



УДК 541.183:542.81

Сорбция водорастворимых витаминов на сорбентах различной природы

Ланин С.Н.¹, Рычкова С.А.¹, Виноградов А.Е.¹, Вирысов М.Б.¹,
Востров И.А.¹, Шаталов И.А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²ЗАО «Портлаб», Москва

Поступила в редакцию 20.02.2015 г.

Исследование связано с проблемой анализа витаминизированных продуктов питания и фармацевтических препаратов методами обращено фазовой высокоэффективной хроматографии. Исследованы физико-химические закономерности адсорбции водорастворимых витаминов группы В (В₁, В₂, В₃, В₆ и В₁₂) из модельных водных растворов на сорбентах на основе силикагеля и сверхсшитого полистирола. Из динамических выходных кривых измерена сорбционная емкость сорбентов по отношению к каждому витамину. Показано, что достаточно высокой динамической емкостью по отношению к водорастворимым витаминам обладают сорбенты на основе сверхсшитого полистирола. Помимо природы сорбента адсорбция исследованных водорастворимых витаминов сильно зависит от pH раствора.

Ключевые слова: сорбция, твёрдофазная экстракция, водорастворимые витамины, витамины В₁, В₂, В₃, В₆, В₁₂, высокоэффективная жидкостная хроматография, концентрирование, динамическая емкость сорбента.

Sorption of water-soluble vitamins in various sorbents

Lanin S.N.¹, Rychkova S.A.¹, Vinogradov A.E.¹, Viryasov M.B.¹,
Vostrov I.A.¹, Shatalov I.A.²

¹ Lomonosov Moscow State university, Moscow

² ZAO ZAO "PortLab", Moscow

In connection with the problem of the analysis of vitaminised food and pharmaceutical products by the reversed phase high performance chromatography, there were investigated the physico-chemical regularities of adsorption of water-soluble b vitamins (B₁, B₂, B₃, B₆ and B₁₂) from model aqueous solutions on the sorbents based on silica gel and supersewn polystyrene. From the dynamic output curves the sorption capacity of sorbents with respect to each vitamin were measured. It has been shown that a sufficiently high dynamic capacity in relation to water-soluble vitamins have sorbents on the basis of super cross-linked polystyrene. In addition to the nature of the sorbent adsorption of the investigated water-soluble vitamins is strongly dependent on the pH of the solution.

Keywords: sorption, solid phase extraction, water-soluble vitamins, vitamins B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, high performance liquid chromatography, concentration, dynamic capacity of sorbent.

Введение

Контроль содержания водорастворимых витаминов является актуальной задачей в связи с постоянным увеличением числа витаминизированных продуктов

питания и фармацевтических препаратов. Наиболее распространённым и эффективным способом разделения и определения витаминов является метод обращеннофазовой высокоэффективной хроматографии (ОФ ВЭЖХ).

Однако определение витаминов в растительных объектах и биологических жидкостях методом ВЭЖХ представляет весьма сложную задачу из-за наличия большого числа сопутствующих компонентов и, как следствие, перегруженности хроматографического профиля. [1]. Твердофазная экстракция (ТФЭ) в последние годы является наиболее эффективным методом подготовки проб для анализа, извлечения, очистки и концентрирования веществ [2, 3]. Совместное использование методов ТФЭ и ВЭЖХ представляет собой эффективный инструмент для качественного и количественного определения витаминов в клинических пробах и пищевых продуктах.

На сегодняшний день существуют аналитические методики по очистке и концентрированию витаминов. Однако физико-химические аспекты процесса остаются не всегда достаточно изученными. Целью данной работы являлось изучение закономерностей и оптимизация сорбции и концентрирования водорастворимых витаминов (ВВ) в динамическом режиме с использованием метода ТФЭ; оценка динамической емкости сорбента в зависимости от состава и объема растворителей, необходимых для осуществления процессов сорбции и десорбции.

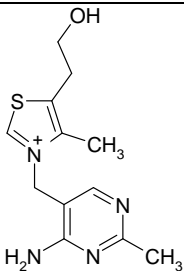
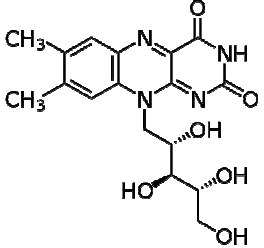
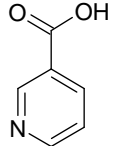
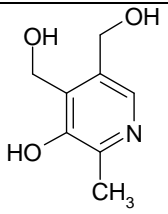
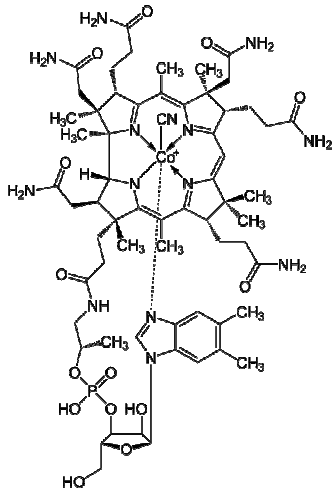
Эксперимент

