

УДК 543.544

# Тонкослойная хроматография витаминов A и E на силикагеле

Романов О.Е.<sup>1</sup>, Будинов С.В.<sup>1</sup>, Штыков С.Н.<sup>2</sup>

 $^{1}$ ФГБОУ ВПО "Калмыцкий государственный университет", Элиста  $^{2}$ ФГБОУ ВПО "Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского", Саратов

Поступила в редакцию 15.02.2014 г.

### Аннотация

Методом нормально-фазовой тонкослойной хроматографии на силикагеле изучено хроматографическое поведение гидрофобных витаминов A и E в 16 подвижных фазах, содержащих смеси неполярных (циклогексан, гексан) и полярных ароматических, протонных и апротонных растворителей. Выявлены факторы, влияющие на подвижность витаминов A и E и эффективность хроматографического процесса, найдены оптимальные условия разделения.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография, силикагель, витамины А и Е

The chromatographic behavior of hydrophobic vitamins A and E on silica gel normal-phase TLC plates using 16 types of mobile phases that contained nonpolar (cyclohexane, hexane) and aromatic, protic and aprotic polar solvents was studied. The factors that influence on the mobility of the vitamins and effectiveness of chromatographic process were revealed and optimal conditions for separation of these vitamins were found.

**Keywords:** thin-layer chromatography, silica gel, vitamins A and E

#### Введение

Витамины — незаменимые органические соединения, которые активно участвуют в обмене веществ и поступают в организм человека практически полностью из внешней среды. Ретинол ацетат (витамин А) и токоферол (витамин Е) относят к жирорастворимым витаминам. Витамин Е не является индивидуальным веществом и представляет собой смесь четырёх структурных изомеров токоферолов и четырёх соответствующих им токотриенолов. Оба витамина обладают также антиоксидантными свойствами [1]. Основным источником этих витаминов являются пищевые продукты, а также фармацевтические и косметические препараты. В связи с этим, разработка и совершенствование методов разделения и определения указанных витаминов в таких продуктах является актуальной задачей, от решения которой зависит их качество и эффективность действия.

Для определения данных витаминов в различных биологических, растительных объектах и витаминных комплексах, в связи с их сложным составом, предлагают в основном селективные и высокочувствительные хроматографические методы, основанные на предварительном разделении компонентов анализируемого объекта [2]. Применение метода газовой хроматографии ограничено ввиду необходимости перевода витаминов в летучие эфиры и низкой термостабильностью

 ${\it Pomanoe}$  и др. /  ${\it C}$ орбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. Вып. 4

витамина А [2, 3], поэтому метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), фактически, является основным [4]. Большинство методик основано на применении обращенно-фазового варианта ВЭЖХ и спектрофотометрического детектора [2, 4-10]. Для определения ретинола иногда применяют флуориметрический детектор [8] и очень редко нормально-фазовую ВЭЖХ [11]. В последнее время определенное распространение получает сочетание ВЭЖХ и тандемной масс-спектрометрии при атмосферном давлении [12, 13], а также дорогостоящий метод ультра ВЭЖХ [14].

Несмотря на высокую эффективность ВЭЖХ в химическом анализе жирорастворимых витаминов остаются задачи, связанные с простым и оперативным контролем их присутствия в объекте и в этом случае наиболее приемлемым является метод тонкослойной хроматографии (TCX), варианты которого для разделения этих витаминов рассмотрены в обзорах [15-17]. Из указанных обзоров и небольшого числа оригинальных работ следует, что в TCX витаминов A и E, в отличие от ВЭЖХ, чаще используют нормальную фазу с неводными подвижными фазами ( $\Pi\Phi$ )[18-22] и реже обращенную фазу с водно-органическими  $\Pi\Phi$  [23-25].

Анализ этих работ показывает, что задача разделения витаминов A и E решалась лишь в единичных работах [20], причем чаще использовали пластинки с нормальной фазой для высокоэффективной TCX (ВЭТСХ). Показано, что даже на пластинках с ВЭТСХ в ПФ на основе гексана витамины A и E не элюируются, в хлороформе, ацетонитриле, смеси гексана с этилацетатом (10:1) значения подвижностей совпадают, в ПФ на основе смесей бензола с этилацетатом (10:1) и (20:1), гексана и этилацетата (20:1) и в метаноле величины  $\Delta R_f$  не превышают 0.05 и только в бензоле разница в подвижностях витаминов достаточно значительна и равна 0.13.

