На правах рукописи

Савушкин Роман Валерьевич

ЭКСТРАКЦИЯ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТ

02.00.02. – аналитическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Воронеж – 2006

Работа выполнена в Воронежском государственном университете

Научный руководитель	доктор химических наук, профессор Селеменев Владимир Федорович
Официальные оппоненты:	доктор химических наук, профессор Рудаков Олег Борисович; кандидат химических наук, Перегончая Ольга Владимировна
Ведущая организация:	Липецкий государственный технический университет

Защита состоится 10 ноября 2006 года в 14 час. 00 мин на заседании диссертационного совета Д.212.038.19 при Воронежском государственном университете по адресу: 394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1, ауд. 290.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Воронежского государственного университета.

Автореферат разослан «9» октября 2006 года

Ученый секретарь
диссертационного совета Крысин М.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время лекарственные препараты и пищевые добавки, в состав которых входят аскорбиновая, никотиновая кислота и аминокислоты (АК) занимают ведущее место в медицинской практике, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Содержание витаминов и АК в продуктах питания и фармацевтических препаратах строго регламентируется, так как для живого организма вреден как их недостаток, так и избыток.

Известные способы выделения витаминов и АК в большинстве случаев предусматривают получение одного индивидуального компонента. Однако, наиболее перспективным может быть получение из одного субстрата двух и более компонентов. Одним из приемлемых методов в этом плане является экстракция целевых веществ из водных растворов в присутствии солей. При этом нужно учитывать, что изучаемые системы многокомпонентны и эффективность их разделения зависит от многих факторов (pH, ионной силы растворов, природы экстрагентов и др). Поэтому, необходимым является проведение рейтинга растворителей для экстракции аскорбиновой и никотиновой кислот, что до настоящего времени не было сделано.

Актуальность второго аспекта исследований вызвана тем, что аналитический контроль качества и количественного содержания витаминов и АК в пищевых добавках, лекарственных препаратах и сельскохозяйственной продукции сталкивается с возрастающими фактами их фальсификации. В связи с этим необходимы поиск и разработка новых экспрессных методик селективного раздельного определения АК и витаминов.

Следует заметить, что поиски новых методов определения целевых веществ и способов их эффективного извлечения и концентрирования должны основываться на установлении физико-химических процессов и механизмов взаимодействия изучаемых компонентов в системах «раствор-экстрагент», чему до настоящего времени не было уделено должного внимания.

Исходя из вышесказанного, **целью настоящей работы** явилось: проведение рейтинга индивидуальных и смешанных растворителей для разработки эффективного экстракционного извлечения аскорбиновой и никотиновой кислот из растворов, содержащих АК; выявление закономерностей экстракции водорастворимых витаминов и АК.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- расчет экстракционных характеристик аскорбиновой и никотиновой кислот в системах водно–солевой раствор – органический растворитель;
- выявление взаимосвязи между физико-химическими свойствами экстрагентов и коэффициентами распределения витаминов;
- проведение рейтинга растворителей и выбор новых систем для экстракционного разделения витаминов и АК, содержащихся в многокомпонентных системах;
- разработка спектрофотометрического способа раздельного определения и экстракционного разделения индивидуальных витаминов в многокомпонентных смесях, содержащих и АК.

Научная новизна.

- Проведен рейтинг растворителей и установлены экстракционные характеристики аскорбиновой и никотиновой кислот в системах водно-солевой раствор - спирты (сложные эфиры). Применены экстракционные системы, обеспечивающие практически полное (94%-ное) извлечение водорастворимых витаминов.
- Для повышения эффективности экстракционных систем применена экстракция бинарными смесями растворителей. Установлен синергетический эффект при межфазном распределении витаминов в изученных системах.
- Установлены корреляционные зависимости между физико-химическими свойствами экстрагентов и коэффициентами распределения аскорбиновой и никотиновой кислот. Осуществлено прогнозирование количественных характеристик витаминов в системах с различными экстрагентами.
- На основе компьютерного моделирования и данных ИК-спектроскопии предложены возможные схемы взаимодействия «аминокислота-витамин» в водных и органических средах.

Практическая значимость.

При экстракции бинарными смесями растворителей наблюдается синергетический эффект, что свидетельствует об эффективности выбранных систем. Для количественного определения аскорбиновой и никотиновой кислот при совместном присутствии в растворе с АК применен метод Фирордта. Получены уравнения для расчета концентраций индивидуальных веществ в бинарных и тройных смесях.

Предложенный спектрофотометрический способ раздельного определения витаминов и АК отработан на модельных смесях. Погрешность определения аскорбиновой и никотиновой кислот в смесях не превышает 8% и 7% соответственно. Методика применена для расчета концентраций отдельных компонентов экстракционных систем. Разработан метод разделения тирозина и аскорбиновой кислоты, а также триптофана и никотиновой кислоты из водно-солевых растворов н-бутанолом и этилацетатом соответственно.

Использование в работе веществ фармакопейной чистоты делает возможным применение разработанной спектрофотометрической методики для анализа большинства продуктов и фармацевтических препаратов, в состав которых входят водорастворимые витамины. Практические разработки апробированы в производственных условиях.

Положения, выносимые на защиту:

1. Рейтинг растворителей для экстракции аскорбиновой (витамин С) и никотиновой кислот (витамин РР) из водно-солевых сред; закономерности экстракции индивидуальных витаминов и АК.
2. Влияние физико-химических характеристик органических растворителей и их бинарных смесей на экстракционные характеристики витаминов; проявление синергетического эффекта при экстракции витамина С и витамина РР бинарными экстрагентами.
3. Новые высокоэффективные системы для экстракционного разделения аскорбиновой, никотиновой кислоты и АК из их смесей, подтвержденные методами ИК-спектроскопии (ИКС) и компьютерного моделирования.

4. Способ спектрофотометрического определения индивидуальных витаминов и АК при совместном присутствии.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на XIII Российской конференции по экстракции (Москва, 2004); Всероссийской конференции по аналитической химии «Аналитика России» (Москва, 2004); VII конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2004); III Международном симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2005); III Международной конференции «Экстракция органических соединений ЭОС-2005» (Воронеж, 2005).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, 3 статьи, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, 7 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы, включающего 156 источников, и приложения. Работа изложена на 150 страницах машинописного текста, содержит 52 рисунка и 41 таблицу.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы рассмотрены современные методы выделения и определения водорастворимых витаминов, их классификация, распространение в продуктах питания. Особое внимание уделено применению различных способов определения водорастворимых витаминов. Последняя часть литературного обзора посвящена обсуждению экстракционного извлечения витаминов и АК из различных сред.

ГЛАВА II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: - водорастворимые витамины (аскорбиновая и никотиновая кислоты). Экстракция витаминов проводилась алифатическими спиртами и алкилацетатами в присутствии высаливателей (насыщенные растворы галогенидов и сульфатов натрия и калия).

Состав и количественное определение витаминов в экстракционных системах осуществляли методом УФ- и ИК-спектроскопии. Гидратационные характеристики витаминов и АК были рассчитаны с помощью компьютерного моделирования методом молекулярной механики.

Приведены методики СФ-определения витаминов и ароматических АК при совместном присутствии в растворе. Результаты расчета экстракционных характеристик и концентраций компонентов обработаны статистическими методами.