Хроматографическая система. Исследования проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) с двумя насосами высокого давления, укомплектованном спектрофотометрическим детектором ($\lambda=190-370$ нм), стальной хроматографической колонкой Synergi Hydro-RP 150×2 мм (Phenomenex, США), предколонкой Security Guard Cartridges Silica 4×2.0 мм (Phenomenex, США). Реактивы и растворители. Использовали ацетонитрил класса HPLC (Panreac), этанол 96% (Реахим), деионизованную воду (деионизатор Portlab D-301). Использовали стандартные образцы («Sigma», США) следующих витаминов: тиамин гидрохлорид (B_1), рибофлавин (B_2), никотинамид (B_3 , РР), пиридоксин гидрохлорид (B_6), цианокобаламин (B_{12}) (табл. 1). Методика ТФЭ. Для твердофазной экстракции витаминов использовали коммерческие картриджи Strata Traditional C18-E (200 mg, Phenomenex, США), Strata-X (200 mg, Phenomenex, США), Strata Traditional NH₂/WAX (200 mg, Phenomenex, США), Strata Traditional CN (200 mg, Phenomenex, США), Strata-XAW (200 mg, Phenomenex, США), Strata-X-C (200 mg, Phenomenex, США) и сорбенты Силохром 120, SiO₂-PVP-4 (силикагель, модифицированный поливинилпирролидоном), сверхсшитый полистирол Purosep-200, MN-202, MN-270, MN-150 и MN-500. Картриджи для ТФЭ готовили следующим образом: 200 мг сорбентов (Силохром 120; SiO₂-PVP-4; сверхсшитый полистирол Purosep-200, MN-202, MN-270, MN-150 и MN-500) помещали в полипропиленовые трубки (диаметр 8.2 мм, длина 75 мм), промывали 10 мл этанола и 5 мл деионизованной воды.

Индивидуальные растворы известной концентрации (модельные растворы) определяемых соединений (витаминов B_1 , B_2 , B_3 , B_6 и B_{12}) готовили с концентрацией ~ 2-5 мМ. Для этого навеску водорастворимого витамина растворяли в деионизованной воде. Концентрацию витамина в приготовленном растворе определяли методом ВЭЖХ. Для последующего расчёта коэффициентов концентрирования витаминов использовали значения площадей

хроматографических пиков. Приготовленный модельный раствор водорастворимого витамина пропускали через слой сорбента с объемной скоростью ~1.5 мл/мин до «проскока». Десорбировали адсорбированные витамины этиловым спиртом, а также смесями этанол : вода в соотношениях 7:3, 8:2, 9:1.

Таблица 1. Формулы и некоторые физико-химические свойства водорастворимых витаминов группы В (α – поляризуемость молекулы, Å^3 ; $\log P$ – логарифм коэффициента распределения в системе *n*-октанол-вода; V – молекулярный объем, Å^3)*

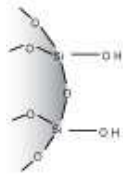
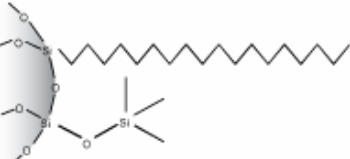
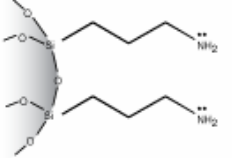
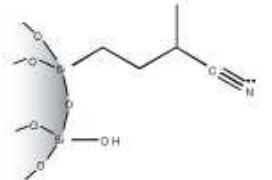
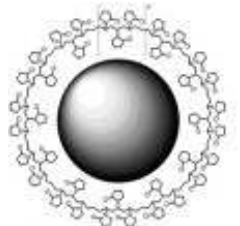
№ п/п	Витамин	Название	α , Å^3	$\log P$	V , Å^3
1		Тиамин (В ₁)	29.10	0.01	781
2		Рибофлавин (В ₂)	36.36	1.51	993
3		Никотинамид (В ₃ , PP)	12.28	0.50	403
4		Пиридоксин (В ₆)	17.14	0.49	529
5		Цианокобаламин (В ₁₂)	-	0.01	2980

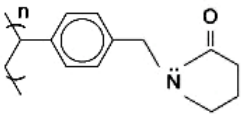
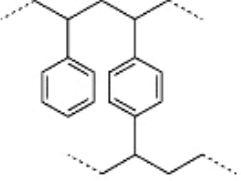
*экспериментальные значения из базы данных DrugBank Version 4.1

Обсуждение результатов

Адсорбция водорастворимых витаминов. Водорастворимые витамины являются достаточно сложными органическими соединениями, включающие в свой состав насыщенные и ненасыщенные гетероциклы и разнообразные полярные функциональные группы. Исходя из строения молекул сорбатов, можно предположить, что такие соединения будут вступать с поверхностью сорбентов в различные межмолекулярные взаимодействия. Для изучения адсорбции водорастворимых витаминов использовали сорбенты различной природы на основе силикагеля и сверхсшитого полистирола (табл. 2). Измерения адсорбции проводили в статическом и динамическом режимах.

Таблица 2. Характеристики сорбентов ($S_{уд}$ – удельная поверхность, m^2/g ; $d_{пор}$ – диаметр пор, Å)

Сорбент <i>1</i>	Структура <i>2</i>	($S_{уд}$), m^2/g <i>3</i>	Диаметр пор ($d_{пор}$), Å <i>4</i>
Силохром 120		120	450
Strata Traditional C18-E [4]		500	70
Strata Traditional NH2/WAX [3]		500	70
Strata Traditional CN [3]		500	70
SiO ₂ -PVP-4 [5]		140	211

1	2	3	4
Strata-X [3]		800	85
MN-202 [6, 7]		800-1000	$d_{\text{микропор}}=15 \text{ \AA}$ $d_{\text{мезо и макропор}}=600-900 \text{ \AA}$
MN-270 [5, 6]		1300-1500	$d_{\text{пор}}=15 \text{ \AA}$
Purosep-200 [1]		800-1000	$d_{\text{микропор}}=15 \text{ \AA}$ $d_{\text{мезо и макропор}}=850-950 \text{ \AA}$

