеїн швидко всмоктується в кишках. Його дія настає через 20–30 хв. Після прийому всередину і через 5–8 хв. після підшкірного введення. Він є стимулятором центральної нервової системи. В медичній практиці кофеїн застосовують при гострій судинній недостатності, слабкості серцевого м'язу, для зменшення психічного та фізичного болю, особливо при мігрені.

Визначення кофеїну в напоях проводять через їх загальнопоширену фальсифікацію. Наприклад, дуже розповсюджене додавання фармацевтичного кофеїну в каву або кавовий сурогат [3]. Фармацевтичний кофеїн додають у каву, як для фальсифікації кави, так і для формування у населення стійкого попиту на каву певної фірми.

На сьогоднішній день розроблено багато методів визначення кофеїну в чаї. Використання хроматографічних [6, 13, 5], спектроскопічних [9, 11, 7], електрохімічних [15, 4, 12, 10] методів дає можливість визначити його з високою точністю, чутливістю та селективністю. Найчастіше визначення кофеїну проводять за допомогою хроматографічних методів, так як спектроскопічні та електрохімічні методи менш чутливі. Як методи прободіготовки в аналізі кофеїну використовують: рідинну екстракцію [15, 11, 10], твердофазну екстракцію [8, 14]. При фотометричному визначенні кофеїну одним із етапів прободіготовки є його дериватизація [7]. Методом оберненофазової високоефективної рідинної хроматографії [6] кофеїн в напоях можна визначити без попередньої дериватизації отриманого екстракту.

Мета нашої роботи полягала в оптимізації умов хроматографування при визначенні кофеїну в водних розчинах методом оберненофазової рідинної хроматографії [3] та визначення його вмісту в безалкогольних напоях: чаї та кави.

Об'єкти й методи дослідження. У роботі використовували ацетонітрил для рідинної хроматографії (х.ч., додатково очищений перегонкою над P_2O_5), воду "Міліпор", кофеїн (Aldrich, чистота 99%). Стандартний розчин кофеїну (С = 0,2 мг/мл) готували розчиненням його наважки у воді. Градувальні розчини кофеїну готували розбавленням стандартного розчину в 2, 4, 10 разів та фільтруванням їх через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм. Ацетатний буферний розчин рН = 4,8 готували розчиненням натрію ацетату ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) в бідистиляті. Елюент: ацетонітрил – ацетатний буферний розчин у об'ємному співвідношенні 12,5:87,5 готували додаванням до 12,5 мл ацетонітрилу 1 мл приготовленого ацетатного буферного розчину, доводячи водою до мітки в колбі на 100 мл. Елюент профільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм під вакуумом. Елюент застосовували на протязі 7 діб від дня приготування при кімнатній температурі зберігання.

Аналіз проб проводили на рідинному хроматографі "Міліхром-2" з УФ-спектрофотометричним детектором при довжинах хвиль детектування 230 і 210 нм.

Розділення проводили на аналітичній хроматографічній колонці Сепарон C_{18} (64x2 мм) при ізократичному режимі елюювання. Витрати елюенту становили 80 мкл/хв, об'єм введеної проби – 10 мкл.

Кислотність розчину контролювали за допомогою іономера лабораторного "И-106М".

Підготовка проб чаю та кави. В кінчну колбу вносили наважку чаю (кави) масою $m = 1$ г, 50 мл гарячої бідистильованої води. Розчини охолоджували, водну фазу кількісно переносили в колби на 250 мл, доводили розчин до мітки бідистильованою водою. Розчини центрифугували 30' при 8000 об/хв, потім фільтрували через паперовий фільтр з синьою стрічкою, а потім через мембранний фільтр.

Результати та їх обговорення. Умови хроматографічного розділення підбирали зміною співвідношення вмісту ацетонітрилу в елюенті, зміною рН елюенту та регулюванням швидкості потоку рухомої фази. Встановлено, що оптимальне розділення компонентів проби досягається при використанні елюенту з об'ємним співвідношенням ацетонітрил – ацетатний буфер 12,5:87,5; рН = 4,8; швидкості потоку рухомої фази 80 мкл/хв. За цих умов коефіцієнти асиметрії отриманих піків кофеїну наближаються до одиниці. Для стандартних розчинів відхилення

часу утримування кофеїну складає 1,65 %, а стандартне відхилення спектральних відношень (СВ) – 0,75 %.