ГЛАВА III. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЭКСТРАКЦИИ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ ИЗ ВОДНО-СОЛЕВЫХ СРЕД

Экстракционное извлечение аскорбиновой и никотиновой кислот. Известные данные об экстракционных характеристиках витаминов не позволяют говорить об эффективности экстракционных систем для выделения аскорбиновой и никотиновой кислоты из водных растворов. Поэтому в работе изучены процессы межфазного распределения водорастворимых витаминов.

С помощью обобщенного критерия, включающего 9 наиболее значимых частных критериев (стоимость, предельно допустимую концентрацию, температуры вспышки, самовоспламенения и кипения, давление пара над растворителем, предел прозрачности в УФ-свете, растворимость воды и аналитов в растворителе) проведен рейтинг 30 индивидуальных и 10 смешанных растворителей в качестве экстрагентов аскорбиновой (С) и никотиновой кислот (РР) из водно-солевых сред (табл. 1).

При выборе растворителей, пригодных к применению в качестве экстрагентов водорастворимых витаминов (С и РР), требуется выполнить целый набор граничных условий. Растворитель должен иметь сравнительно невысокую стоимость, так как при жидкостно-жидкостной экстракции расход экстрагента достаточно велик, должен быть прозрачен в диапазоне, близком к аналитическим длинам волн изучаемых витаминов (в нашем случае 262 и 265 нм) и т. д.

Таблица 1.

Частные критерии рейтинга растворителей для экстракции аскорбиновой и никотиновой кислот из водно-солевых сред

Частные критерии	Стоимость, у.е./кг	ПДК, мг/м^3	$T_{всп}$, °С	$T_{свп}$, °С	$P_{пар}$, мм рт. ст.	$T_{кип}$, °С	Предел в УФ, нм	Растворимость	
								воды, г/л	анализа
Граничные условия	<50	>5	>-20	>200	<100	>70	<250	<50	МР
Норма, x_i^w	30	200	25	440	10	100	220	30	ХР
Вектор оптимизации	min	max	max	max	min	max	min	min	max
Коэффициент веса, a_i	0,15	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,50	0,25	0,03

Менее доступна информация о физико-химических свойствах смешанных сольвентов. Известно, что в целом они изменяются не аддитивно в зависимости от состава. Поэтому в расчетах параметров двух- и многокомпонентных экстрагентов приняли допущение, что в первом приближении они изменяются аддитивно от объемной доли компонентов. Например, давление пара рассчитывали по закону Дальтона, согласно которому общее давление смеси идеальных газов равно сумме парциальных давлений компонентов. Расчет обобщенного критерия выполняли по формуле:

$$R_E = \sum_{i=1}^{m} a_i (x_i^s / x_i^w), \qquad (1)$$

где R_E– значение критерия для s-го сольвента, a_i - коэффициент веса для i-го показателя, x_i^s – величина i-го показателя для s-го варианта сольвента, x_i^w – нормирующее значение для i-го показателя (свойства гипотетического растворителя, имеющего оптимальное значение i-го показателя), m – количество показателей. В качестве нормирующего значения для i-го параметра x_i^w в уравнении (1) на основе экспертного заключения взяли оптимальные значения, характерные для некоторых растворителей из анализируемой выборки. Все расчеты проводили с помощью разработанной в табличном процессоре MS Excel XP рабочей книге. В табл. 2 даны итоги расчетов обобщенного критерия для растворителей с максимально высокими значениями R_E. Выборка приведена с учетом граничных условий (табл.1).

Таблица 2.

Лучшая выборка из рейтинга растворителей для экстракции аскорбиновой и никотиновой кислот из водно-солевых сред.

Экстрагент	Стоимость, у.е./кг	ПДК, мг/м^3	$T_{всп}$, ^{0}C	$T_{сап}$, ^{0}C	$P_{пар}$, мм.рт. ст.	$T_{кип}$, ^{0}C	Предел в УФ, нм	Растворимость воды г/л	2+R_E
1-Бутанол	23,0	10	29,0	363,0	4,1	118	215	7,8	1,414
1-Пентанол	30,0	10	49,0	300,0	2,5	138	210	2,2	1,412
1-Гексанол	25,0	10	0,0	443,5	32,8	157	220	0,6	1,396
1-Бутанол-этилацетат (0,9:0,1)	23,8	29	28,6	363,7	5,5	114	219	7,1	1,405
1-Бутанол-этилацетат (0,7:0,3)	25,4	67	27,8	365,1	8,3	106	227	5,8	1,379
Этилацетат	32,0	200	25,0	370,0	18,0	126	256	1,0	1,333
Бутилацетат	40,0	200	25,0	370,0	18,0	149	256	2,4	1,269
Пентилацетат	31,0	200	4,0	426,0	74,0	77	256	80,3	0,621

Для наглядности сопоставления в табл. 2 итоговый рейтинг приведен в виде значений (2+R_E). Наилучший рейтинг среди индивидуальных растворителей имеют 1-бутанол и 1-пентанол. Многопараметрическая оптимизационная процедура на количественно формализованном уровне показала, что для рутинных аналитических задач предпочтение следует отдавать смешанным сольвентам. Высокий результат показал 1-бутанол с добавкой этилацетата. Небольшие добавки (0,1-0,3 мольной доли) сложных эфиров к спиртам существенно улучшают практически все свойства экстрагентов, кроме прозрачности в области аналитических длин волн.

Максимальной экстрагирующей активностью среди изученных эфиров характеризуются этилацетат и бутилацетат (табл. 3). Коэффициенты распределения аскорбиновой кислоты в системах водно-солевой раствор – алкилацетаты закономерно уменьшаются в ряду этилацетат>бутилацетат> амилацетат.

Таблица 3.

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) аскорбиновой кислоты (над чертой) и никотиновой кислоты (под чертой) в системах алкилацетаты C_2–C_5 – водно-солевые растворы

Высаливатель	Этилацетат		Бутилацетат		Пентилацетат	
	D	R, %	D	R, %	D	R, %
NaCl	7,37 12,04	38,2 45,0	4,60 5,11	20,4 25,0	2,89 3,63	19,1 15,0
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	5,50 7,97	27,5 29,5	4,01 3,46	18,5 18,0	2,69 2,51	19,3 12,5
NaF	4,30 3,98	23,3 25,0	3,02 2,28	15,1 15,0	1,90 1,81	12,0 12,5
KCl	3,61 2,69	21,2 15,0	2,51 1,78	13,0 14,6	1,45 1,52	11,4 12,6

Сольватация, а соответственно и экстракция, аскорбиновой кислоты алкилацетатами связана с образованием изолированных водородных связей между атомом водорода ОН-группы, входящим в состав ее молекулы, и атомом кислорода сложного эфира.

Таблица 4.