Адсорбцию витаминов в динамическом режиме измеряли путем пропускания порциями по 5-10 мл раствора каждого витамина через слой сорбента, отбирая при этом на выходе из картриджа аликвоты по 1 мл. Определив концентрации витаминов (C_i) в элюате методом ВЭЖХ, строили зависимости относительной концентрации C_i/C_0 от объема пропущенного через картридж раствора (динамические выходные кривые концентрирования) [8]. На основании полученных данных определяли объем до проскока витамина V_b , мл (объем, при котором текущая концентрация витамина в растворе достигает 50 % от его концентрации в исходном растворе C_0) и динамическую емкость ($ДЕ$) сорбента (площадь под динамической выходной кривой), моль/г [9].

$$ДЕ = \frac{C_0 \cdot V_b}{m \cdot 1000} \quad (1)$$

где C_0 – концентрация витамина в исходном растворе, моль/л; V_b – объем до проскока (объем, при котором текущая концентрация аналита в растворе достигает 50% от его концентрации в исходном растворе), мл; m – масса сухого сорбента, г.

На рис. 1 представлены динамические выходные кривые, полученные при концентрировании никотинамида (В3) из модельного раствора с содержанием основного компонента $C_0 \sim 10^{-2}$ моль/л. Измерение адсорбции водорастворимых витаминов в динамическом режиме проводили на сорбентах Силохром 120, SiO₂-PVP-4, сверхсшитом полистироле Strata-X, Purosep-200, MN-270 и MN-202. Остальные сорбенты (табл. 2) характеризуются малой емкостью по отношению к витаминам группы В (степень извлечения $R_0 \leq 20\%$).

Из рис. 1 следует, что порядок выхода динамических кривых соответствует увеличению сорбции витамина на поверхности сорбентов в следующем ряду: Силохром 120 < SiO₂-PVP-4 < Strata-X < MN-270 < Purosep-200 < MN-202. Молекулы никотинамида слабо взаимодействуют с поверхностью силикагеля вследствие сильных взаимодействий молекул сорбата с молекулами растворителя [10, 11].

К особенностям механизма сорбции на сверхсшитом полистироле можно отнести заметный дополнительный вклад в удерживание π -взаимодействий, в наибольшей степени проявляющийся для сорбатов с электронодефицитными или электроноизбыточными плоскими ароматическими фрагментами, кратными связями, вакантными d-орбиталями или неподеленными парами электронов [12-13].

Вероятно, увеличение удерживания водорастворимых витаминов на полистирольном сорбенте по сравнению с полярным силикагелем происходит за счет способности полистирольной сетки удерживать соединения, включающие ненасыщенные, в особенности сопряженные системы. Наблюдаемое уменьшение удерживания никотинамида из модельного раствора на полистирольном сорбенте Strata-X по сравнению с MN-270 и MN-202 связано с наличием пирролидоновых фрагментов на поверхности сорбента, что вносит стерические затруднения при адсорбции витамина.

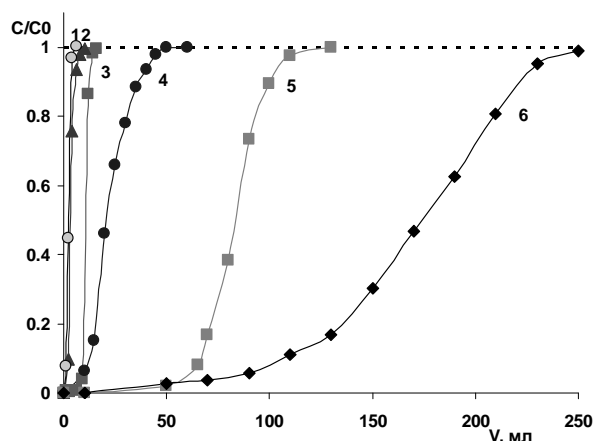


Рис. 1. Выходные динамические кривые никотинамида (B_3) на сорбентах различной природы: 1 – Силохром 120, 2 – SiO_2 -PVP-4, 3 – Strata-X, 4 – MN-270, 5 – Purosep-200, 6 – MN-202; скорость потока 1.5 мл/мин

По выходным динамическим кривым водорастворимых витаминов оценили объемы до проскока (V_b) и на основании уравнения 1 определили динамическую емкость сорбентов по отношению к каждому сорбату (табл. 3).

Молекулы витаминов B_1 , B_2 , B_3 и B_6 относительно слабо взаимодействуют с поверхностью силикагеля вследствие сильных взаимодействий молекул сорбата с молекулами растворителя [9]. Молекулы цианокобаламина (B_{12}) сильнее, чем остальные витамины взаимодействуют с гидроксильными группами силикагеля, образуя водородные связи, что приводит к увеличению объема удерживания данного сорбата. Молекулы витаминов B_1 , B_3 и B_6 слабо взаимодействуют с пирролидоновой группой на поверхности сорбента Strata-X и уменьшение удерживания этих витаминов по сравнению с остальными полистирольными сорбентами связано с возникновением стерических трудностей при адсорбции их из растворов. В случае же витаминов B_2 и B_{12} возникает сильное межмолекулярное взаимодействие с пирролидоновым фрагментом, что приводит к резкому увеличению адсорбции (объемов удерживания) данных сорбатов.

В то же время, наличие пирролидоновых фрагментов на поверхности модифицированного поливинилпирролидоном силикагеле не приводит к увеличению адсорбции витаминов B_2 и B_{12} на SiO_2 -PVP-4, что, вероятно, связано с влиянием природы матрицы сорбента. Сорбция витаминов B_2 и B_{12} на сорбентах на основе силикагеля происходит за счет образования водородных связей между активными функциональными группами витаминов и гидроксильными группами силикагеля. В случае витамина B_2 происходит уменьшение сорбции на сорбенте SiO_2 -PVP-4 из-за стерических затруднений, создаваемых пирролидоновыми группами на поверхности сорбента и уменьшением числа образующихся водородных связей между молекулами сорбата и сорбента. Возрастание сорбции

витаминов В₂ и В₁₂ на полистирольном сорбенте Strata-X по сравнению с SiO₂-PVP-4 обусловлено возникновением сильных специфических взаимодействий между большим числом ненасыщенных фрагментов в структуре витаминов и на поверхности сорбента.

