

## ОБЩАЯ МЕТОДОЛОГИЯ МЕЖФАЗНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ И ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ В РАЗНОХАРАКТЕРНЫХ ЭКСТРАКЦИОННЫХ СИСТЕМАХ

© 2013 Н. Я. Мокшина<sup>1</sup>, Д. В. Быковский<sup>2</sup>, Г. В. Шаталов<sup>2</sup>, О. А. Пахомова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия им. проф. Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина», ул. Старых Большевиков, д. 54 а, 394064 Воронеж, Россия

<sup>2</sup>Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, 394006 Воронеж, Россия

<sup>3</sup>Елецкий государственный университет им. И. А. Бунина, ул. Коммунаров, 28, 399770 Елец, Россия  
e-mail: nasredinne@mail.ru

Поступила в редакцию: 14.10.2013 г.

**Аннотация:** Изучены условия экстракции аминокислот и витаминов органическими растворителями, их бинарными и тройными смесями, водорастворимыми полимерами из водных растворов, содержащих высаливатель. Рассчитаны количественные характеристики экстракции, оптимизирован состав экстрагента. Предложены эффективные системы для извлечения и разделения аминокислот и витаминов.

**Ключевые слова:** экстракция, аминокислоты, витамины, полимеры.

### ВВЕДЕНИЕ

Большинство исследований в области экстракции органических соединений относится к изучению равновесий в двухфазных системах органический растворитель — вода. Трудными известными российскими и зарубежными учеными изучена экстракция многих органических соединений растворителями, в системах с которыми реализуются различные механизмы межфазного распределения [1—3].

Разделение смесей биологически активных веществ (в том числе незаменимых аминокислот) и их селективное определение при совместном присутствии относится к приоритетным задачам современной аналитической химии. Их решение возможно с применением жидкостной экстракции и комплекса физико-химических методов экспрессного и селективного анализа концентратов. Отметим, что одно из перспективных направлений жидкостной экстракции связано с применением гидрофильных растворителей, в том числе водорастворимых полимеров [4—6].

Цель данного исследования состоит в разработке общей методологии эффективного извлечения и определения ароматических  $\alpha$ -аминокислот и водорастворимых витаминов в водных средах на уровне микроколичеств с применением экстракции органическими растворителями разных классов

и последующего детектирования спектрофотометрическим и электрохимическими методами.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объекты исследования — фенилаланин (Phe), тирозин (Tyr), триптофан (Trp), аскорбиновая (Asc) и никотиновая (Nic) кислоты. Их выбор обусловлен все возрастающим количеством фармацевтических препаратов и пищевых продуктов, одновременно содержащих незаменимые аминокислоты и витамины, что требует разработки эффективных и экспрессных способов определения компонентов таких сложных матриц.

В качестве экстрагентов изучены органические растворители разных классов и их смеси (алифатические спирты нормального строения, сложные эфиры, кетоны, водорастворимые полимеры поли-N-виниламидного ряда). Синтез полимеров проводили методом радикальной полимеризации в растворе изопропанола при 65 °С с содержанием инициатора динитрила азобисизомасляной кислоты  $110^{-2}$  моль/дм<sup>3</sup>. Поли-N-винил-N-метилацетамид получали радикальной полимеризацией мономера в этиловом спирте и бензоле при 60 °С с тем же содержанием количеством инициатора.

Применение гидрофильных экстрагентов связано с обязательным присутствием в водном растворе аминокислот и витаминов высаливателя,

способствующего образованию межфазной границы и перераспределению аналитов из водной фазы в органическую. В качестве высаливателей применены сульфаты, сульфиты и хлориды щелочных металлов, а также соли аммония.

После экстракции аналиты определяли в водной фазе спектрофотометрически по собственному поглощению в УФ-области спектра. Селективное определение компонентов бинарных и тройных смесей аминокислот и витаминов осуществляли методом Фирордта [7, 8]. Анализ органических экстрактов осуществляли электрохимически мето-

дами потенциометрического и кондуктометрического титрования [9]. Для всех изученных систем рассчитаны коэффициенты распределения ( $D$ ), степень извлечения ( $R, \%$ ) и фактор разделения ( $\beta$ ) аминокислот и витаминов, а также количественные характеристики установленных синергетических эффектов. Результаты экстракции статистически обработаны [10].