Коэффициенты распределения и степень извлечения аскорбиновой кислоты (над чертой) и никотиновой кислоты (под чертой) в системах спирты C_4-C_7 – водно-солевые растворы

Высаливатели	C_4		C_5		C_6		C_7
	D	R, %	D	R, %	D	R, %	D
NaCl	14,75 5,98	58,2 32,0	7,58 2,95	35,5 22,5	5,20 1,81	25,4 21,0	3,47 1,41
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	7,94 2,51	38,1 28,0	3,98 2,08	29,4 23,0	2,29 1,45	22,2 12,5	1,32 1,18
NaF	7,38 2,13	32,0 16,0	3,59 1,77	23,0 14,0	2,17 1,25	18,0 10,0	1,38 1,09
KCl	5,32 1,81	33,5 12,5	3,70 1,54	21,2 10,0	2,81 1,15	15,1 9,4	2,14 1,05

Экстракция аскорбиновой кислоты алифатическими спиртами происходит за счет взаимодействия электронных пар кислорода ОН-группы в ее молекуле и водорода ОН-групп спиртов. В гомологическом ряду спиртов с увеличением молекулярной массы углеводородный радикал увеличивается, соответственно водородная связь ослабевает, вследствие чего снижаются экстракционные ха-

рактеристики. Коэффициенты распределения (D) аскорбиновой кислоты уменьшаются при переходе от бутилового к гептиловому спиртам (табл. 4). В наиболее оптимальных системах степень извлечения (R) достигает 58%. Экстракционные характеристики аскорбиновой кислоты в данных системах связаны с уменьшением ионных радиусов и природой высаливателя. Наиболее эффективны для извлечения аскорбиновой кислоты системы бутиловый спирт – хлорид или сульфат натрия (на основании корреляционных зависимостей lg D – число атомов углерода в молекулах спиртов величина D для системы гептиловый спирт – аскорбиновая кислота спрогнозирована). Таким образом, установлено, что коэффициенты распределения аскорбиновой кислоты в системах на основе спиртов выше, чем в системах с алкилацетатами.

В работе был применен метод ИК-спектроскопии для структурного анализа растворов витаминов до и после экстракции. Экстракция аскорбиновой кислоты проводилась при pH 5-6. Анализ ИК-спектра при данном pH показывает, что аскорбиновая кислота в воде диссоциирована, об этом свидетельствует максимум 1540 $см^{-1}$ (диссоциированная группа OH при C-2 положении) – валентные асимметричные колебания и 1370 $см^{-1}$– симметричные колебания группы RO^- лактонного кольца. Кроме того, при pH=5-6 проявляется четкий пик при 1750 $см^{-1}$, характерной для C=O в лактонном кольце (рис. 1а). При переходе аскорбиновой кислоты в бутиловый спирт происходит смещение пика 1750 в область 1735 $см^{-1}$, при этом возможно образование ассоциата (рис.1б):

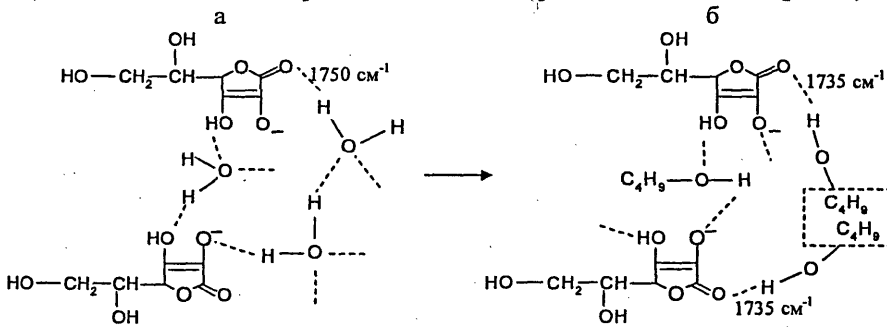

Рис.1 Схема возможного взаимодействия аскорбиновой кислоты с водой (а) и бутиловым спиртом (б)

Результаты экстракции никотиновой кислоты сложными эфирами и спиртами нормального строения приведены в табл. 3, 4. При экстракции никотиновой кислоты максимальные количественные характеристики получены для систем на основе алкилацетатов (pH среды~6,0). Известно, что спирты относятся к ассоциированным растворителям и можно предположить, что их экстрагирующая активность по отношению к никотиновой кислоте, имеющей в своем строении пиридиновое кольцо, снижена. Экстрагирующая активность алкилацетатов объясняется отсутствием самоассоциации, экранированием кислорода и наличием двойной связи.

Коэффициент распределения в системе с этилацетатом наибольший, что подтверждает эффективность экстрагента.

Из ИК спектра никотиновой кислоты в воде следует, что при pH~6 она присутствует в основном в виде цвиттериона, о чем свидетельствует максимум поглощения 1580 $см^{-1}$, характерный для карбоксильной группировки, и 1650 $см^{-1}$, характерный для NH^+ группы в цвиттерионах (асимметричные валентные колебания ν_{as}). Наряду с этим в спектре проявляются полосы 1440 $см^{-1}$, 1380 $см^{-1}$ свидетельствующие о симметричных валентных колебания ν_s этих же групп. Однако незначительная часть витамина при pH~6 содержится в водном растворе в виде катиона, т. к. в спектре присутствует пик 1760 $см^{-1}$, характерный для колебаний C=O в недиссоциированных карбоксильных группах. Кроме того, в ИК спектрах проявляются полосы, характерные для H-связей между H_2O и цвиттерионом никотиновой кислоты (3650, 3530, 3460, 3360 $см^{-1}$). При переходе цвиттериона никотиновой кислоты из воды в этилацетат возможно образование ассоциатов по схеме (рис. 2).

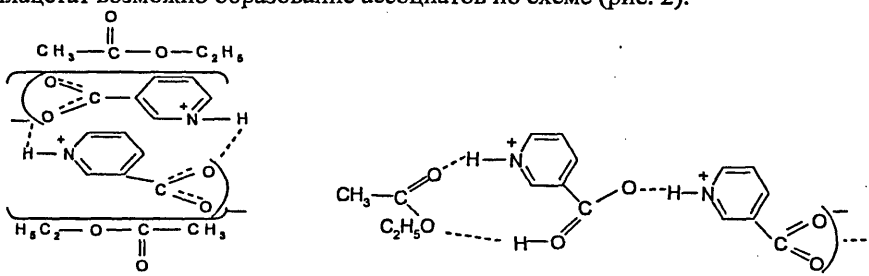

Рис. 2 Схема образования ассоциатов никотиновой кислоты с этилацетатом

В ИК спектрах при этом наблюдается сдвиг полос, характерных H-связям между COO^- и $\geqslant NH$ по сравнению с водной фазой (пики 3210 и 2600 $см^{-1}$). Часть COO^- групп при этом протонируется (пик 1740 $см^{-1}$).

Следует отметить, что эксперименты по экстракции аскорбиновой и никотиновой кислот из водно-солевых растворов в целом подтвердили прогноз хороших экстракционных свойств растворителей, имеющих максимальный рейтинг по предложенному нами обобщенному критерию (табл. 5).

Таблица 5.

Коэффициенты распределения аскорбиновой (lgD_C) и никотиновой (lgD_{PP}) кислот в системе вода – высаливатель (NaCl) – органический растворитель.

Экстрагенты	lgD_C	lgD_{PP}
1-Бутанол	1,16	0,60
1-Пентанол	0,94	0,45
1-Гексанол	0,72	0,30
Этилацетат	0,80	1,08
Бутилацетат	0,58	0,72
Пентилацетат	0,46	0,54

При однократной экстракции спиртами и алкилацетатами витамины не извлекаются полностью (табл. 3 и 4). Максимальная степень извлечения (93-95%) достигается при последовательной трехкратной экстракции (табл. 6-7). Исходная концентрация аскорбиновой кислоты составила 0,01 г/дм^3, никотиновой кислоты 0,02 г/дм^3.