Таблица 3. Динамическая емкость сорбентов различной природы по отношению к водорастворимым витаминам группы В (C_0 – концентрация витамина в исходном растворе, моль/л; V_b – объем до проскока (объем, при котором $C_i/C_0=0.5$), мл; DE – динамическая емкость сорбента, моль/г)

Витамин	Сорбент	C_0 , моль/л	V_b , мл ($C_i/C_0=0.5$)	$DE \cdot 10^{-6}$, моль/г
Тиамин гидрохлорид (В ₁)	SiO ₂	$6.0 \cdot 10^{-4}$	2.1	6.3
	SiO ₂ -PVP-4	$6.0 \cdot 10^{-4}$	1.2	3.6
	Strata-X	$6.0 \cdot 10^{-4}$	0.9	2.7
	Purosep-200	$1.0 \cdot 10^{-5}$	2.5	1.3
	MN-202	$1.0 \cdot 10^{-4}$	3.3	1.7
	MN-270	$1.0 \cdot 10^{-4}$	3.7	1.9
Рибофлавин (В ₂)	SiO ₂	$3.8 \cdot 10^{-5}$	7.8	1.5
	SiO ₂ -PVP-4	$4.5 \cdot 10^{-5}$	4.9	1.1
	Strata-X	$5.1 \cdot 10^{-5}$	750	191
	Purosep-200	$1.2 \cdot 10^{-4}$	380	228
	MN-202	$4.3 \cdot 10^{-5}$	35	7.5
	MN-270	$2.4 \cdot 10^{-4}$	541	649
Никотинамид (В ₃ , РР)	SiO ₂	$1.1 \cdot 10^{-2}$	2.2	121
	SiO ₂ -PVP-4	$1.1 \cdot 10^{-2}$	3.2	176
	Strata-X	$1.1 \cdot 10^{-2}$	11	589
	Purosep-200	$1.0 \cdot 10^{-2}$	83	4150
	MN-202	$1.0 \cdot 10^{-2}$	104	5200
	MN-270	$7.6 \cdot 10^{-3}$	21	798
Пиридоксин гидрохлорид (В ₆)	SiO ₂	$1.4 \cdot 10^{-4}$	6.8	4.8
	SiO ₂ -PVP-4	$1.7 \cdot 10^{-4}$	4.6	3.9
	Strata-X	$1.5 \cdot 10^{-4}$	2.9	2.2
	Purosep-200	$2.0 \cdot 10^{-4}$	15	15
	MN-202	$6.1 \cdot 10^{-4}$	81	247
	MN-270	$1.0 \cdot 10^{-3}$	11	54
Цианокобаламин (В ₁₂)	SiO ₂	$2.0 \cdot 10^{-4}$	34	34
	SiO ₂ -PVP-4	$2.0 \cdot 10^{-4}$	34	34
	Strata-X	$2.2 \cdot 10^{-5}$	672	74
	Purosep-200	$2.9 \cdot 10^{-5}$	45	6.8
	MN-202	$3.0 \cdot 10^{-5}$	3.2	0.5
	MN-270	$3.0 \cdot 10^{-5}$	3.6	0.5

Из данных табл. 3 видно, что для исследуемых водорастворимых витаминов группы В, в целом, наблюдается увеличение адсорбции на полистирольных сорбентах. При этом для витаминов В₂ и В₁₂ получены наибольшие значения V_b на сверхсшитых полистиролах (MN-202 и MN-270), что обусловлено наличием большого числа ненасыщенных сопряженных систем в структуре молекул витаминов, вследствие чего специфические взаимодействия усиливаются. Молекулы В₃ и В₆ содержат в своем составе всего по одному циклу с двойными связями, что