З метою ідентифікації та визначення кофеїну в зразках чаю "Граф Грей", "Принцеса Нурі" та кави "Acteca", "Alescado", "Chibo exclusive", "Grand", "Nescafe Classic" без кофеїну порівнювали отримані часи утримування (t_R), площі піків (S), спектральні відношення піку кофеїну проб з цими ж параметрами стандартних розчинів. Результати дослідження представлені в таблиці, а типова хроматограма зразку чаю "Граф Грей" приведена на рис.

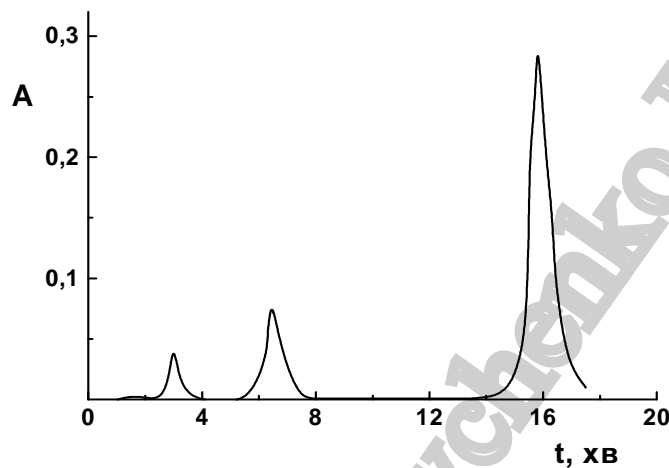


Рис. Хроматограма зразку чаю "Граф Грей": пік з часом утримування 15,76 хв – пік кофеїну. Колонка Сепарон C₁₈ (64x2 мм). Елюент: ацетонітрил – ацетатний буферний розчин у об'ємному співвідношенні 12,5 : 87,5 (рН 4,8), витрати 80 мкл/хв.

На отриманих хроматограмах зразків кави "Acteca" відсутні піки близькі за часом утримування стандарту кофеїну. Тобто злаковий напій "Acteca" не містив кави, що і підтвердили написи англійською мовою на зворотньому боці банки. Зразок "Alescado" є повною фальсифікацією кави, так як вміст кофеїну в ньому близький до мінімального вмісту кофеїну в декофеїнізованій каві (0,3 % [1]).

Суттєва різниця двох параметрів – часу утримування і СВ піку кофеїну проби і стандарту кофеїну дозволяє стверджувати, що пік на хроматограмі кави "Nescafe Classic" без кофеїну з часом утримування 14,78 хв. не є піком кофеїну (таблиця). Наші результати підтвер-

дили дані на упаковці кави "Nescafe Classic" без кофеїну про те, що ця кава декофеїнізована.

На хроматограмах напоїв "Chibo exclusive" і "Grand" ідентифіковані піки кофеїну, вміст якого знаходиться в межах 0,16–0,32 мг/мл.

Вміст кофеїну на упаковках чаю "Граф Грей" і "Принцеса Нурі" не вказаний. Знайдено, що в заварених пробах чаю "Граф Грей" і "Принцеса Нурі" концентрація кофеїну варіюється в межах 0,06–0,1 мг/мл. Тобто стакан чаю на 200 мл містить від 0,01 до 0,2 г кофеїну. Отримані значення близькі до літературних [2].