Таблица 6.

Результаты трехкратной экстракции аскорбиновой кислоты спиртами

Высаливатель	Число экстракций	Бутиловый спирт		Пентиловый спирт		Гексиловый спирт	
		R,%	m, мг	R,%	m, мг	R,%	m, мг
NaCl	1	58,1	0,58	40,3	0,41	26,2	0,26
	2	40,9	0,21	42,7	0,25	31,1	0,23
	3	37,1	0,12	51,4	0,23	56,8	0,22
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	1	38,4	0,38	27,3	0,27	18,8	0,19
	2	40,4	0,25	35,6	0,26	25,9	0,21
	3	41,2	0,15	40,4	0,19	40,2	0,24

Таблица 7.

Результаты трехкратной экстракции никотиновой кислоты алкилацетатами

Высаливатель	Число экстракций	Этилацетат		Бутилацетат		Пентилацетат	
		R, %	m, мг	R, %	m, мг	R, %	m, мг
NaCl	1	45,0	0,90	25,0	0,50	15,0	0,30
	2	32,0	0,35	40,0	0,60	22,5	0,50
	3	27,0	0,25	44,0	0,40	33,0	0,40
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	1	27,5	0,50	15,0	0,30	12,5	0,25
	2	53,5	0,80	41,5	0,70	25,7	0,45
	3	57,0	0,40	50,0	0,50	46,5	0,60

Описаны зависимости коэффициентов распределения витаминов от диэлектрической проницаемости (ε), показателя преломления (n), параметра Димрота-Райхардта E_T, и от донорного числа DN (рис. 3-4). Параметр E_T количественно характеризует полярность растворителей, основанный на зависимости от растворителя энергии электронного перехода. Донорное число является эмпирической полуколичественной мерой нуклеофильных свойств растворителей. Предлагаемый обобщенный критерий, в приведенном выше рейтинге растворителей, достаточно описывает эффективность экстрагентов для выделения витаминов. Однако в предлагаемом рейтинге не обсуждаются такие частные критерии как (функция Кирквуда Y, параметр поляризуемости P, донорное число DN, акцепторное число AN, параметр Димрота-Райхардта)

используемые также в многометрическом корреляционном анализе, который позволяет прогнозировать коэффициенты распределения витаминов в экстракционных системах.

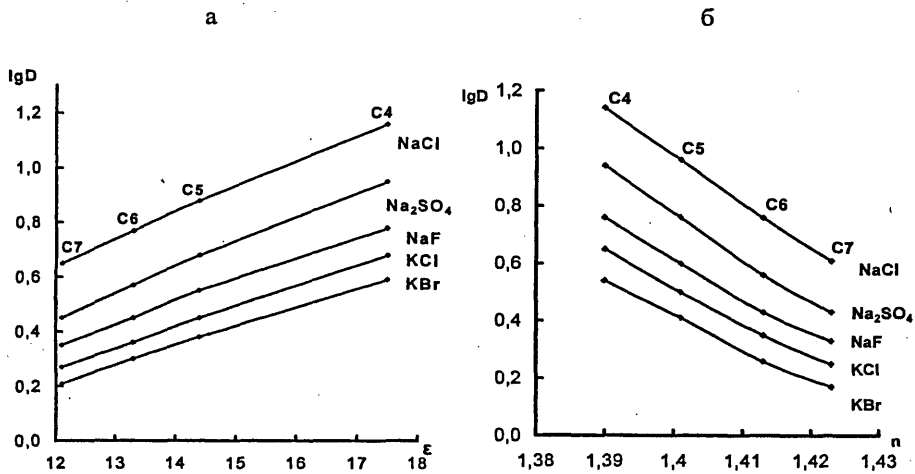

Рис. 3 Зависимость lgD аскорбиновой кислоты от диэлектрической проницаемости (а) и показателя преломления (б) спиртов

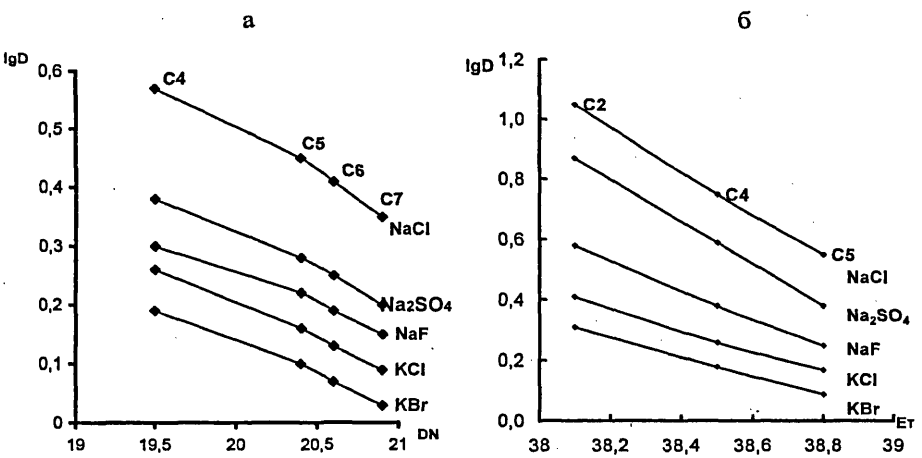

Рис. 4 Зависимость lgD никотиновой кислоты от донорного числа спиртов (а) и параметра Димрота-Райхардта алкилацетатов (б).

Экстракция аскорбиновой и никотиновой кислот двухкомпонентными смесями растворителей. Коэффициенты распределения витаминов при экстракции смесью двух растворителей описываются синергентными кривыми. В качестве примера приведены синергетические кривые при экстракции аскорбиновой кислоты смесью бутанол – этилацетат (рис. 5а), смесью бутанол – бутилацетат (рис. 5б).

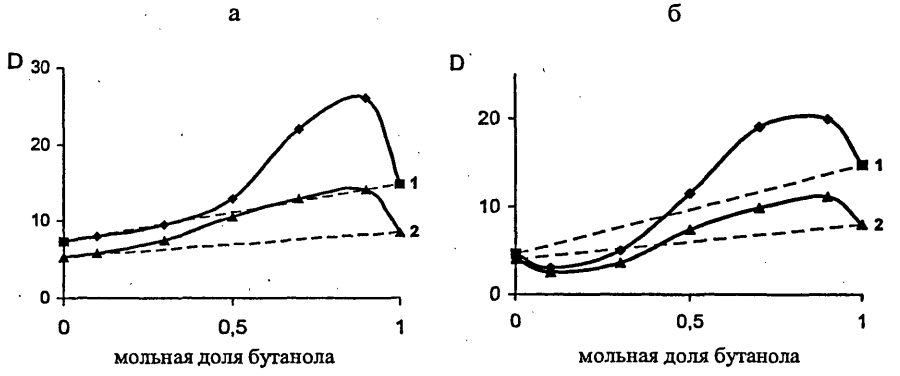

Рис. 5 Синергетический эффект при экстракции аскорбиновой кислоты бинарными смесями растворителей на основе бутанола. Второй компонент смеси: этилацетат (а), бутилацетат (б) в присутствии NaCl (1) и $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ (2). Пунктир – линия аддитивности.