приводит к уменьшению специфических взаимодействий и снижению сорбции данных витаминов на полистирольных сорбентах по сравнению с V_2 и V_{12} . Кроме того, молекула витамина V_6 в отличие от V_3 , в структуре которого имеется амидная группа, содержит три гидроксильные группы, что приводит к увеличению сорбции молекул V_6 на полярных сорбентах SiO_2 и SiO_2 -PVP-4 по сравнению с V_3 . В то же время, наличие в структуре трех гидроксильных групп приводит к тому, что молекулам витамина V_6 труднее приблизиться к поверхности гидрофобного сверхсшитого полистирола, что объясняет уменьшение объемов удерживания витамина V_6 на полистирольных сорбентах по сравнению с витамином V_3 . Необходимо отметить, что структура сверхсшитого полистирола представляет собой жесткую ажурную пространственную полимерную сетку, обладающую высокой конформационной подвижностью и проницаемую во всех направлениях [14]. Основным структурным элементом сетки является неплоский пространственный цикл, состоящий из сшивающих мостиков и участков цепи между ними. Размер цикла определяется степенью сшивки, распределение которой по объему сетки является статистическим. Весь объем полимера является доступным для молекул растворителя или аналита, таким образом, ячейки полимерной сетки можно считать «порами» с наиболее распространенным диаметром от 2 до 4 нм. Благодаря такой структуре можно наблюдать влияние размерных эффектов на удерживание различных сорбатов сверхсшитым полистиролом. Так, молекула витамина V_{12} , имеющая большой объем ($V=2980 \text{ \AA}^3$), слабо удерживается на поверхности полистирольных сорбентов MN-202 и MN-270, что можно объяснить невозможностью проникновения громоздких молекул цианокобаламина в поры небольшого диаметра. Сорбент Purosep-200 имеет поры диаметром 850-950 \AA , в которые могут входить молекулы V_{12} , что и приводит к увеличению объема удерживания данного витамина на этом сорбенте. Молекулы водорастворимых витаминов V_3 и V_6 имеют близкие значения объемов (403 и 529 \AA^3), что и отражается в одинаковом порядке увеличения сорбции данных сорбатов в ряду MN-270 < Purosep-200 < MN-202. Микропористый сорбент MN-270 несмотря на большую удельную поверхность слабее сорбирует витамины V_3 и V_6 , чем сорбенты с мезо- и макропорами. Видимо, сорбент MN-202 имеет поры наиболее подходящего размера, сопоставимые с объемом молекул V_3 и V_6 . Молекула рибофлавина V_2 в ~ 2 раза больше молекул V_3 и V_6 по объему (993, 403 и 529 \AA^3 , соответственно) и в данном случае адсорбция витамина возрастает в ряду MN-202 < Purosep-200 < MN-270, т.е. в сторону уменьшения размера пор и увеличения удельной поверхности сорбента. Наличие в молекуле витамина V_2 циклической изоаллоксазиновой системы с большим количеством двойных связей объясняет увеличение удерживаемого объема данного сорбата на поверхности сорбента с наибольшей удельной поверхностью за счет увеличения специфических взаимодействий. Полярная молекула тиамин гидрохлорида (V_1) характеризуется малым значением логарифма коэффициента распределения в системе *n*-октанол-вода, поэтому практически не вступает в гидрофобные взаимодействия с сорбентами на основе сверхсшитого полистирола.

На рис. 2 представлены выходные динамические кривые концентрирования водорастворимых витаминов группы В на сверхсшитом полистирольном сорбенте MN-270.

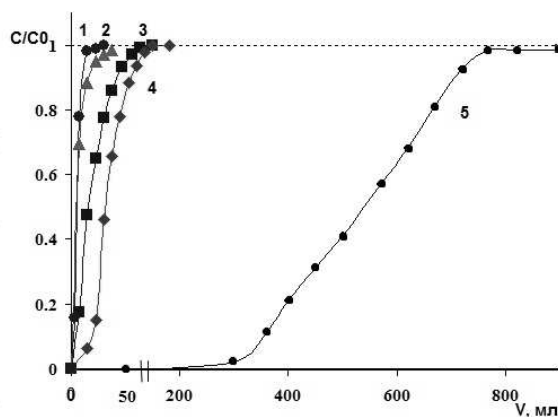


Рис. 2. Выходные динамические кривые водорастворимых витаминов на сверхсшитом полистирольном сорбенте MN-270: 1 – В₁₂, 2 – В₁, 3 – В₆, 4 – В₃, 5 – В₂; скорость потока модельного раствора витамина 1.5 мл/мин

Из рис. 2 следует, что порядок выхода динамических кривых соответствует увеличению сорбции витаминов на поверхности сорбента вследствие увеличения логарифмов коэффициента распределения в системе *n*-октанол-вода в ряду тиамин гидрохлорид и цианокобаламин ($\log P=0.01$) < пиридоксин гидрохлорид ($\log P=0.49$) < никотинамид ($\log P=0.50$) < рибофлавин ($\log P=1.51$) (рис. 3).

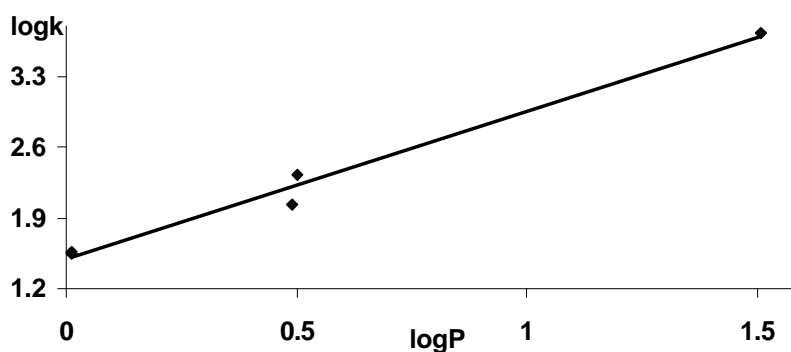


Рис. 3. Зависимость экспериментального логарифма фактора удерживания ($\log k$) от рассчитанного логарифма коэффициента распределения в системе *n*-октанол-вода ($\log P$) водорастворимых витаминов

Значения фактора удерживания водорастворимых витаминов рассчитывали следующим образом:

$$k = \frac{t'_R}{t_M} \quad (2)$$

где t'_R и t_M – исправленное время удерживания сорбата и время удерживания несорбирующегося компонента.

Корреляционное уравнение, связывающее сорбционную характеристику (фактор удерживания) молекул сорбатов с их физико-химическим параметром (логарифмом коэффициента распределения в системе *n*-октанол-вода), выражается следующим уравнением:

$$\log k = 1.4571 \cdot \log P + 1.5038 \quad (R^2 = 0.9866)$$

Зависимость адсорбции водорастворимых витаминов от высоты слоя сорбента. На рис. 4 представлены выходные динамические кривые никотинамида,

полученные на сверхсшитом полистирольном сорбенте MN-202 с использованием картриджей различного внутреннего диаметра (4.0; 5.2 и 8.2 мм). Масса сухого сорбента $m_{\text{сорб}} \approx 0.2$ г. Высота слоя сорбента h при этом составила: 5 мм ($d=8.2$ мм), 14.5 мм ($d=5.2$ мм) и 21.5 мм ($d=4.0$ мм).