Таблиця

Хроматографічні і спектральні характеристики піків кофеїну для зразків чаю, кави та стандарту

Напій	t_R , хв	S, мм ²	C, мг/мл	S _r	СВ 230/210 нм
"Chibo exclusive"	15,75	61,5	0,16±0,02	0,03	0,246
"Grand"	15,68	125,6	0,32±0,02	0,02	0,250
"Alescado"	15,65	–	–	–	0,255
"Acteca"	–	–	–	–	–
"Nescafe classic" без кофеїну	14,78	17,6	–	–	0,215
"Граф Грей"	15,76	22,8	0,06±0,01	0,08	0,247
"Принцеса Нурі"	15,72	36,3	0,09±0,01	0,04	0,248
Стандарт кофеїну	15,75	37,6	0,10±0,01	0,03	0,248

Висновки. Підбрані умови хроматографічного розділення кофеїну в водних розчинах в ізократичному режимі методом оберненофазової високоефективної рідинної хроматографії. Час аналізу безалкогольних напоїв становить в середньому 16 хв. Знайдений вміст кофеїну в досліджуваних зразках кави, зазвичай, занижений, а дані на упаковках не завжди відповідають дійсності.

1. Директива ЕС 1999/4 ЕЕС по екстрактам кофе і цикорія.
2. Растительные лекарственные средства / Н.П. Максютин, Н. Ф. Комиссаренко, А.П. Прокопенко и др., под ред. Н.П. Максютин – К., 1985. 3. Сычев К.С. Методы высокоэффективной жидкостной хромато-

рафии и твердофазной экстракции. – М, 2006. 4. Babu V.R.S., Patra S., Karanth N.G., Kumar M.A., Thakur M.S. Development of a biosensor for caffeine // *Analytica Chimica Acta*. – 2007. – Vol. 582, №2. – P. 329–334. 5. Bispo M.S., Veloso M.C.C., Pinheiro H.L.C., De Oliveira R.F.S., Reis J.O.N., Andrade J.B.D. Simultaneous determination of caffeine, theobromine, and theophylline by high-performance liquid chromatography // *Journal of Chromatographic Science*. – 2002. – Vol. 40, №1. – P. 45–48. 6. De Aragão N.M., Veloso M.C.C., Bispo M.S., Ferreira S.L.C., De Andrade J.B. Multivariate optimization of the experimental conditions for determination of three methylxanthines by reversed-phase high-performance liquid chromatography // *Talanta*. – 2005. – Vol. 67, №5. – P. 1007–1013. 7. Ford M.J., Deibel M.A., Tomkins B.A., Van Berkel G.J. Quantitative thin-layer chromatography/mass spectrometry analysis of caffeine using a surface sampling probe electrospray ionization tandem mass spectrometry system

// Analytical Chemistry. – 2005. – Vol. 77, №14–15. – P. 4385–4389. 8. Ku Y.-R., Wen K.-C., Ho L.-K., Chang Y.-S. Solid-phase extraction for the determination of caffeine in traditional Chinese medicinal prescriptions containing Theae folium by high performance liquid chromatography // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1999. – Vol. 20, №1–2. – P. 351–356. 9. Lau O.-W., Luk S.-F., Cheng O.-M., Chiu T.P.Y. Background-correction methods for the determination of caffeine in beverages, coffee and tea by using second-derivative ultraviolet spectrophotometry // The Analyst. – 1992. – Vol. 117, №4. – P. 777–783. 10. Ly S.Y., Jung Y.S., Kim M.H., Han I.K., Jung W.W., Kim H.S. Determination of caffeine using a simple graphite pencil electrode with square-wave anodic stripping voltammetry // Microchimica Acta. – 2004. – Vol. 146, №3–4. – P. 207–213. 11. Mashkouri Najafi N., Hamid A.S., Afshin R.K. Determination of caffeine in black tea leaves by Fourier transform infrared spectrometry using multiple linear regression // Micro-

chemical Journal. – 2003. – Vol. 75, №3. – P. 151–158. 12. Ohnsmann J., Quintás G., Garrigues S., De la Guardia M. Determination of caffeine in tea samples by Fourier transform infrared spectrometry // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2002. – Vol. 374, №3. – P. 561–565. 13. Yan L., Wang Z., Luo G., Wang Y. Determination of caffeine by micro high performance liquid chromatography with a molecularly imprinted capillary monolithic column // Fenxi Huaxue. – 2004. – Vol. 32, №2. – P. 148–152. 14. Yamauchi Y., Nakamura A., Kohno I., Hatanaka K., Kitai M., Tanimoto T. Quasi-flow injection analysis for rapid determination of caffeine in tea using the sample pre-treatment method with a cartridge column filled with polyvinylpyrrolidone // Journal of Chromatography A. – 2008. – Vol. 1177, №1. – P. 190–194. 15. Zen J.-M., Ting Y.-S., Shih Y. Voltammetric determination of caffeine in beverages using a chemically modified electrode // Analyst. – Vol. 123, № 5. – P. 145–147.