При экстракции аскорбиновой кислоты смесью бутанол – бутилацетат зависимость коэффициентов распределения от содержания более активного компонента описывается S-образными кривыми (рис. 6), это связано с гидрофильными свойствами спирта. В интервале 0,1-0,4 наблюдается антагонистический эффект, обусловленный десольватацией экстрагируемого вещества в органической фазе. Десольватация уменьшает растворимость экстрагируемого вещества (в нашем случае аскорбиновой кислоты) в органической фазе, что приводит к уменьшению способности вещества экстрагироваться. С увеличением содержания бутанола (0,5-0,9 мол. доли) за счет образования гидратосольватов, кривая характеризует синергетический эффект. Установлено, что в равновесных системах вода-гидрофильный растворитель экстракты на основе бутанола содержат наибольшее количество воды. При увеличении мольной доли бутанола количество воды в экстракте увеличивается, что способствует возрастанию коэффициентов распределения аскорбиновой кислоты по сравнению с аддитивной величиной.

Продифференцировав значения D от мольной доли экстрагента, получили дифференциальную кривую. По дифференциальному максимуму выбирается интервал соотношений мольных долей экстрагентов, где экстракционные характеристики витаминов будут наиболее эффективны, что оптимизирует метод подбора смешанных растворителей. На рис. 6 в качестве примера представлена дифференциальная кривая при экстракции аскорбиновой кислоты смесью бути-

ловый спирт – этилацетат в присутствии NaCl. Оптимальное соотношение экстрагентов составляет: 0,7 мол. доли бутанола и 0,3 мол. доли этилацетата.

При экстракции бинарными смесями растворителей коэффициенты распределения анализируемых витаминов увеличиваются вдвое.

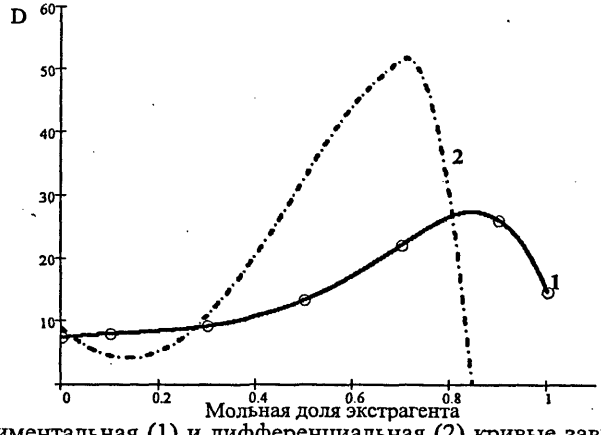

Рис. 6 Экспериментальная (1) и дифференциальная (2) кривые зависимости D от мольной доли экстрагента при экстракции аскорбиновой кислоты смесью бутиловый спирт–этилацетат в присутствии NaCl.

Предложенный ранее рейтинг смешанных растворителей для экстракции витаминов также подтвердил экспериментальные данные по экстракции смесью двух растворителей (табл. 8).

Таблица 8.

Коэффициенты распределения аскорбиновой (lgD_C) и никотиновой (lgD_{PP}) кислот в системе вода – высаливатель (NaCl) – смесь растворителей.

Экстрагенты	lgD_C	lgD_{PP}
1-Бутанол-этилацетат (0,9:0,1)	0,90	0,77
1-Бутанол-этилацетат (0,7:0,3)	0,96	0,90
1-Бутанол-этилацетат (0,5:0,5)	1,13	0,97
1-Бутанол-этилацетат (0,3:0,7)	1,34	1,17
1-Бутанол-этилацетат (0,1:0,9)	1,42	1,19

ГЛАВА IV. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ЭКСТРАКЦИОННОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ В СМЕСЯХ С АРОМАТИЧЕСКИМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

Установлено, что спектры поглощения индивидуальных АК, никотиновой и аскорбиновой кислот перекрываются, что делает невозможным их раздельное определение по поглощению в УФ-области с применением

градуировочного графика. При соблюдении основного закона светопоглощения для индивидуальных компонентов и принципа аддитивности для их смеси определение индивидуальных веществ проводили с применением метода Фирордта. Метод Фирордта применим, если при двух длинах волн наблюдается значительное различие в интенсивности поглощения обоих компонентов.

Концентрацию индивидуальных компонентов смеси рассчитывали по формулам:

$$C_1 = \alpha_1 \cdot A_1 - \beta_1 \cdot A_2; \quad C_2 = \alpha_2 \cdot A_2 - \beta_2 \cdot A_1$$

Предварительно вычисляли коэффициенты α и β:

$$\alpha_1 = \frac{\varepsilon_2^{\lambda_2}}{\Delta}; \alpha_2 = \frac{\varepsilon_1^{\lambda_1}}{\Delta}; \beta_1 = \frac{\varepsilon_2^{\lambda_1}}{\Delta}; \beta_2 = \frac{\varepsilon_1^{\lambda_2}}{\Delta};$$

$$\Delta = \varepsilon_1^{\lambda_1} \cdot \varepsilon_2^{\lambda_2} - \varepsilon_2^{\lambda_1} \cdot \varepsilon_1^{\lambda_2}$$

где $\varepsilon_1^{\lambda_1}$ и $\varepsilon_2^{\lambda_1}$ – молярные коэффициенты поглощения одного и второго компонентов при длине волны λ_1; $\varepsilon_1^{\lambda_2}$ и $\varepsilon_2^{\lambda_2}$ – молярные коэффициенты поглощения одного и второго компонентов при длине волны λ_2; A_1 и A_2 – оптические плотности смесей соответственно при длинах волн λ_1 и λ_2.

В соответствии с найденными коэффициентами рассчитали молярные концентрации аскорбиновой кислоты и АК в анализируемых смесях по формулам:

система аскорбиновая кислота (1) — триптофан (2)

$C_1 = 1{,}586 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 1{,}138 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 3{,}714 \cdot 10^{-4} \cdot A_2 - 2{,}456 \cdot 10^{-4} \cdot A_1$;

система аскорбиновая кислота (1) — тирозин (2)

$C_1 = 1{,}113 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 0{,}614 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 10{,}076 \cdot 10^{-4} \cdot A_2 - 4{,}590 \cdot 10^{-4} \cdot A_1$;

система аскорбиновая кислота (1) — фенилаланин (2)

$C_1 = 1{,}296 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 0{,}578 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 9{,}205 \cdot 10^{-3} \cdot A_2 - 7{,}355 \cdot 10^{-3} \cdot A_1$.

Приводим результаты анализа модельных смесей, содержащих аскорбиновую кислоту и одну из АК (табл. 9).

Погрешность определения (S) АК в смеси с аскорбиновой кислотой методом Фирордта не превышает 7%, аскорбиновой кислоты — 8%. Минимальная определяемая концентрация аскорбиновой кислоты составляет $5{,}67 \cdot 10^{-5}$ моль/дм^3.