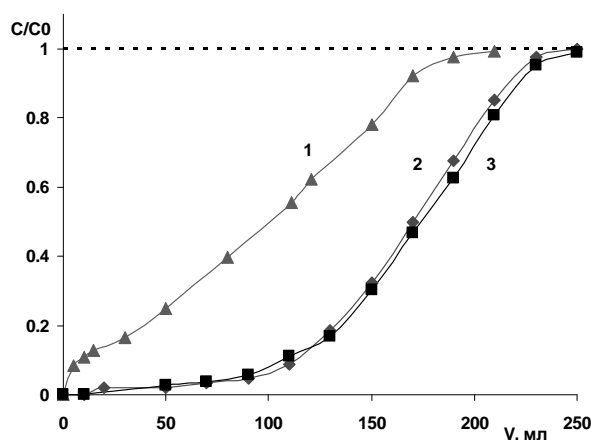


Рис. 4. Выходные динамические кривые никотинамида (B_3) на сверхсшитом полистироле MN-202 (0.2 г) при различной высоте слоя сорбента h :
1 – 5 мм; 2 – 14.5 мм; 3 – 21.5 мм; скорость потока 1.5 мл/мин

Из рис. 4 следует, что целесообразнее использовать картриджи с наименьшим диаметром и, соответственно, с большей высотой слоя сорбента, так как в этом случае увеличивается количество адсорбированного вещества.

Изотермы адсорбции водорастворимых витаминов группы В на сверхсшитом полистироле MN-202. Изучение адсорбции из растворов проводили в статическом режиме. Для этого определяли концентрацию исходного раствора C_0 . Встряхивали навеску адсорбента m с раствором в течение времени, требуемого для установления адсорбционного равновесия (180 мин), когда концентрация сорбата уже не изменяется, и определяли концентрацию вещества C , оставшегося неадсорбированным. Удельную адсорбцию a вычисляли по формуле [15]:

$$a = \frac{(C_0 - C)V}{m}, \quad (3)$$

где V – объем раствора витамина, мл; m – масса сухого сорбента, г; C – концентрация неадсорбированного вещества в растворе, моль/л; C_0 – исходная концентрация вещества, моль/л.

По экспериментальным данным построены изотермы адсорбции водорастворимых витаминов группы В на сорбенте MN-202 (рис. 5). На основании полученных результатов рассчитали значения поверхностной концентрации адсорбата в плотном адсорбционном монослое (a_m , ммоль/г) для водорастворимых витаминов группы В и значения коэффициентов распределения компонентов между объемным и адсорбционным равновесными растворами (табл. 4).

Из данных табл. 4 следует, что значения коэффициентов распределения K водорастворимых витаминов достаточно близки, что свидетельствует об одинаковом механизме взаимодействия молекул сорбатов с поверхностью гидрофобного сорбента.

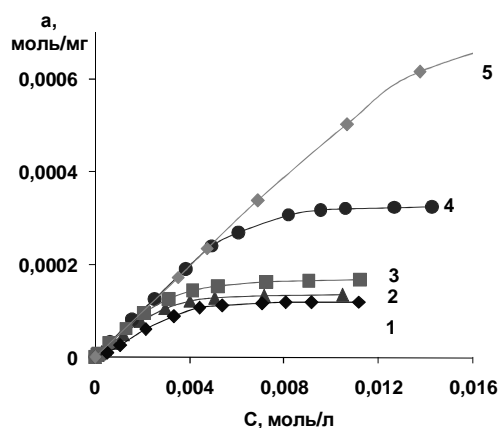


Рис. 5. Изотермы адсорбции водорастворимых витаминов на сверхсшитом полистироле MN-202: 1 – В₁₂; 2 – В₁; 3 – В₆; 4 – В₂; 5 – В₃

Таблица 4. Значения предельной поверхностной концентрации адсорбата в плотном адсорбционном монослое (a_m , ммоль/г) и коэффициентов распределения (K) для водорастворимых витаминов, полученные на сорбенте MN-202

Витамин	a_m , ммоль/г	$\lg K$
В ₁	135	2.6±0.3
В ₂	324	2.5±0.3
В ₃	734	2.2±0.3
В ₆	166	2.6±0.3
В ₁₂	119	2.6±0.3

Зависимость адсорбции водорастворимых витаминов от pH. Поскольку многие витамины по своей природе являются ионогенными веществами (кислотами или основаниями), большое влияние на их удерживание должно оказывать pH элюента. В табл. 5 представлены значения констант диссоциации для ВВ [16]. Значения pK_a и pK_b витаминов заметно отличаются друг от друга, поэтому варьируя значение pH, можно существенно изменять величины и селективность их адсорбции.

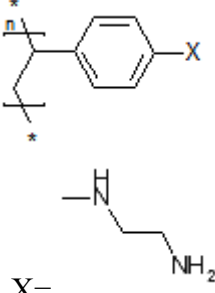
Таблица 5. Значения показателей констант диссоциации водорастворимых витаминов (pK_a, pK_b)

Витамин	pK_a / pK_b
тиамина гидрохлорид (витамин В ₁)	5.2±0.21 (N ⁺ H) / 15.5(OH)*
рибофлавин (витамин В ₂)	4.4±0.41 (N ⁺ H)
никотиновая кислота (витамин РР)	3.35 (N ⁺ H) / 2.79 (OH)
пиридоксина гидрохлорид (витамин В ₆)	4.85±0.03 (N ⁺ H) / 8.81±0.04 (OH)
Цианокобаламин (витамин В ₁₂)	–

* в скобках указаны кислотные и основные центры молекул

Для изучения адсорбции водорастворимых витаминов при различных значениях pH использовали анионообменные (MN-150, Strata-XAW) и катионообменные сорбенты (MN-500, Strata-X-C) (табл.6).

