УДК 543.054:577.16

ЭКСТРАКЦИОННОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В СИНТЕТИЧЕСКИМИ ВОДОРАСТВОРИМЫМИ ПОЛИМЕРАМИ

А.В. Зыков[1], Я.И. Коренман[1], Н.Я. Мокшина[2]

[1]Государственная технологическая академия
394036, Воронеж, пр-т Революции 19
korenman@vgta.vrn.ru
[2] Военный авиационный инженерный университет,
394064, Воронеж, ул. Старых большевиков, 54 А

Поступила в редакцию 7 февраля 2011 г.

Разработаны эффективные экстракционные системы для разделения витаминов группы В с применением водорастворимых полимеров. Рассчитаны количественные характеристики экстракции (коэффициенты распределения, степень извлечения, факторы разделения), установлено влияние структуры полимеров на межфазное распределение витаминов. Содержание витаминов в водной фазе определяли спектрофотометрически с применением расчетных уравнений Фирордта.

***Ключевые слова**:* разделение**,** витамины, экстракция, водорастворимые полимеры, спектрофотометрия, метод Фирордта.

Зыков Алексей Владимирович – аспирант кафедры физической и аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Область научных интересов – экстракция витаминов и разработка способов их селективного определения в объектах пищевого и медицинского назначения.

Коренман Яков Израильевич – заслуженный деятель науки и техники РФ, доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Область научных интересов – экстракция и сорбция органических соединений, физико-химические методы анализа концентратов.

Опубликовано более 2500 научных работ, в том числе 170 патентов.

Мокшина Надежда Яковлевна – доктор химических наук, доцент кафедры физики и химии Воронежского военного авиационного инженерного университета.

Область научных интересов – экстракция биологически активных веществ и физико-химические методы их определения.

Опубликовано около 300 научных работ, в том числе 12 патентов.

ВВЕДЕНИЕ

Витамины группы В относятся к важнейшим биологически активным соединениям, нарушение содержания которых в организме человека является одной из причин возникновения патологических процессов, дисфункций различных органов [1]. Создание новых лекарственных препаратов, поливитаминных комплексов и пищевых добавок, содержащих различные витамины, связано с контролем их качества и подлинности. К приоритетным аналитическим задачам относится разработка новых способов разделения биологически активных веществ и их селективного определения.

Известно раздельное определение биологически активных веществ электрохимическими методами [2]. Определения аминокислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [3] характеризуются низкими пределами обнаружения и малой погрешностью, однако для разделения необходимо сложное оборудование, а также высококвалифицированный персонал.

Несмотря на многочисленные сведения о хроматографических и электрохимических методах разделения и определения органических веществ, жидкостная экстракция продолжает занимаеть лидирующее положение среди мето-

дов разделения и концентрирования органических веществ разных классов [4, 5].

Цель исследования состоит в разработке способа экстракционного разделения бинарных смесей витаминов группы В и их последующего селективного спектрофотометрического определения.

Для извлечения и концентрирования витаминов группы В применяются гидрофильные и гидрофобные органические растворители [6-8]. Однако эти экстрагенты характеризуются летучестью и высокой токсичностью, что затрудняет их широкое практическое применение.

Наиболее полно современным требованиям, предъявляемым к экстракционным процессам, удовлетворяют двухфазные системы на основе экологичных, нелетучих синтетических водорастворимых полимеров. Обязательное условие при экстракции полимерами – введение в анализируемый водный раствор высаливателя для образования двухфазной системы. Макромолекулы водорастворимых полимеров характеризуются повышенной комплексообразующей способностью по отношению ко многим биологически активным веществам [9, 10]. Ранее изучено распределение в системах водорастворимые витамины (аскорбиновая, никотиновая, фолиевая кислоты, рутин) – полимеры поли-N-виниламидного ряда, установлена эффективность таких экстракционных систем [11, 12]. Кроме того, отметим, что экстракция водорастворимыми полимерами позволяет проводить безреагентную реэкстракцию [13].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования – тиамин гидрохлорид (B_1), рибофлавин (B_2) и рибофлавин-мононуклеотид (B_2^*), пиридоксин гидрохлорид (B_6), цианокобаламин (B_{12}) (рис. 1). Это легко растворимые в воде биологически активные соединения, долгое время относившиеся к веществам, практически неэкстрагируемым из водных сред [14].