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Общая схема экстракции и определения аминокислот и витаминов включает следующие стадии:



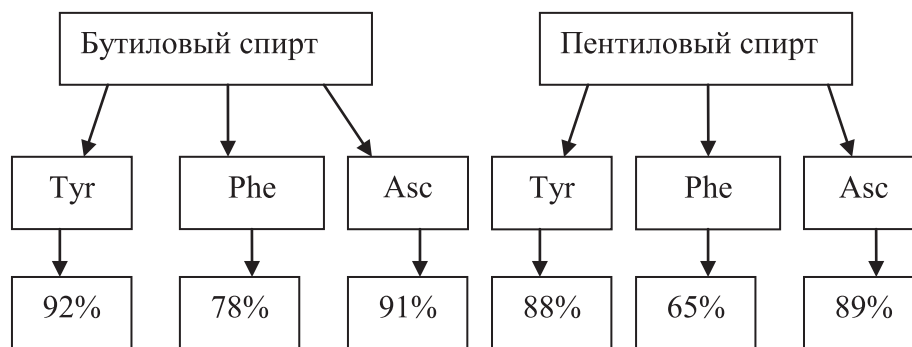
#### 1. ЭКСТРАКЦИЯ АМИНОКИСЛОТ И ВИТАМИНОВ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ

Проведены исследования межфазного распределения аминокислот и витаминов в системах с органическим растворителем. Установлено, что максимальные экстракционные характеристики достигаются при использовании в качестве экстрагентов низших представителей гомологических рядов (этилацетат, этиловый и бутиловый спирты, ацетон) и в присутствии сульфата аммония и хлорида натрия [7].

На схеме приведены результаты трехкратной экстракции аминокислот и аскорбиновой кислоты спиртами в присутствии хлорида натрия. При этом степень извлечения компонентов достигает 65—92%.

#### 2. ЭКСТРАКЦИЯ АМИНОКИСЛОТ И ВИТАМИНОВ БИНАРНЫМИ И ТРОЙНЫМИ СМЕСЯМИ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

С целью повышения степени извлечения целевых компонентов применяется экстракция бинарными и тройными смесями растворителей. Нами оптимизирован состав экстрагента, состоящего из алифатического спирта, алкилацетата и ацетона для эффективного извлечения аминокислот из водных сред. При экстракции такими смесями отмечается синергетический эффект, сопровождающийся значительным повышением коэффициентов распределения аминокислот и витаминов [7]. В качестве экстрагентов в таких системах наиболее эффективны соли натрия, которые стабилизируют структуру водного раствора.



Для выбора оптимального состава смеси растворителей применяли симплекс-решетчатое планирование эксперимента, основная предпосылка которого состоит в нормированности суммы независимых переменных. За единицу принята сумма мольных объемов гидрофильных экстрагентов:

$X_1$  — спирт,  $X_2$  — эфир,  $X_3$  — кетон. Выходной параметр — коэффициент распределения [11]. Матрица планирования эксперимента составляется в соответствии с задачами исследования (табл. 1).

**Таблица 1.** Симплекс-решетчатый план третьего порядка для трехкомпонентной смеси растворителей

Номер эксперимента	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Y
1	1	0	0	$Y_i$
2	0	1	0	$Y_j$
3	0	0	1	$Y_k$
4	2/3	1/3	0	$Y_{ij}$
5	1/3	2/3	0	$Y_{ij}$
6	0	2/3	1/3	$Y_{ijk}$
7	0	1/3	2/3	$Y_{jkk}$
8	2/3	0	1/3	$Y_{iik}$
9	1/3	0	2/3	$Y_{ikk}$
10	1/3	1/3	1/3	$Y_{ijk}$

Математическую модель экстракции смесями растворителей можно представить в виде полинома третьего порядка для q-компонентной смеси:

$$Y = \sum_{1 \leq i \leq q} \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{1 \leq i < j < k \leq q} \gamma_{ij} x_i x_j (x_i - x_j) + \sum_{1 \leq i < j < k \leq q} \beta_{ijk} x_i x_j x_k,$$

где  $x$  — масштабированные значения факторов, определяющих функцию отклика и поддающихся варьированию;  $i, j, k$  — индексы факторов;  $\beta$  и  $\gamma$  — коэффициенты уравнения;  $q$  — число компонентов в смеси.