Целью данной работы является сравнительное изучение влияния природы различных элюентов на хроматографическое поведение витаминов А и Е на пластинках с нормальной фазой марки «Армсорб». Поскольку алифатические углеводороды, как показано в [19], не сдвигали витамины с линии старта, мы в качестве разбавителя в основном использовали циклогексан, а для изменения подвижности добавляли либо ароматический углеводород (толуол), либо спирты, либо эфиры.

## Эксперимент

В качестве стандартов использовали образцы аптечных препаратов витаминов ОАО «Мар-биофарм» (Россия, г. Йошкар-Ола): витамин А (ретинола ацетат) и витамин Е (альфа-токоферола ацетат в масле. Применяли пластинки для ТСХ с нормальной фазой марки «Армсорб ТСХ КСКГ» подложка — алюминиевая фольга, связующее — крахмал, фракция 10-20 мкм, толщина слоя - 100±10 мкм с УФ добавкой УФ-254. Использовали стандартную хроматографическую камеру 290×225×160 мм, фирмы «Сорбполимер», Краснодар. Растворы витаминов объемом 1 мкл, наносили на пластинку микрошприцем. Для обработки хроматограмм использовали пульверизатор, после этого хроматограммы подсушивали с применением фена. Камеры насыщали элюентом 15 минут. Применяли следующие органические растворители: гексан, циклогексан, толуол, пропанол-2, бутанол-1, петролейный эфир, бутилацетат, хлороформ, тетрахлорметан, которые имели квалификацию «хч» и «чда».

Пробы наносили на пластину на расстоянии 1 см от нижнего края. Пластину с нанесенными веществами погружали в предварительно насыщенную в течение 15 минут парами  $\Pi\Phi$  хроматографическую камеру и хроматографировали. Величину  $R_f$  рассчитывали по программе TCX-менеджер версия 3.1. Полученные хроматограммы проявляли опрыскиванием хлорной и серной кислотами.

Для расчета полярности смеси растворителей использовали индекс полярности Снайдера [26]:

$$P_{cmecb} = \Sigma \varphi_i *P_i$$

где  $\varphi_i$  — объемная доля растворителя і,  $P_i$  — индекс полярности Снайдера для растворителя і. Расчет числа теоретических тарелок N проводили по следующей формуле [27]:

$$N = 16(Z_R/w)^2$$
,

где  $Z_R$  — расстояние, от линии старта до центра пятна вещества X, w — расстояние от верхней до нижней границы того же пятна. ВЭТТ — высоту, эквивалентной теоретической тарелки H вычисляли по формуле:

$$H = Z_R/N$$

где  $Z_R$  — расстояние, от линии старта до центра пятна вещества X. Разрешающую способность двух витаминов находили по формуле

$$R_s = \Delta X / [(W1 + W2)/2],$$

где  $\Delta X$  – расстояние между центрами пятен, W – ширина пятна [27].

Элюенты для TCX готовили смешиванием компонентов в указанных в таблице соотношениях непосредственно перед использованием. Для каждой элюирующей системы были рассчитаны полярность элюента (P'),  $R_f$  витаминов A и E, величины N и H).

# Обсуждение результатов

Ниже представлены формулы витаминов (рис.1), из которых следует, что с одной стороны они являются гидрофобными соединениями, а с другой — содержат гидроксильную группу в ароматическом кольце (витамин E) и сложноэфирную группу на конце алкильной цепи (витамин A).

Витамин А (ретинол ацетат) Рис. 1. Формулы витаминов

В молекуле витамина Е присутствует ароматическое кольцо, а в молекуле витамина А — непредельная линейная цепь. Таким образом, обе молекулы могут взаимодействовать с компонентами подвижной фазы посредством как  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействий, так и водородной связи, а с неподвижной фазой — за счет водородной связи и Ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Апробированные 16 систем растворителей приведены в таблице, которая позволяет сравнивать

эффективность используемых в работе и предложенных ранее элюентов [15-25, 28-30].