Надійшла до редколегії 20.05.09

УДК 547.759.4

А. Кисіль, канд. хім. наук, З. Войтенко, д-р хім. наук.

ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ПОХІДНИХ 1-R-2-МЕТИЛ-1H-ІМІДАЗО[2,1-a]ІЗОІНДОЛУ З ПОХІДНИМИ МАЛЕЇНІМІДУ

Вивчена реакція похідних 1-R-2-метил-1H-імідазо[2,1-a]ізоіндолу з похідними малеїніміду при співвідношенні вихідних речовин 1:2. Отримано нові адукти перегрупування Міхаеля-Дільса-Альдера в умовах термодинамічного контролю.

The reaction of 1-R-2-me-1H-imidazo[2,1-a]isoindole with maleinimide derivatives at reagents ratio 1:2 was investigated. New derivatives of rearranged adducts of Michael-Diels-Alder were synthesised under thermodynamic control conditions.

Вступ. Вивчення реакцій циклоприєднання в ряду конденсованих ізоіндолів один з цікавих напрямків хімії ізоіндолів. В ряду азоізоіндолів а саме похідних імідазоізоіндолу ці реакції мало дослідженні. Похідні імідазо[2,1-a]ізоіндолу зосередили в собі широкий спектр біологічної активності, застосовуються як фармацевтичні препарати [4-5] та засоби захисту рослин [6]. З літератури відомо, що в реакцію з похідними малеїніміду вводили 1-метилтетразоло[5,1-a]ізоіндолу перхлорат [1], 1,2-диметил-1,2,4-триазоло[5,1-a]ізоіндолу перхлорат [1], 5-метил-1,3,4,7-тетрагідро-2H-ізоіндолю[2,1-b]індазолію перхлорат [3]. Був запропонований механізм проходження цих реакцій, а також були запропоновані критерії визначення саме перегрупованих адуктів за допомогою спектрів ЯМР ¹H.

Дана робота дослідженню взаємодії N-метил-1,3,4,7-тетрагідро-2H-ізоіндолю[2,1-b]індазолу та похідних 1-R-2-ме-1H-імідазо[2,1-a]ізоіндолу з похідними малеїніміду.

Об'єкти та методи дослідження. Хід реакцій та індивідуальність отриманих сполук контролювали методом ТШХ на пластинках Merk 60 F254. Як елюент використовували суміш хлороформ-метанол (9:1). мас-спектри записані на спектрометрі Nermag R10. Спектри ЯМР реєстрували на спектрометрі Mercury 400 (400 МГц) фірми "Varian" в розчині DMSO-d₆ відносно ТМС (внутрішній стандарт). Вихідні 1-R-2-ме-1H-імідазо[2,1-a]ізоіндолю 3.9.14a-d за методикою [2].

Методики синтезу:

Загальна методика синтезу сполук 3 з солей 1. 0,0002 моль солі 1 розчиняють в 10–15 мл сухого піридину, потім додають 0,0004 моль відповідного малеїніміду 2 та 0,0004 моль триетиламіну. Реакційну суміш витримують від 2 до 24 годин в залежності від температури при якій проходить реакція. Контроль за проходженням реакції здійснюють за допомогою ТШХ (за малеїнімідом). Потім з реакційної суміш виливають у воду, осад фільтрують та кілька разів промивають водою. Сухий осад розділяють за допомогою хроматографічної колонки (елюент толуол/етилацетат 2/8).