Таблица 6. Характеристики ионообменных сорбентов ($S_{уд}$ – удельная поверхность, m^2/g ; $d_{пор}$ – диаметр пор, \AA).

Сорбент	Структура	$S_{уд}$, m^2/g	$d_{пор}$, \AA
Анионообменные полимерные сорбенты			
Strata-XAW		800	85
MN-150	X=-NH ₂	800-1100	15
Катионообменные полимерные сорбенты			
Strata-X-C	X=-SO ₃ H	800	85
MN-500	X=-SO ₃ H	800-1100	15

Сорбционную способность сорбента исследовали в динамическом режиме с использованием метода твердофазной экстракции. Степень извлечения водорастворимых витаминов из исследуемых растворов контролировалась путем определения содержания витамина хроматографическим методом.

Степень извлечения (R_0 , %) рассчитывалась по следующей формуле [17]:

$$R_0 = \frac{C_0 - C}{C_0} \cdot 100\%, \quad (4)$$

где C_0 - концентрация витамина в исследуемом растворе до контакта с сорбентом, моль/л; C - концентрация витамина в исследуемом растворе после контакта с сорбентом, моль/л.

В результате проведенных исследований адсорбции водорастворимых витаминов в статических условиях, показано, что водорастворимые витамины лучше удерживаются на катионообменниках Strata-X-C и MN-500 (степень извлечения $R_0=98\%$). Однако, для полной десорбции водорастворимых витаминов с таких сорбентов необходимо создавать щелочную среду (до $pH \approx 10$), в которой многие водорастворимые витамины неустойчивы и разлагаются. В динамическом режиме водорастворимые витамины сорбируются также и на сильном анионообменнике (Strata-XAW, степень извлечения не менее $R_0 \geq 77\%$). В случае анионообменника Strata-XAW процесс сорбции/десорбции сильно зависит от pH среды (табл. 7-8).

В кислой среде исследуемые витамины устойчивы. Поэтому при десорбции с этого сорбента необходимо подкислять растворитель (до $pH \approx 4$) (табл. 8).

При адсорбции из раствора с $pH=6-7$ витамины B_1 и B_6 сорбируются практически полностью, но уменьшение pH до 5 вызывает уменьшение удерживания этих сорбатов. Видимо, это связано с тем, что при $pH < 5$ увеличивается доля молекул витаминов B_1 и B_6 , протонированных по атому азота пиридиниевого цикла. В случае же витамина B_3 при $pH < 5$ наблюдается увеличение адсорбции данного сорбата. Вероятно, это объясняется увеличением степени диссоциации карбоксильной группы молекулы никотиновой кислоты в более кислой среде (табл. 9). Сорбция рибофлавина (B_2) и цианокобаламина (B_{12}) практически не изменяется при варьировании pH. Очевидно, молекулы этих витаминов не содержат групп, способных к диссоциации в исследуемом интервале pH (2-7).

Таблица 7. Степень извлечения (R_o , %) водорастворимых витаминов из 1 мл водных растворов на сорбенте Strata-XAW (200 мг) в зависимости от pH среды (C_0 – концентрация витамина в исходном растворе, моль/л)

Витамин	$C_0 \cdot 10^{-4}$, моль/л	pH	
		7	5
B ₁	0.4	100	10
B ₂	0.2	100	100
B ₃	46.6	77	100
B ₆	1.9	98	25
B ₁₂	3.5	100	100

Таблица 8. Содержание водорастворимых витаминов α , % в элюате при их десорбции с сорбента Strata-XAW в зависимости от pH среды

Витамин	десорбция C ₂ H ₅ OH (1 мл)	
	pH	
	4	2
B ₁	85	88
B ₂	80	75
B ₃	11	78
B ₆	62	78
B ₁₂	60	58

Таблица 9. Преобладающие формы водорастворимых витаминов при различных значениях pH раствора.

Витамин	pH=2	pH=4-5	pH=7
B ₁			
B ₃			
B ₆			

Изучение десорбции водорастворимых витаминов группы В. Вследствие значительного удерживания водорастворимых витаминов на полистирольных сорбентах, возникают затруднения при подборе оптимального растворителя для осуществления полной десорбции при концентрировании витамина на сорбенте. В

случае десорбции водорастворимых витаминов с поверхности MN-202 наибольшей десорбции удалось достигнуть, используя в качестве элюирующего растворителя смесь $C_2H_5OH : H_2O$ (табл. 10).

Таблица 10. Содержание водорастворимых витаминов группы В α , % в растворе при их десорбции с сорбента MN-202 (300 мг) в зависимости от соотношения $C_2H_5OH : H_2O$ в растворе

Витамин	Соотношение $C_2H_5OH : H_2O$		
	7:3	8:2	9:1
B ₁	80	88	30
B ₂	54	75	95
B ₃	58	81	75
B ₆	34	49	100
B ₁₂	36	64	87

Из данных, представленных в табл. 10, видно, что при увеличении содержания этанола в растворе, увеличивается десорбция B₆, B₂ и B₁₂. В случае витаминов B₁ и B₃ наибольшей десорбции удается достигнуть при использовании в качестве элюирующего растворителя $C_2H_5OH:H_2O$ в объемном соотношении 8:2.