Таблица. Хроматографические характеристики витаминов А и Е

	•	$\frac{\text{ческие характеристики }}{R_{\text{f}}}$			N×10 <sup>-2</sup>		Н, мм		
№	Элюент	A	E	P'	A	Е	A	Е	$R_{\rm s}$
1	Циклогексан— толуол — хлороформ— пропанол-2 (2:1:0.4:0.02)	0.76±0.01	0.82±0.02	1.32	15	18	0.01	0.01	0.8
2	Циклогексан— толуол — хлороформ— пропанол-2 (2.5:1.5:0.4:0.02)	0.70±0.02	0.84±0.02	1.31	17	19	0.01	0.01	1.1
3	Циклогексан— толуол — хлороформ— бутанол-1 (2:1:0.4:0.02)	0.41±0.03	0.43±0.06	1.32	2.8	0.77	0.07	0.28	0.5
4	Циклогексан— толуол — хлороформ— бутанол-1 (2.5 : 1 : 0.5 : 0.05)	0.55±0.04	0.60±0.07	1.27	4.8	1.5	0.07	0.20	0.6
5	Циклогексан— этилацетат (7.5:2.5) [29]	0.65	0.75	0.44	-	-	-	-	
6	Петролейный эфир- толуол-бутилацетат (8:0.5:0.5)	0.50±0.07	0.43±0.07	0.13	2.4	0.91	0.16	0.34	0.5
7	Хлороформ	0.95±0.05	0.94±0.05	4.10	5.8	8.8	0.06	0.04	0.2
8	Петролейный эфир- хлороформ—СС14 (1:20:2)	0.89±0.06	0.94±0.06	3.70	4.0	5.6	0.09	0.04	0.3
9	Гексан–этилацетат (10:1) [19]	0.68±0.01	0.68±0.01	0.40	-	-	-	-	
10	Гексан–этилацетат (9:1)	0.93±0.02	0.94±0.03	0.44	3.2	3.6	0.02	0.01	0.05
11	Циклогексан– диэтиловый эфир[30]	0.36	0.36	-	-	-	-	-	
12	Гексан	0.07±0.03	$0.10\pm0.04$	0	0.49	0.44	0.01	0.02	
13	Гексан [19]	0.0	0.0	-	-	-	-	-	
14	Толуол	0.18±0.03	0.16	2.4	0.51	0,98	0.03	0.02	0.14
15	Гексан – бензол (1:1)	0.95±0.04	0.97±0.04	1.35	3.0	2.8	0.02	0.02	
16	Гексан – хлороформ (1:1)	0.57±0.06	$0.60\pm0.07$	2.05	0.57	0.51	0.05	0.06	0.07

Из таблицы видно, что элюенты 1-4 содержат циклогексан (гидрофобный разбавитель) и толуол, способный вступать в  $\pi$ - $\pi$  взаимодействие с ароматическими кольцом витамина E и  $\pi$ -связями алифатической цепи витамина A. Третьим

компонентом элюентов является хлороформ, принадлежащий к группе нелокализующихся на силикагеле растворителей, способный, однако, образовывать слабые водородные связи как с силанольными группами сорбента, так и кислородсодержащими группами витаминов. Как следует из таблицы элюент 7 сильно влияет на подвижность, но не является дифференцирующим по отношению к витаминам A и E. Четвертым компонентом были спирты (локализующиеся растворители), которые способны наиболее сильно модифицировать подвижную и особенно неподвижную фазы.

Сравнивая элюенты 1 и 3 можно отметить, что наиболее сильное влияние на величину  $R_f$  оказала замена пропанола-2 на бутанол. Видно, что при той же доле более гидрофобного спирта подвижность уменьшилась почти в два раза, особенно у витамина E. Это связано, возможно, с более значительной сорбцией бутанола-1, по сравнению с пропанолом-2, на поверхности силикагеля. Неподвижная фаза становится гидрофобнее, что способствует, в свою очередь, усилению сорбции и удерживания малополярных молекул витаминов.

Замена пропанола-2 на бутанол одновременно сильно ухудшила и эффективность хроматографирования: величина N уменьшилась для витамина A в 5 раз, а витамина E — в 20 раз, при этом резко увеличилась BЭТТ, т.е. хроматографические зоны, особенно витамина E, стали размытыми. Эти данные также подтверждают предположение о возросшей роли взаимодействий витаминов с неподвижной фазой при переходе от пропанола-2 к бутанолу и замедлению массопереноса витаминов. Другим отрицательным явлением при замене пропанола-2 на бутанол стало 2-3-кратное уменьшение  $\Delta R_{\rm f}$ , т.е. нивелирование разницы в подвижности витаминов так, что их разделение стало невозможным. Интересно, что дальнейшее увеличение концентрации бутанола и циклогексана привело к обратному эффекту — небольшому росту подвижности обоих витаминов. Поверхность сорбента, вероятно уж заполнилась молекулами спирта и избыток бутанола стал активным компонентом  $\Pi\Phi$ .