Навески двух витаминов фармакопейной чистоты с массами по 0,0020 г отбирали на аналитических весах, помещали в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводили до метки насыщенным раствором высаливателя. В качестве высаливателя применяли сульфат аммония. Этот электролит оказывает наибольшее высаливающее действие по отношению к витаминам группы В, значительно повышает количественные характеристики экстракции (коэффициент распределения *D* и степень извлечения *R*, %) [15].

Для экстракции витаминов применяли карбоцепные полимеры поли-N-винилпирролидон (ПВП-18000) и поли-N-винилкапролактам (ПВК-18000) со средневязкостными молекулярными массами 18000, а также полиакриламид (ПАА-10000) и полиэтиленгликоль (ПЭГ-5000). На рис. 2 приведено строение элементарного звена изученных полимеров.

В градуированные пробирки с пришлифованными пробками помещали 20 см^3 бинарной смеси витаминов, 2 см^3 водного раствора полимера (C = 0,05 г/см^3) и экстрагировали 7 мин на вибросмесителе. Этого времени достаточно для установления межфазного равновесия. Температурный интервал при экстракции устанавливали на уровне 21 ± 1 °С.

Для ускорения расслаивания системы экстракты центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Измеряли соотношение объемов равновесных водных (нижний индекс - в) и органических (о) фаз ($r = V_в/V_о$), которое изменялось по сравнению с соотношением *r* для их исходных объемов вследствие частичной растворимости полимеров в воде. Водную фазу отделяли от органической и анализировали методом УФ-спектрофотометрии (спектрофотометр Shimadzu UV mini-1240). Предварительно установлены спектральные максимумы светопоглощения ($\lambda_{хар}$) витаминов в насыщенном растворе сульфата аммония: 246, 445, 290 и 360 нм для витаминов B_1, B_2 (B_2^*), B_6 и B_{12} соответственно. В кварцевой кювете (l = 1 см) измеряли оптическую плотность водно-солевого раствора при двух $\lambda_{хар}$, соответствующих компонентам смеси. Спектры светопоглощения витаминов группы В перекрываются (рис. 3), что свидетельствует о сложности или невозможности их раздельного определения при совместном присутствии по градуировочным графикам [16]. Концентрацию индивидуальных компонентов смеси витаминов после экстракции определяли спектрофотометрически с применением метода Фирордта [16]. Уравнения Фирордта выведены нами для бинарных смесей витаминов группы В при различиях максимумов светопоглощения определяемых веществ минимум на 4–5 нм, а также при соблюдении принципа аддитивности оптических плотностей [15].

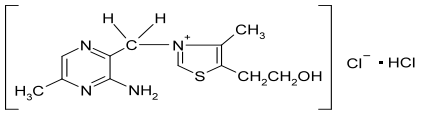
Коэффициенты распределения *D*, степень извлечения *R* и фактор разделения β витаминов в бинарных системах вычисляли по уравнениям [8]:

$$D = \frac{c_о}{c_в} \cdot r, \quad R = \frac{D}{D + r} \cdot 100\ \%, \quad \beta = \frac{D_1}{D_2},$$

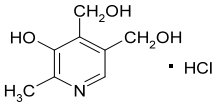
где $c_о$ и $c_в$ – концентрации витамина в органической и водной фазах, г/см^3; индексы 1 и 2 относятся к разным компонентам смеси.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

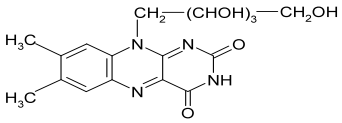
Рассчитаны коэффициенты распределения, степени извлечения и факторы разделения витаминов группы В в системах на основе водорастворимых полимеров (таблица). Отметим преимущество ПЭГ-5000 по сравнению с дру-



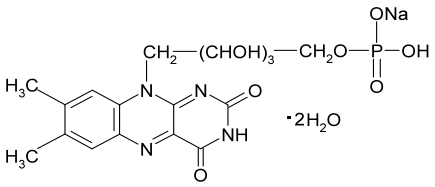
(1)