Метод Фирордта также был применен для анализа никотиновой кислоты в смеси с АК. Системы уравнений для расчета концентраций, содержащих никотиновую кислоту и одну из аминокислот:

система никотиновая кислота (1) — триптофан (2)

$C_1 = 2{,}4736 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 1{,}8914 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 2{,}0835 \cdot 10^{-4} \cdot A_2 - 0{,}3701 \cdot 10^{-4} \cdot A_1$;

система никотиновая кислота (1) — тирозин (2)

$C_1 = 2{,}5581 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 1{,}2790 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 9{,}1738 \cdot 10^{-4} \cdot A_2 - 3{,}0177 \cdot 10^{-4} \cdot A_1$;

система никотиновая кислота (1) — фенилаланин (2)

$C_1 = 8{,}2077 \cdot 10^{-4} \cdot A_1 - 6{,}4977 \cdot 10^{-4} \cdot A_2$,

$C_2 = 193{,}71 \cdot 10^{-4} \cdot A_2 - 180{,}96 \cdot 10^{-4} \cdot A_1$.

Таблица 9

Спектрофотометрический анализ бинарных смесей аскорбиновая кислота (1) – аминокислота (2)

Аминокислота	Состав смеси, $c_i \cdot 10^{-5}$, моль /дм^3		A_1	A_2	Результат определения, $c_i \cdot 10^{-5}$, моль / дм^3		S, %	
	c_1	c_2			c_1	c_2	S_1	S_2
Триптофан	5,677	6,121	0,91	0,71	5,743	5,758	1,2	6,1
	2,839	3,061	0,44	0,38	2,653	2,906	6,5	6,0
Тирозин	5,677	11,037	0,72	0,44	5,312	11,286	6,4	2,2
	2,839	5,519	0,37	0,23	2,706	5,192	4,7	5,7
Фенилаланин	5,667	12,106	0,73	0,37	6,050	11,707	6,6	3,3
	2,839	6,053	0,61	0,31	3,061	5,626	7,8	7,1

Погрешность определения АК в смеси с никотиновой кислотой методом Фирордта составила 6 %, никотиновой кислоты –7,5 %. Минимальная определяемая концентрация никотиновой кислоты составляет $1{,}62 \cdot 10^{-4}$ моль/дм^3. Предложенная методика применима для раздельного определения аскорбиновой, никотиновой кислот и АК в лекарственных препаратах и пищевых продуктах в лабораторных и производственных условиях, на что получены акты апробации.

Метод Фирордта может быть применен для анализа трехкомпонентных систем. Результаты спектрофотометрического определения для трехкомпонентных смесей, состоящих из АК и никотиновой кислоты, приведены в табл. 10.

При одновременном определении трех компонентов и соответственно более сильном перекрывании их спектров погрешности полученных значений возрастают. На примере модельных смесей, содержащих $0{,}812 \cdot 10^{-4}$ моль/дм^3 никотиновой кислоты и $1{,}381 \cdot 10^{-4}$; $0{,}306 \cdot 10^{-4}$; $6{,}053 \cdot 10^{-4}$ моль/дм^3 тирозина; триптофана; фенилаланина соответственно, погрешность определения при двукратном разбавлении для никотиновой кислоты максимально составила 13,9%, для аминокислот в пределах 4,4-14,8%.

Таблица 10

Спектрофотометрический анализ тройных смесей никотиновая кислота – аминокислоты

Состав смеси, $c_i \cdot 10^{-4}$, моль/дм^3			A_1	A_2	A_3	Результат определения, $c_i \cdot 10^{-4}$, моль/дм^3			S, %		
никотиновая кислота – фенилаланин – тирозин											
c_{nic}	c_{phe}	c_{tyr}	A^{262}	A^{257}	A^{275}	c_{nic}	c_{phe}	c_{tyr}	S_{nic}	S_{phe}	S_{tyr}
0,812	6,053	1,381	0,44	0,42	0,30	0,763	5,623	1,234	6,1	8, 4	7,2
0,406	3,026	0,689	0,28	0,27	0,20	0,362	2,643	0,591	13,0	14,1	15,1
никотиновая кислота – тирозин – триптофан											
c_{nic}	c_{tyr}	c_{trp}	A^{262}	A^{275}	A^{279}	c_{nic}	c_{tyr}	c_{trp}	S_{nic}	S_{tyr}	S_{trp}
0,812	1,381	0,306	0,42	0,40	0,37	0,743	1,312	0,296	9,0	5,2	4,4
0,406	0,689	0,153	0,22	0,20	0,19	0,361	0,494	0,143	12,1	13,0	10,5
никотиновая кислота – фенилаланин – триптофан											
c_{nic}	c_{phe}	c_{trp}	A^{262}	A^{257}	A^{279}	c_{nic}	c_{phe}	c_{trp}	S_{nic}	S_{phe}	S_{trp}
0,812	6,053	0,306	0,55	0,44	0,28	0,722	5,502	0,264	10,6	9,7	10,0
0,406	3,026	0,153	0,27	0,22	0,13	0,354	2,631	0,113	13,9	14,2	14,8

Экстракционное разделение и селективное спектрофотометрическое определение витаминов и АК.

Разработанные методики селективного определения компонентов в смеси, аскорбиновой и никотиновой кислот с АК дают возможность контроля экстракционного разделения данных веществ. Для этого изучена экстракция анализируемых витаминов, которая в данной работе проведена с системами витамин – водно-солевой раствор аминокислот – экстрагент.

Результаты исследования экстракции аскорбиновой кислоты и АК бутиловым спиртом из водных растворов, насыщенных нейтральными солями приведены в таблицах 11, 12.

При экстракционном разделении смеси аскорбиновой кислоты и АК наблюдается значительное увеличение коэффициентов распределения аскорбиновой кислоты по сравнению с экстракцией индивидуальной аскорбиновой кислоты. Максимальное значение β 73,4 (фактора разделения) достигается в системе с хлоридом натрия (табл.11). Такое разделение тирозина и аскорбиновой кислоты обусловлено строением их молекул. Вероятно, столь малое извлечение тирозина связано с полярным гидрофильным концом молекулы, он деструктуризирует молекулы воды, в результате чего функциональные группы аминокислоты образуют водородные связи с водой. В молекуле аскорбиновой кислоты наличие значительного количества функциональных групп обуславливает образование прочных водородных связей с экстрагентом.

Таблица 11

Коэффициенты распределения (D), степень извлечения (R) и факторы разделения (β) триптофана и аскорбиновой кислоты при экстракции бутанолом; $c_{asc} = 5{,}677 \cdot 10^{-5}$ М, $c_{trp} = 12{,}255 \cdot 10^{-5}$ М

Высаливатель	$c_{asc} \cdot 10^{-5}$, М	$c_{trp} \cdot 10^{-5}$, М	D_1	D_2	R_1, %	R_2, %	β
NaCl	2,363	12,135	14,61	0,21	56,6	1,75	70,1
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	2,567	12,024	14,92	0,26	54,8	1,99	58,1
NaF	2,245	11,894	17,15	0,34	59,4	2,94	50,3

Таблица 12

Коэффициенты распределения (D), степень извлечения (R) и факторы разделения (β) тирозина и аскорбиновой кислоты при экстракции бутанолом; $c_{asc} = 5{,}677 \cdot 10^{-5}$ М, $c_{tyr} = 27{,}593 \cdot 10^{-5}$ М