На важную роль влияния на  $R_f$  водородных связей указывает замена спирта в  $\Pi\Phi$  на апротонный этилацетат (элюент 5). Видно, что при относительно неплохом  $\Delta R_f$  и несколько большей подвижности по сравнению с бутанолом значительно ухудшается эффективность. Такая же низкая эффективность разделения характерна и для подвижной фазы гексан-этилацетат (элюенты 9 и 10), однако, в отличие от циклогексана подвижность витаминов в гексановой  $\Pi\Phi$  практически одинакова, а её величина зависит от природы сорбента (элюенты 9 и 10). Так на примере элюентов 12-14 видно, что в  $\Pi\Phi$  на основе гексана, в зависимости от сорбента, подвижность либо равна нулю (элюент 13), либо очень незначительна. Это позволяет предположить, что циклогексан, в отличие от гексана, играет роль не только разбавителя.

Похожее негативное действие оказывает и другой эфир – бутилацетат. Таким образом, оба эфира меняют состояние неподвижной фазы, но почти не влияют на активность  $\Pi\Phi$ . Аналогичное ухудшение хроматографических характеристик наблюдается в системе, в которой сольватирующим компонентом является другой, апротонный растворитель - диэтиловый эфир (элюент 11). В этой системе

удерживание усилилось, а эффективность уменьшилась, разница в подвижности также исчезла. В то же время замена бутилацетата на хлороформ (элюент 8), способный образовывать водородную связь с витаминами, резко увеличила их подвижность. Сам хлороформ (элюент 7), как уже отмечалось выше, обеспечивает очень высокую подвижность и неплохую эффективность хроматографирования, что еще раз подтверждает роль водородной связи в переносе витаминов подвижной фазой, которая, однако, в данном случае не обеспечивает дифференцирующего действия.

Анализ третьего фактора — индекса полярности Снайдера (P') показывает, что на изменение хроматографических характеристик влияет не столько его величина, сколько природа компонентов  $\Pi\Phi$ , обеспечивающая эту величину индекса. Например, число теоретических тарелок для одной и той тоже величины индекса (1.31-1.32) меняется в несколько раз (рис.2), т.е. общей закономерности не наблюдается. В то же время для выбранных элюентов зависимость разрешения от полярности по Снайдеру имеет экстремум, т.е. определенное влияние этот фактор оказывает (рис. 3).

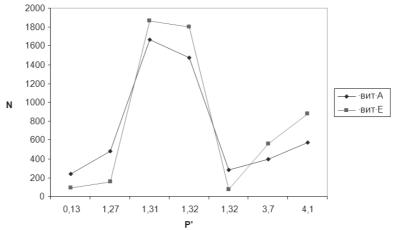


Рис. 2. Зависимость числа теоретических тарелок для витаминов А и Е от полярности элюента по Снайдеру

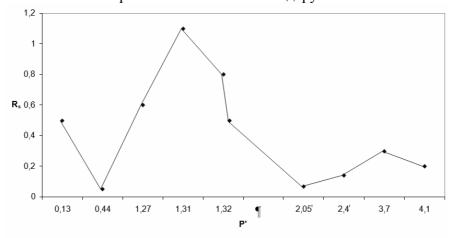


Рис. 3. Зависимость разрешающей способности при разделении витаминов от полярности элюентов (по Снайдеру)

Из данных таблицы следует, что самые высокие значения N, а, соответственно, и самые низкие значения ВЭТТ наблюдаются для элюентов № 1 и 2. Но для элюента № 2 при одинаковом с элюентом № 1 ВЭТТ величина  $\Delta R_f$  в 2 раза

больше, при этом больше и разрешение  $R_s$  = 1.1 (см. рис.3). Из этого следует, что для эффективного разделения витаминов больше подходит элюент № 2.