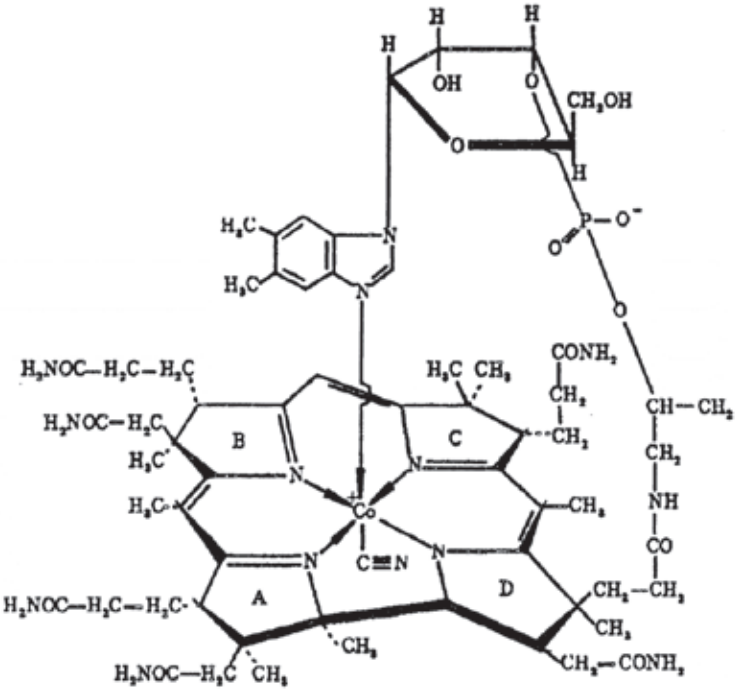
(2)



(3)

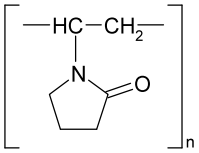


(4)

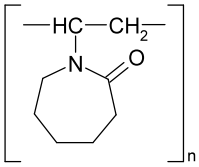


(5)

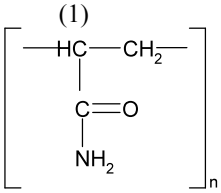
Рис. 1. Структурные формулы тиамин гидрохлорида (1), пиридоксин гидрохлорида (2), рибофлавина (3), рибофлавин-мононуклеотида (4), цианокобаламина (5)



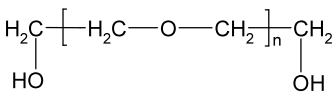
(1)



(2)



(3)



(4)

Рис. 2. Структурные формулы поли-N-винилпирролидона (1), поли-N-винилкапролактама (2), полиакриламида (3) и полиэтиленгликоля (4)

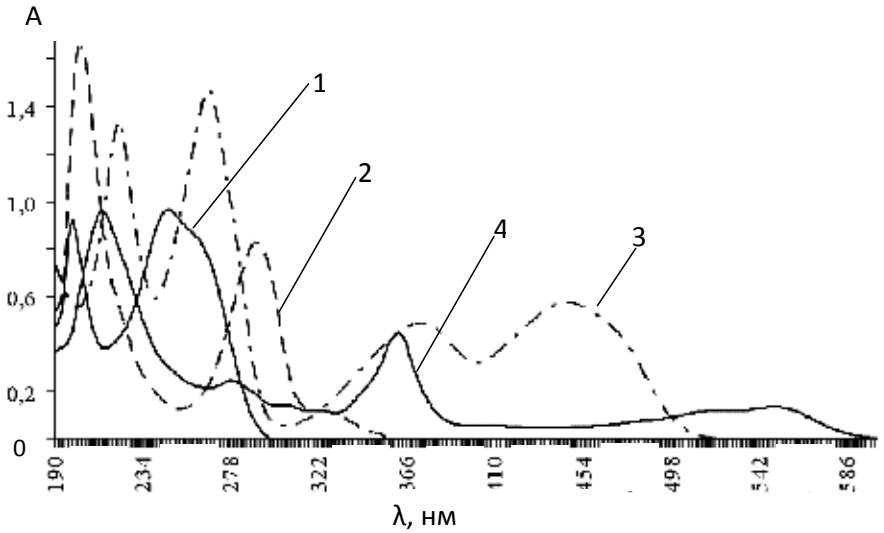


Рис. 3. Спектры светопоглощения тиамин гидрохлорида (1), пиридоксин гидрохлорида (2), рибофлавина и рибофлавин-мононуклеотида (3), цианокобаламина (4) в насыщенном растворе сульфата аммония.

гими изученными полимерами для извлечения витаминов. Установлено, что при увеличении концентрации полимеров выше 0,05 г/см^3 выпадают хлопья вследствие их коагуляции. В водном растворе полимеров образуются ассоциаты, при этом освобождается связанная вода, которая переходит в равновесную водно-солевую фазу. В результате коэффициенты распределения витаминов с увеличением концентрации полимера свыше 0,05 г/см^3 возрастают незначительно.