Высаливатель	$c_{asc} \cdot 10^{-5}$, М	$c_{tyr} \cdot 10^{-5}$, М	D_1	D_2	R_1, %	R_2, %	β
NaCl	1,989	26,891	25,21	0,36	64,9	2,64	73,4
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	2,367	27,106	15,66	0,21	58,2	1,84	71,5
NaF	1,878	26,527	29,74	0,61	66,9	3,92	49,5

Данные разделения подтверждаются ИК-спектроскопией. В водной фазе возможно образование ассоциатов – тирозин – аскорбиновая кислота (полосы в области 1640 $см^{-1}$, что относится к водородным связям группировки COO^- тирозина с ОН группами аскорбиновой кислоты). До экстракции смеси молекулы воды разупорядочены, что подтверждают максимумы в области 3640-3540 $см^{-1}$, относящиеся к колебаниям $H_2O...H_2O$ с одной и двумя водородными связями. Пик 3470 $см^{-1}$ относится к ассоциатам $H_2O...H_2O$ с тремя водородными связями. Поглощение при 3390 $см^{-1}$ характерно колебаниям воды, связанной с ОН группами молекулы аскорбиновой кислоты. После экстракции в ИК спектре водной фазы увеличивается количество аквакомплексов тирозина. Поглощение при 3220 $см^{-1}$ относится к связи вода – COO^- группа тирозина, максимум в области 3400 $см^{-1}$ соответствует водородной связи с NH_3^+ группой тирозина.

Пользуясь эмпирической корреляцией между частотой колебания и энергией водородной связи, возможно рассчитать некоторые параметры водородного мостика в системе витамин-аминокислота (табл. 13).

Оптимизация структуры витамин–АК водная фаза до экстракции проведена с применением программного комплекса HyperChem V7.0 методом молекулярной механики. По результатам компьютерного моделирования установлено, что длина связи (R) OH...O и NH...O отличается незначительно от результатов, приведенных в табл. 13. Например, для связи $O...NH_3^+$ (пик 2770 $см^{-1}$) расстояние между донором и акцептором протона равно 2,549 Å, для связи $COO^-...HOH$ (пик 3220 $см^{-1}$) расстояние составляет 2,686 Å.

Таблица 13

Некоторые параметры Н-связей в системе аскорбиновая кислота – тирозин в водной фазе при экстракции бутанолом[1]

νOH, $см^{-1}$		ΔνOH, $см^{-1}$	$E_н$, кДж/моль	ΔH, кДж/моль	$R_{OH...O}$ Å	$R_{NH...O}$ Å	$\Delta r_{OH} \cdot 10^{-2}$ Å
До экстракции	После экстракции						
3620	3590	55/80	3,8/5,7	9,8/12,2	2,827/2,822	-	0,29/0,41
3400	3400	275/275	19,5/19,5	22,5/22,5	2,783/2,783	-	1,46/1,46
3390	3360	160/190	15,1/21,9	17,6/23,7	-	2,890/2,773	1,26/1,63
3260	3220	410/450	29,2/31,9	27,5/27,8	2,746/2,721	-	2,18/2,36
-	2770	780	53,6	32,8	-	2,578	4,01
2640	2660	1035/1015	74,1/73,1	43,9/42,6	2,604/2,601	-	5,49/5,24

Результаты исследования экстракции никотиновой кислоты и АК этилацетатом (наиболее эффективный экстрагент) из водных растворов, насыщенных нейтральными солями приведены в табл. 14. Факторы разделения никотиновой кислоты с исследуемыми АК меньше, чем в системах с аскорбиновой кислотой. Максимальное значение β составило в системах с хлоридом натрия – тирозин – этилацетат, сульфат натрия – триптофан – этилацетат и равно соответственно 43,88 и 28,7. Такое разделение никотиновой кислоты и АК связано со строением молекулы никотиновой кислоты. Наличие пиридинового кольца и атома азота в цикле, который образует водородную связь с карбоксильной группой аминокислоты, приводит к взаимному межмолекулярному влиянию и аминокислота в большем количестве переходит в органическую фазу.

Таблица 14

Коэффициенты распределения (D), степень извлечения (R) и факторы разделения (β) триптофана и никотиновой кислоты при экстракции этилацетатом;
$c_{nic} = 1{,}624 \cdot 10^{-4}$ М, $c_{trp} = 0{,}612 \cdot 10^{-4}$ М

Высаливатель	$C_{nic} \cdot 10^{-4}$, М	$C_{trp} \cdot 10^{-4}$, М	D_1	D_2	R_1, %	R_2, %	β
NaCl	1,075	0,604	7,46	0,17	32,2	5,6	43,88
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	0,678	0,560	17,81	1,62	58,3	8,6	10,98
Коэффициенты распределения (D), степень извлечения (R) и факторы разделения β тирозина и никотиновой кислоты при экстракции этилацетатом; $c_{nic} = 1{,}624 \cdot 10^{-4}$ М, $c_{tyr} = 2{,}759 \cdot 10^{-4}$ М							
Высаливатель	$C_{nic} \cdot 10^{-4}$, М	$C_{tyr} \cdot 10^{-4}$, М	D_1	D_2	R_1, %	R_2, %	β
NaCl	0,793	2,679	15,42	0,38	51,4	2,9	40,51
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	0,726	2,587	13,78	0,68	35,6	5,1	20,26

[1] Параметры водородного мостика рассчитывали по формулам, приведенным в монографии В.Ф. Селеменев и др. *Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот* – М.: Стелайт, 2002. – 300 с.

Спектры водной фазы анализируемой смеси до и после экстракции различаются незначительно, что на структурном уровне доказывает вывод о меньшем разделении никотиновой кислоты и триптофана. В водной фазе никотиновая кислота преимущественно существует в виде катиона, о чем свидетельствует поглощение в области 1750 $см^{-1}$, соответствующее колебаниям C=O групп в COOH группах. Триптофан в растворе находится в виде цвиттериона, на спектре проявляются пики 1415 и 1560 $см^{-1}$, что соответствует симметричным и асимметричным валентным колебаниям COO^- группы. Поглощение при 1620 $см^{-1}$ характерно для асимметричных колебаний группы NH_3^+. Максимумы 3400 и 3220 $см^{-1}$ характеризуют связи вода NH_3^+ и вода COO^- группы триптофана соответственно. С учётом количества молекул никотиновой кислоты и триптофана, соотношение которых составило 3:1 соответственно, показана схема образования ассоциатов до экстракции (рис. 7а). В водной фазе после экстракции содержание никотиновой кислоты и триптофана уменьшается, соотношение числа молекул составляет 1:1 (рис. 7 б.)