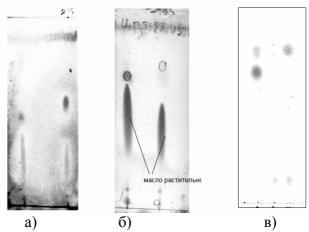


Рис.4. Хроматограммы витаминов A (слева) и E (справа) в системах 1, 2, 4 (а, б, в) и образце растительного масла (а, б). а) Элюент — № 4. Проявитель хлорная кислота; б) Элюент — № 1. Проявитель серная кислота; в) Элюент — № 2. Проявитель хлорная кислота.

На рис. 4 приведены хроматограммы витаминов А и Е для элюентов № 1, 2 и 4, а также хроматограмма их разделения при растворении в растительном масле. На рисунке "б" обведены флуоресцирующие соединения, "хвосты" относятся к пятнам растительного масла в котором растворяли витамины.

#### Заключение

Таким образом сравнение хроматографического поведения витаминов A и E показало, что учет возможных типов взаимодействий витаминов с компонентами подвижной фазы позволяет варьировать подвижность витаминов на пластинках с нормальной фазой марки "Армсорб", а также эффективность хроматографического процесса и разрешение зон. Это позволило выявить условия оптимального разделения витаминов и применить предложенную ПФ для разделения витаминов растворенных в растительном масле.

#### Список литературы

- 1. Березовский В.М. Химия витаминов. 2-е изд. М.: Пищевая пром-сть. 1973. 632 с.
- 2. Luttseva L.I., Maslov L.G., Seredenko V.I. Structure of chemical compounds, methods of analysis and process control. Methods of control and standardization of drugs (a review) // Pharm. Chem. J. 2001. Vol. 35. № 10. P.567-572.
- 3. Lechner M., Reiter B., Lorbeer E. Determination of tocopherols and sterols in vegetable oils by solid-phase extraction and subsequent capillary gas chromatographic analysis // J. Chromatogr. A 1999. Vol. 857. №1-2. P.231-238.
  - 4. ГОСТ Р 50928-96. Премиксы. Методы определения витаминов А, D, E.
- 5. Козлов Э.И., Солунина И.А., Любарева М.Л., Надточий М.А. Определение витаминов A, D, E в поливитаминных препаратах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии // Хим. фарм. журн. 2003. Т.37. № 10. С.50-53.

\_\_\_\_\_

- 6. Аньшаков В.И., Алпеева И.С., Брыкина Г.Д., Лазарева Е.Е.. Определение витамина Е методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с косвенным спектрофотометрическим детектированием // Вестн. Московск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2000. Т. 41. № 4. С. 233-235.
- 7. Mendoza B.R., Pons S.M., Bargalló A.I.C., López-Sabater M.C. Rapid determination by reversed-phase high-performance liquid chromatography of Vitamins A and E in infant formulas // J. Chromatogr. A 2003. Vol. 1018. P.197-202
- 8. Weinmann A.R.M., Oliveira M.S., Jorge S.M., Martins A.R. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of retinol by fluorometry and of tocopherol by ultraviolet absorbance in the serum of newborns // J. Chromatogr.B, 1999. Vol. 729. P.231-236.
- 9. Gimeno E., Castellote A.I., Lamuela-Raventos R.M., de la Torre-Boronat M.C. et al. Rapid high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of retinol, a-tocopherol and b-carotene in human plasma and low-density lipoproteins // J. Chromatogr. B, 2001. Vol. 758. P.315-322.
- 10. Thibeault D., Su H., MacNamara E., Schipper H.M. Isocratic rapid liquid chromatographic method for simultaneous determination of carotenoids, retinol, and tocopherols in human serum // J. Chromatogr. B 2009. Vol. 877. P.1077-1083.
- 11. Fávaro R.M.D., Iha M.H., de Lourdes Pires Bianchi M. Liquid chromatographic determination of geometrical retinol isomers and carotene in enteral feeding formulas // J. Chromatogr. A 2003. Vol. 1021. P.125-132.
- 12. Rühl R. Method to determine 4-oxo-retinoic acids, retinoic acids and retinol in serum and cell extracts by liquid chromatography/diode-array detection atmospheric pressure chemical ionisation tandem mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2006. Vol. 20. P.2497-2504.
- 13. Andreoli R., Manini P., Poli D., Bergamaschi E., Mutti A., Niessen W.M.A. Development of a simplified method for the simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol, and  $\beta$ -carotene in serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization // Anal. Bioanal. Chem. 2004. V.378. P.987–994.
- 14. Citová I., Havlíková L., Urbánek L., Solichová D. et al. Comparison of a novel ultraperformance liquid chromatographic method for determination of retinol and α-tocopherol in human serum with conventional HPLC using monolithic and particulate columns // Anal. Bioanal. Chem. 2007. Vol. 388. P.675–681.
- 15. Mohammad A., Moheman A. TLC/HPTLC in Biomedical Application / In: High performance thin-layer chromatography. Chapter 10. 2011. P. 151-178.
- 16. Mohammad A., Moheman A., El-Desoky G.E. Aminoacid and vitamin determinations by TLC/HPTLC: review of the current state // Cent. Eur. J. Chem. 2012. Vol. 10. №3. P.731-750.
- 17. Hossu A-M., Maria M-F., Radulescu C., Ilie M., Magearu V. TLC Applications on separation and quantification of fat-soluble vitamins // Rom. Biotechnol. Lett. 2009. Vol. 14. № 5. P.4615-4619.
- 18. Бородина Е.В., Китаева Т.А., Сафонова Е.Ф., Селеменев В.Ф. и др. Определение α-токоферола и эргокальцеферола методом тонкослойной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62. № 11. С. 1181-1185.
- 19. Kartsova L.A., Koroleva O.A. Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins by high-performance thin-layer chromatography using an aqueous micellar mobile phase // J. Anal. Chem. 2007. Vol. 62. P.255–259.