Загальна методика синтезу сполук 3 з похідних 4. 0,0002 моль сполуки 4, попередньо очищеної за допомогою сублимації розчиняють в 10–15 мл метанолу, потім додають 0,0004 моль відповідного малеїніміду 2. Реакцій-

ну суміш витримують 2-3 години. Контроль за проходження реакції здійснюють за допомогою ТШХ (за малеїнімідом). Потім з реакційної суміш випаровують розчинник. Твердий залишок розділяють за допомогою хроматографічної колонки (елюент толуол/етилацетат, 2/8).

Спектральні характеристики

3a 3,3'-(2-[5-(4-Хлорофеніл)-1-метил-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс[1-(4-метилфеніл)піролідин-2,5-діон]
T_{пл.}=198°C; ¹H NMR δ (DMSO-d₆) 2.35 (с, 3H, CH₃); 2.38 (с, 3H, CH₃); 2.85 (дд, 1H, H_c, ³J_{HcHe}=6.9 Гц, ²J_{HcHd}=18.8 Гц); 2.97 (д, 1H, H_{a3}, ²J_{HaHb}=21.7); 3.12 (д, 1H, H_b, ²J_{HaHb}=21.8); 3.15 (дд, 1H, H_d, ³J_{HcHe}=6.9 Гц, ²J_{HcHd}=18.8 Гц); 3.22-3.29 (м, 2H); 4.05 (м, 1H, H_e); 4.40 (с, 3H, CH₃-N); 4.42 (с, 3H, CH₃-N); 5.65 (м, 1H, H_e); 6.80-7.85 (м, 12H); 7.98 (с, 1H); R_f 0.72. M=655.14. [MН]⁺656. Вихід %: 27.

3b 3,3'-(2-[5-(4-Хлорофеніл)-1-метил-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс(1-фенілпіролідин-2,5-діон)
T_{пл.}= 193°C; ¹H NMR δ (DMSO-d₆) 2.88 (дд, 1H, H_c, ³J_{HcHe}= 6.9 Гц, ²J_{HcHd}= 18.8 Гц); 3.00 (д, 1H, H_a, ²J_{HaHb}= 21.7); 3.13 (д, 1H, H_b, ²J_{HaHb}= 21.8); 3.17 (дд, 1H, H_d, ³J_{HcHe}=6.9 Гц, ²J_{HcHd}= 18.8 Гц); 3.18–3.25 (м, 2H); 4.07 (м, 1H, H_e); 4.42 (с, 3H, CH₃-N); 4.43 (с, 3H, CH₃-N); 5.63 (м, 1H, H_e); 7.00–7.80 (м, 14H); 8.00 (с, 1H); R_f 0.79. M = 627.08. [MН]⁺628. Вихід %: 23.

3c 3,3'-(2-[5-(4-Метоксіфеніл)-1-метил-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс[1-(4-метоксіфеніл)піролідин-2,5-діон]
R_f 0.72. M= 682.72. [MН]⁺683. Вихід %: 15.

3d 3,3'-(2-[5-(3,4-Диметоксіфеніл)-1-метил-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс[1-(4-метоксіфеніл)піролідин-2,5-діон]
R_f 0.79. M = 712.74. [MН]⁺713. Вихід %: 17.

3e 3,3'-(2-[1-Метил-5-(2-тієніл)-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс[1-(4-метилфеніл)піролідин-2,5-діон]
R_f 0.81. M = 626.72. [MН]⁺627. Вихід %: 12.

3f 3,3'-(2-[1-Метил-5-(2-тієніл)-1H-імідазол-2-іл]феніл)метиліліден)біс(1-фенілпіролідин-2,5-діон)
R_f 0.85. M = 598.67. [MН]⁺599. Вихід %: 14.

Результати та їх обговорення. Поставало питання, як буде відбуватися реакція з похідними 1-R-2-метил-1H-імідазо[2,1-a]ізоіндолу і чи будуть спрацьовувати критерії, які запропоновані для азоізоіндолів, на яких вони розроблені. Також було цікаво, як впливатимуть замісники R на проходження реакції, якщо вони будуть мати електрондонорний чи електронакцепторний характер.