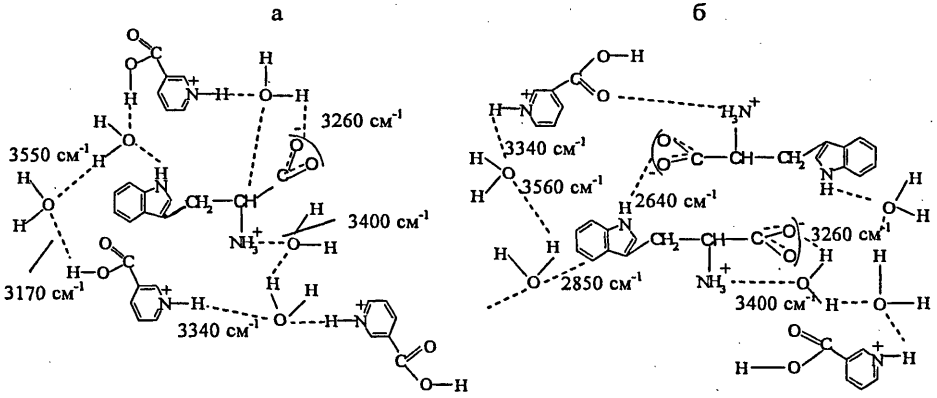

Рис. 7 Схема образования ассоциатов никотиновая кислота-триптофан в водной фазе до (а) и после экстракции (б)

Таким образом, показано, что $R_{OH...O}$ и $R_{NH...O}$, полученные компьютерным моделированием (методом молекулярной механики) отличаются незначительно от аналогичных данных, полученных методом ИКС. Так,для связи $NH^+...O$ (пик 3340 $см^{-1}$) расстояние, рассчитанное по данным ИКС составило 2,802 Å, методом молекулярной механики – 2,862 Å. Для связи $H_2O...H$ (пик 3170 $см^{-1}$) R, рассчитанное по ИКС, равно 2,353 Å, компьютерным методом - 2,329 и т.д.

ВЫВОДЫ

1. Вычислены коэффициенты распределения и степень извлечения витаминов в 70 системах. Предложен рейтинг растворителей для экстракции витаминов. Наилучший рейтинг среди индивидуальных растворителей имеют 1-бутанол и 1-пентанол, высокий рейтинг показал 1-бутанол с

добавкой этилацетата. Эксперименты по экстракции аскорбиновой и никотиновой кислот из водно-солевых растворов, в целом подтвердили прогноз хороших экстракционных свойств растворителей, имеющих максимальный рейтинг по предложенному обобщенному критерию. Наиболее эффективными экстрагентами для аскорбиновой кислоты являются алифатические спирты, для никотиновой кислоты алкилацетаты. Предложены бинарные системы растворителей и выбран интервал соотношений мольных долей экстрагентов, где экстракционные характеристики витаминов будут наиболее эффективны (степень извлечения в пределах 70-80 %). Рассчитаны сольватные числа, константы образования, коэффициенты синергентности.

2. Установлена корреляция между физико-химическими свойствами растворителей и коэффициентами распределения витаминов. Линейные зависимости экстракционных характеристик аскорбиновой и никотиновой кислот от диэлектрической проницаемости, показателя преломления, параметра Димрота-Райхардта позволили прогнозировать коэффициенты распределения анализируемых кислот в системах с различными экстрагентами. Для учета двух и более параметров растворителей применили многометрический корреляционный анализ. Полученные уравнения применяли для прогнозирования коэффициентов распределения аскорбиновой и никотиновой кислот в системах с различными классами растворителей. Предложены возможные схемы образования ассоциатов (при совместном присутствии витаминов и аминокислот) в водных и органических средах на основе данных полученных методами ИК-спектроскопии и компьютерного моделирования.
3. Разработан спектрофотометрический способ раздельного определения аскорбиновой, никотиновой кислот и ароматических АК в двойных и тройных смесях. Рассчитаны уравнения Фирордта для систем, содержащих ароматические АК (тирозин, триптофан, фенилаланин) и витамины. Погрешность определения в двухкомпонентных смесях для аскорбиновой кислоты не превышает 8%, для определения никотиновой кислоты погрешность максимально составила 7%, погрешность определения АК находится в пределах 6-7%. В трехкомпонентных системах максимальная погрешность определения аскорбиновой кислоты составила 12,6%, погрешность определения никотиновой кислоты 13,9%, для АК – в пределах 4,2-17,7%.
4. Предложен способ экстракционного разделения и последующего спектрофотометрического определения АК и витаминов. Предложены эффективные системы, позволяющие разделять сложные смеси при однократной экстракции. Максимальное значение фактора разделения (β) для смеси тирозина и аскорбиновой кислоты достигается в системе с хлоридом натрия и равно 73,4. Значение β для смеси с никотиновой кислотой составило 43,8 и 40,5 в системах: хлорид натрия – тирозин – этилацетат, хлорид натрия – триптофан – этилацетат соответственно.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Савушкин Р.В. Влияние физико-химических параметров экстрагентов на межфазное распределение аскорбиновой кислоты / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев //Экстракция в гидрометаллургии, радиохимии, технологических и органических веществ. Рос. конф. по экстракции: тез. докл., Москва, 19-24 сент. – 2004 г.- М., 2004. - С. 58.
2. Савушкин Р.В. Экстракция аскорбиновой кислоты из водных сред / Р. В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев // Аналитика России. Всерос. конф. по аналит. химии: тез. докл., Москва 27сент.-1 октяб. – 2004 г. – М., 2004. - С. 198-199.
3. Савушкин Р.В. Некоторые закономерности экстракции аскорбиновой кислоты гидрофильными спиртами / Р.В. Савушкин [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2004. - т. 47, вып. 10. - С. 120-122.
4. Савушкин Р.В. Спектрофотометрическое раздельное определение аскорбиновой кислоты и ароматических аминокислот / Р.В. Савушкин, Н. Я. Мокшина, В.Ю. Хохлов // Аналитика России. Всерос. конф. по аналит. химии: тез. докл., Москва 27сент.-1 октяб. – 2004 г. – М., 2004. - С. 198.
5. Савушкин Р.В. Анализ водных растворов аскорбиновой кислоты методом инфракрасной спектроскопии / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев // VII конф. Аналитика Сибири и Дальнего Востока: сб. науч. тр. – Новосибирск, 2004. - т. 1.- С. 241.
6. Савушкин Р.В. Спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты и аминокислот при совместном присутствии / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев // Аналитика и контроль.- 2004. - Т. 8, № 4 - С. 346-348.
7. Савушкин Р.В. Разделение и спектрофотометрическое определение ароматических аминокислот и витаминов / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии: материалы III международ. симп. – Краснодар, 2005. – С. 376.
8. Савушкин Р.В. Экстракция рутина растворителями – гомологами / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, О.В. Ерина // Экстракция органических соединений: III Международ. конф.: каталог докл. - Воронеж, 17-21 окт. 2005. – С. 327.
9. Савушкин Р.В. Экстракция водорастворимых витаминов из водно-солевых растворов / Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев // Экстракция органических соединений: III Международ. конф.: каталог докл. - Воронеж, 17-21 окт. 2005. – С. 324.
10. Савушкин Р.В. Экстракция никотиновой кислоты из водно-солевых сред Р.В. Савушкин, Н.Я. Мокшина, Г.Ю. Орос // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2006. - Т . 6, вып. 2 - С. 332-336.
11. Savushkin R.V. Distribution regularities of water soluble vitamins in system of organic solvent – water-aqueous solutions and spectrophotometric analysis of concentrates / R.V. Savushkin at all // International Congress on Analytical Sciences, Moscow, Russia, 2006. V.2. P. 431.

Подписано в печать 5.10.2006. Формат 60x84/16. Усл. п. л. 1,5. Тираж 100. Заказ 788.
Издательско-полиграфический центр
Воронежского государственного университета.
394000, г. Воронеж, Университетская площадь, 1, ком.43, тел.208-853.
Отпечатано в лаборатории оперативной печати ИПЦ ВГУ.