Различия в коэффициентах распределения рибофлавина и рибофлавина-мононуклеотида в одних и тех же экстракционных системах обусловлены различной растворимостью этих веществ в воде [1]. Рибофлавин-мононуклеотид содержит полярную эфирную группировку фосфорной кислоты, которая придает этому витамину характер сильнополярного соединения и бóльшую растворимость в воде. По этой причине экстракция рибофлавина-мононуклеотида водорастворимыми полимерами по сравнению с рибофлавином затруднена. Витамины B_1 и B_6 извлекаются менее полно по сравнению с другими изученными витаминами, что обсуловлено, вероятно, наличием в их структуре молекул HCl. Надмолекулярное строение витамина B_{12} в бóльшей мере по сравнению с другими витаминами способствует образованию ассоциатов с компонентами органической фазы, что приводит к практически полному его извлечению в изученных системах.

На межфазное распределение витаминов существенное влияние оказывает строение молекул (рис. 1), наличие в структурах функциональных групп, способных образовывать внутри- и межмолекулярные водородные связи. Образование комплексов между полимером и витамином происходит за счет водородных связей с атомом кислорода полимера (неспаренная пара электронов) и атомом водорода в структуре витамина (рис. 2).

Установлено, что наибольшее разделение витаминов достигается в системах с витамином B_{12} и применении в качестве экстрагента ПЭГ-5000 (β = 820). Факторы β в других системах с витамином B_{12} также свидетельствуют об эффективности разделения бинарных смесей витаминов. Отметим, что при использовании в качестве экстрагентов традиционно применяемых органических растворителей факторы разделения в системах с витамином B_{12} также значительно превышают этот показатель для других бинарных смесей [15].

Содержание витаминов в водном концентрате определяли спектрофотометрически с применением расчетных уравнений Фирордта. Метод Фирордта позволяет определять содержание отдельных компонентов в равновесной водной фазе с хорошими метрологическими показателями. В результате направленного поиска стабильных двухфазных систем на основе водорастворимых полимеров разработаны эффективные экстракционные системы для разделения витаминов группы В из водно-солевых растворов. Рассчитаны факторы разделения витаминов, степень их извлечения и коэффициенты распределения индивидуальных компонентов смеси. Разработанные системы могут быть применены в аналитических лабораториях фармацевтических предприятий при определении витаминов в многокомпонентных системах.

Таблица

Характеристики экстракционного разделения бинарных смесей витаминов группы В водорастворимыми полимерами

Полимер	Смесь		D_1	D_2	R_1, %	R_2, %	β
	компонент 1	компонент 2					
ПВП-18000	B_{12}	B_2	490,0	31,3	93,2	46,7	15,7
	B_{12}	B_2^*	510,0	23,8	93,5	40,0	21,4
	B_{12}	B_6	515,0	8,5	93,5	19,2	60,6
	B_{12}	B_1	520,0	3,3	93,6	8,4	157,6
	B_2	B_1	33,0	3,1	48,1	8,0	10,6
	B_2	B_6	32,8	8,5	48,0	19,2	3,9
ПВК-18000	B_{12}	B_2	57,3	23,2	61,6	38,8	2,5
	B_{12}	B_2^*	59,1	19,8	62,4	35,7	3,0
	B_{12}	B_6	59,4	2,8	62,5	7,3	21,2
	B_{12}	B_1	59,8	1,0	62,7	2,7	59,8
	B_2	B_1	24,3	1,1	40,8	3,0	22,1
	B_2	B_6	24,1	2,7	40,4	7,0	8,9
ПАА-10000	B_{12}	B_2	290,0	22,0	89,1	38,2	13,2
	B_{12}	B_2^*	295,0	19,4	89,2	35,2	15,2
	B_{12}	B_6	302,0	13,1	89,5	26,9	23,1
	B_{12}	B_1	310,0	10,5	89,7	22,8	29,5
	B_2	B_1	24,0	10,6	40,2	22,9	2,3
	B_2	B_6	23,9	13,5	40,2	27,5	1,8
ПЭГ-5000	B_{12}	B_2	800	20,3	90,8	20,0	39,4
	B_{12}	B_2^*	810	15,6	90,9	16,1	51,9
	B_{12}	B_6	820	40,8	91,0	33,5	20,1
	B_{12}	B_1	820	37,1	91,0	31,4	22,1
	B_2	B_1	20,3	37,0	20,0	31.4	0,6
	B_2	B_6	20,3	40,8	20,0	33,5	0,5

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг. (г/к № П2264 от 13.11.2009).