Получены уравнения регрессии, проверка которых по критерию Фишера показала, что неполная квадратичная модель адекватно описывает экспериментальные результаты и применима для оптимизации состава тройной смеси растворителей. Для установления состава тройной смеси растворителей, при экстракции которой достигаются

наибольшие коэффициенты распределения ароматических  $\alpha$ -аминокислот, уравнения регрессии решали относительно переменных  $X_1, X_2$  и  $X_3 \in \{0;1\}$ , например, для системы фенилаланин — тирозин:

фенилаланин

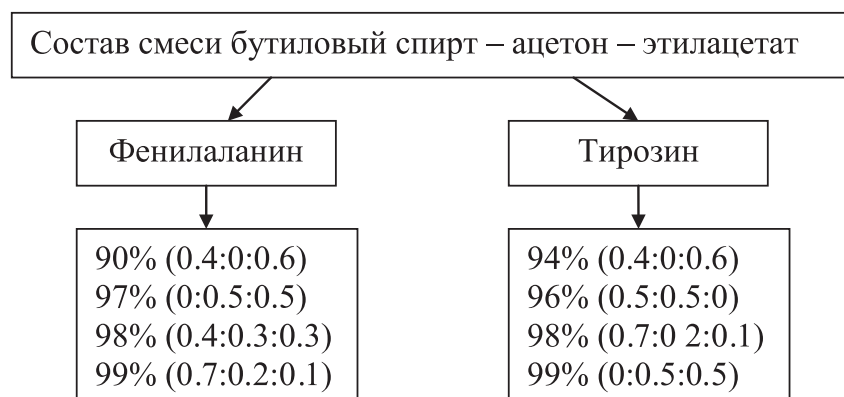
$$Y = 245X_1 + 312X_2 + 103X_3 + 1124X_1X_2 + 1781X_1X_3 + 593X_2X_3 + 169X_1X_2(X_1 - X_2) + 762X_1X_3(X_1 - X_3) + 267X_2X_3(X_2 - X_3) + 5421X_1X_2X_3;$$

тирозин

$$Y = 196X_1 + 295X_2 + 132X_3 + 1698X_1X_2 + 859X_1X_3 + 1156X_2X_3 - 412X_1X_2(X_1 - X_2) + 522X_1X_3(X_1 - X_3) - 95X_2X_3(X_2 - X_3) + 4893X_1X_2X_3.$$

По полученным данным строили контурные кривые — номограммы, позволяющие оптимизировать состав смеси, обеспечивающий практически полное одновременное извлечение фенилаланина и тирозина, а также тирозина и триптофана [11].

Аминокислоты в водной фазе определяли спектрофотометрически, в органической — электрохимически. На схеме представлен оптимальный состав смеси бутиловый спирт — ацетон — этилацетат для экстракции фенилаланина и тирозина:



### 3. ЭКСТРАКЦИЯ АМИНОКИСЛОТ И ВИТАМИНОВ ПОЛИМЕРАМИ РАЗЛИЧНОГО СТРОЕНИЯ

В качестве экстрагентов для извлечения аминокислот применяли водорастворимые полимеры: поли-N-винилпирролидон (ПВП), поли-N-винилкапролактam (ПВК), поли-N-винилметилацетамид (ПВМА), полиэтиленгликоль (ПЭГ). Выбор полимеров обусловлен их высокой комплексообразующей способностью по отношению к биологически активным веществам.

Ранее методами УФ- и ИК-спектроскопии изучены спектральные характеристики растворов полимеров и их комплексов с аминокислотами [7]. Установлено число последовательных экстракций,

необходимых для практически полного извлечения аминокислот из водной фазы полимерами.

Извлечение фенилаланина связано с применением большого числа последовательных экстракций практически во всех изученных системах, что обусловлено гидрофобностью этой аминокислоты. Наиболее эффективными для экстракции аминокислот оказались ПВК и ПВП, что связано со структурными особенностями этих полимеров. При этом максимальная степень извлечения аминокислот ПВК достигается в системах с хлоридом натрия, другими полимерами — в присутствии сульфата аммония. На схеме представлены степени извлечения (%) биологически активных веществ в системах с водорастворимыми полимерами в присутствии солей натрия:

	Tyr	Phe	Trp	Asc	Nic
ПВП	90	98	91	92	96
ПВКЛ	82	54	77	53	74
ПВМА	70	21	73	90	94
ПЭГ	45	13	61		

Методом молярных отношений рассчитаны константы устойчивости комплексов поли-N-

винил-N-метилацетамид — триптофан, поли-N-винил-капролактam — фенилаланин, поли-N-

винилкапролактам — триптофан, поли-N-винилпирролидон — фенилаланин, поли-N-винилпирролидон — триптофан; они равны 24; 46; 35; 72 и 63 соответственно.