- 20. Chavan J.D., Khatri J.M. Simultaneous determination of retinol and  $\alpha$ -tocopherol in human plasma by HPTLC // J. Planar Chromatogr. Modern TLC. 1992. Vol. 5. P. 280-284.
- 21. Pyka A., Babuska M., Dziadek A., Gurak D. Comparison of spectrodensitograms of the selected drugs on different chromatographic sorbents // J. Liquid Chrom. Rel. Technol. 2007. Vol. 30. №9-10. P.1305-1400.
- 22. Hodisan T., Casoni D., Beldean-Galea M.S., Cimpoiu C. Identification and Quantification of Tocopherols in Vegetable Oils by Thin-Layer Chromatography // J. Planar Chromatogr. Modern TLC. 2008. Vol. 21. № 3. P. 213-215.
- 23. Pyka A. Evaluation of the lipophilicity of fat-soluble vitamins // J. Planar Chromatogr. Modern TLC. 2009. Vol. 22. P.211-215.
- 24. Pyka A., Sliwick J. Chromatographic separation of tocopherols // J. Chromatogr. A 2001. Vol. 935. P.71-76.
- 25. Pyka A., Niestroj A. The application of topological indexes for prediction of R<sub>M</sub> values for tocopherols in RP-TLC // J. Liquid Chrom. Rel. Technol. 2001. V.24. №16. P.2399-2413.
- 26. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филиппов А.А. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Изд-во "Водолей". 2004. 528 с.
- 27. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Тонкослойная хроматография Теоретические основы и практическое применение. Учебное пособие. 2-е изд. Издво Саратовск. ун-та. 2006. 112 с.
- 28. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. Ч.2. М.: Мир. 1980. 314 с.
  - 29. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. Изд. Мир.1965. С. 222.
- 30. Федосеева Л.М., Малолеткина Т.С. Изучение и сравнительная оценка липофильных веществ зеленых, красных и черных листьев бадана толстолистного, произрастающего на Алтае // Химия растит. сырья. 1999. №2. С. 113-117.

**Романов Олег Ермолаевич** – к.х.н., доцент кафедры химии Калмыцкого государственного университета, Элиста

**Будинов Санжи Валерьевич** — студент 3 курса направления химия Калмыцкого государственного университета, Элиста

Штыков Сергей Николаевич — д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета, Саратов

**Romanov Oleg E.** - PhD, Associate Professor, Division of Chemistry, Kalmyk State University Elista, e-mail: <a href="mailto:romanov\_oe@kalmsu.ru">romanov\_oe@kalmsu.ru</a>

**Budinov Sanzhi V**. – 3rd year student of chemistry Destinations, Kalmyk State University, e-mail: <a href="mailto:sanzhik91@mail.ru">sanzhik91@mail.ru</a>

**Shtykov Sergei N.** – Doctor Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, e-mail: <a href="mailto:shtykovsn@mail.ru">shtykovsn@mail.ru</a>