ЛИТЕРАТУРА

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия: в 2 т. Пятигорск: Пятигорская гос. фарм. акад., 1996. Т. 2. 608 с.
2. Мокшина Н.Я., Коренман Я.И., Пахомова О.А., Зыков А.В. Раздельное определение ароматических α-аминокислот и витаминов после экстракции из водных сред // Аналитика и контроль. 2009. Т. 13, № 4. С. 169-173.
3. Власова И.В., Масякова Е.Н., Богданова Л.А., Пермякова Н.Ю. Определение водорастворимых витаминов в премиксах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Завод. лаб. Диагностика материалов. 2007. Т. 73. № 9. С. 25-27.
4. Золотов Ю.А. Разделение и концентрирование в химическом анализе // Рос. хим. журн. 2005. Т. 49, № 2. С. 6.
5. Москвин Л.Н., Царицына Л.Г. Методы разделения и концентрирования в аналитической химии. Л.: Химия, 1991. 256 с.
6. Вострикова О.М., Смольская Е.Л., Егуткин Н.Л. Особенности экстракции витамина B_{12} *п*-крезолом // Ж. приклад. химии. 1991. Т. 64, № 10. С. 2202-2205.
7. Смольская Е.Л., Вострикова О.М., Егуткин Н.Л. Синергентные смеси для экстракции витамина B_{12} из водных растворов // Ж. приклад. химии. 1993. Т. 66, № 3. С. 686-689.
8. Мокшина Н.Я. Экстракция аминокислот и витаминов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2007. 246 с.
9. Кирш Ю.Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды. М.: Наука, 1998. 252 с.
10. Шляхина Ю.В., Мокшина Н.Я., Хохлов В.Ю., и др. Применение водорастворимых полимеров для экстракционного извлечения ароматических аминокислот // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2006. Т. 46, № 6. С. 20-22.
11. Пат. № 2361202 РФ. Способ определения аскорбиновой кислоты в водном растворе / Мокшина Н.Я., Ерина О.В., Пахомова О.А., Шаталов Г.В. Воронеж. гос. технол. акад.: № 2008121427/04; Заявл. 27.05.2008; опубл. 10.07.2009. Бюл. № 19.
12. Пат. № 2374642 РФ. Способ определения никотиновой кислоты в водном растворе / Мокши-

на Н.Я., Ерина О.В., Пахомова О.А., Шаталов Г.В. Воронеж. гос. технол. акад.: № 2008121413/04; Заявл. 27.05.2008; опубл. 27.11.2009. Бюл. № 33.
13. Цыплухина Ю.В. Экстракция α-аминокислот с ароматическими заместителями синтетическими водорастворимыми полимерами: Дис… канд. хим. наук. Воронеж: Воронеж. гос. ун-т., 2006. 140 с.
14. Коренман Я.И. Коэффициенты распределения органических соединений. Справочник. Воронеж: Воронеж. гос. ун-т., 1992. 336 с.
15. Коренман Я.И., Мокшина Н.Я., Зыков А.В. Экстракционное разделение и спектрофотометрическое определение витаминов группы В в бинарных смесях // Хим. технологии. 2010. № 5. С. 288-291.
16. Берштейн, Н.Я. Каминский Н.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.

EXTRACTIVE SEPARATION OF VITAMIN B BY SYNTHETIC WATER-SOLUBLE POLYMERS

A.V. Zykov[1], Ya.I. Korenman[1], N.Ya. Mokshina[2]

[1]State Technology Academy
394036, Voronezh, Revolution avenue, 19 korenman@vgta.vrn.ru
[2]Air Force Engineering University, 394064, Voronezh, Staruyh Bolshevikov street, 54 A

The effective extraction systems for separation of B vitamins with water-soluble polymers has been developed. Quantitative characteristics of the extraction (distribution coefficients, the degree of extraction, separation factor) has been calculated, the influence of polymer structure on the interfacial distribution of vitamins has been established. Vitamin content in the aqueous phase was determined spectrophotometrically using the calculated equations Firordt's.

***Key words**:* separation, vitamins, extraction, water-soluble polymers, spectrophotometry, the method of Firordt's.