Константы устойчивости комплексов водорастворимых полимеров с аминокислотами невелики, что свидетельствует об образовании так называемых «мягких» комплексов. Это особенно важно при создании лекарственных препаратов, включающих полимеры, когда необходимо быстрое высвобождение действующего компонента из комплексного соединения.

### ВЫВОДЫ

1. Установлены оптимальные условия для максимального извлечения ароматических аминокислот, аскорбиновой и никотиновой кислот из водно-солевых систем, позволяющие эффективно разделять биологически активные соединения.

2. Предлагаемая комплексная схема извлечения аминокислот и водорастворимых витаминов позволяет проводить выбор необходимой методики экстракции для решения практических задач.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лантев А. Г.* Модели переноса и эффективность жидкостной экстракции. Казань: Казан. гос. энерг. ун-т. 2005. 229 с.

2. *Юртов Е. В.* // Сб. «Структурообразование и межфазные явления в системах жидкость-жидкость». М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2001. С. 84—95.

3. *Куваева З. И., Гаврилюк И. В., Солдатов В. С.* // Журн. физ. хим. 2005. Т. 79. № 5. С. 904—908.

4. *Мокшина Н. Я., Нифталиев С. И., Пахомова О. А.* // Хим. технология. 2005. № 5. С. 44—46.

5. *Нифталиев С. И.* дис... д-ра хим. наук Краснодар, КГУ. 2004. 368 с.

6. *Шляхина Ю. В., Мокшина Н. Я., Хохлов В. Ю. и др.* // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2006. Т. 49. № 6. С. 20—22.

7. *Мокшина Н. Я.* Экстракция аминокислот и витаминов. Воронеж: Воронеж. гос. технол. Акад, 2007. 246 с.

8. *Мокшина Н. Я., Коренман Я. И., Пахомова О. А. и др.* // Аналитика и контроль. 2009. Т. 13. № 4. С. 169—173.

9. *Мокшина Н. Я., Пахомова О. А., Нифталиев С. И.* // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62. № 10. С. 1072—1078.

10. *Вершинин В. И., Перцев Н. В.* Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента. Омск: Изд-во ОмГУ, 2005. 216 с.

11. *Пахомова О. А., Мокшина Н. Я., Коренман Я. И. и др.* Жидкостная экстракция в анализе аминокислот. Воронеж: ВГТА, 2011. 156 с.

*Мокшина Надежда Яковлевна* — д. х. н., доцент кафедры физики и химии Военно — воздушной академии им. профессора Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина; тел (4732) 588338; e-mail: moksnad@mail.ru

*Быковский Дмитрий Владимирович* — аспирант кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидов, Воронежский государственный университет; тел (4732) 208956; e-mail: nasredinne@mail.ru

*Шаталов Геннадий Валентинович* — д. х. н., профессор, зав. кафедрой высокомолекулярных соединений и коллоидов Воронежский государственный университет; тел (4732) 208—956; e-mail: chhml158@chem.vsu.ru

*Пахомова Оксана Анатольевна* — к. х. н., доцент кафедры химии Елецкого государственного университета им. И. А. Бунина, mail: moksnad@mail.ru

*Mokshina N. J.* — Dr. Sci. (Chem.), Professor, Associate Professor, Department of Physics and Chemistry Military — Air Force Academy after Professor N. E. Zhukovsky and Y. A. Gagarin; tel.: (4732) 588338, e-mail: moksnad@mail.ru

*Bikovskiy D. V.* — postgraduate student of the Department of Polymer Science and Colloids, Voronezh State University; tel.: (4732) 208956, e-mail: nasredinne@mail.ru

*Shatalov G. V.* — Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head of the Department of Polymer Science and Colloids, Voronezh State University; tel.: (4732) 208956, e-mail: chhml158@chem.vsu.ru

*Pakhomova O. A.* — Cand. Sci. (Chem.), Assistant Professor of the Department of Chemistry Eletski State University. I. A. Bunin; mail: moksnad@mail.ru