Заключение

Изучены физико-химические закономерности сорбции водорастворимых витаминов группы В (B₁, B₂, B₃, B₆ и B₁₂) из модельных растворов методом твердофазной экстракции на сорбентах различной природы. Из динамических выходных кривых оценена динамическая емкость сорбента по отношению к каждому витамину.

Показано, что достаточно высокой динамической емкостью по отношению к водорастворимым витаминам обладают сорбенты на основе сверхсшитого полистирола. Помимо природы сорбента адсорбция исследованных водорастворимых витаминов сильно зависит от рН среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Научной Школы 14.120.14.3171-НШ

Список литературы

1. Руденко А.О., Карцова Л.А., Даванков В.А. Выявление возможностей сорбента Purosep-200 на основе сверхсшитого полистирола при анализе водо- и жирорастворимых витаминов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 6. С. 766-773.
2. Luque-García J.L., Luque de Castro M.D. Extraction of fat-soluble vitamins // J. Chromatogr. A. 2001. Vol. 935. pp. 3-11.
3. Рычкова С.А., Ланин С.Н., Шаталов И.А. и др. Закономерности сорбции жирорастворимых витаминов на сорбенте Strata Traditional C18-E // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. Вып. 3. С. 397-405.
4. <http://www.phenomenex.com/>
5. Timin A., Rumyantsev E., Lanin S.N. et al. Preparation and surface properties of mesoporous silica particles modified with poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a potential adsorbent for bilirubin removal // Materials Chemistry and Physics. 2014. Vol. 147. No 3. pp. 673-683.
6. Павлова Л.А., Цюрупа М.П., Даванков В.А. и др. Использование сверхсшитых полистирольных сорбентов для очистки технологических растворов сульфата

аммония производства капролактама // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 1. С. 89-98.

7. Платонов И.А., Новикова Е.А., Онучак Л.А. Изучение сорбции нитробензола на сверхсшитых полистирольных сорбентах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2010. Т. 10. Вып. 1. С. 25-34.

8. Золотов Ю. А. Основы аналитической химии. В 2 кн. Кн. 1. Общие вопросы. Методы разделения: Учебник для вузов / Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева и др. М.: Высш. шк. 2004. 361 с.

9. Сычев К.С., Даванков В.А. Материалы и методы пробоподготовки в хроматографии: твердофазное концентрирование и адсорбционная очистка // Сорбционные и хроматографические процессы. 2004. Т.4. Вып.1. С. 5-28.

10. Ланин С.Н., Никитин Ю.С. Прогнозирование удерживания в высокоэффективной жидкостной хроматографии. Межмолекулярные взаимодействия в подвижной фазе // Журн. аналит. химии. 1991. Т. 46. № 10. С. 1971-1980.

11. Ланин С.Н., Леденкова М.Ю., Никитин Ю.С. Хроматографическое исследование адсорбции из бинарных и тройных растворов // Изв. АН. Сер. Хим. 2001. № 2. С. 220-224.

12. Даванков В.А., Сычев К.С., Ильин М.М. Применение сверхсшитых полистирольных сорбентов в высокоэффективной жидкостной хроматографии // Заводская лаборатория. 2003. Т. 69. № 4. С. 3-7.

13. Davankov V.A., Sychov C.S., Ilyin M.M. et al. Hypercrosslinked polystyrene as a novel type of high-performance liquid chromatography column packing material. Mechanisms of retention // J. Chromatogr. A. 2003. Vol. 987. pp. 67-75.

14. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of hypercrosslinked polystyrene the 1st representative of a new class of polymer networks // Reactive Polymers. 1990. Vol. 13. pp. 27-42.

15. Айвазов Б.В. Практикум по химии поверхностных явлений и адсорбции. М.: Высшая школа, 1973. 208 с.

16. Иващенко А.Л., Бойченко А.П., Логинова Л.П. Первое сообщение о возможности одновременного изократического разделения водо- и жирорастворимых витаминов методом ВЭЖХ. // Вісник Харківського національного університету. 2007. № 770. Вип. 15(38). С. 82-89.

17. Дмитриенко С.Г., Смирнова С.В., Хатунцева Л.Н и др. Методы разделения и концентрирования. М.: МГУ, 2008. 197 с.

References

1. Rudenko A.O., Kartsova L.A., Davankov V.A. Vyjavlenie vozmozhnostej sorbenta Purosep-200 na osnove sverhshhitogo polistirola pri analize vodo- i zhirorastvorimyh vitaminov [Elicitation of opportunities of sorbent Purosep-200 on the basis of super cross-linked polystyrene in the analysis of water - and fat-soluble vitamins], Sorbcionnye i khromatograficheskie processy, 2009, Vol. 9, No 6, pp. 766-773.

2.. Luque-García J.L., Luque de Castro M.D. Extraction of fat-soluble vitamins, J. Chromatogr. A, 2001, Vol. 935, pp. 3-11.

3.. Rychkova S.A., Lanin S.N., Shatalov I.A. et al. Zakonomernosti sorbcii zhirorastvorimyh vitaminov na sorbente Strata Traditional C18-E, Sorbcionnye i khromatograficheskie processy, 2014, Vol. 14, No 3, pp. 397-405.

4.. <http://www.phenomenex.com/>

5.. Timin A., Rumyantsev E., Lanin S.N. et al. Preparation and surface properties of

mesoporous silica particles modified with poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a potential adsorbent for bilirubin removal, Materials Chemistry and Physics, 2014, Vol. 147, No 3, pp. 673-683.

6.. Pavlova L.A., Tsjurupa M.P., Davankov V.A. et al. Ispol'zovanie sverhshshityh polistirol'nyh sorbentov dlja ochistki tehnologicheskikh rastvorov sul'fata ammonija proizvodstva kaprolaktama [Application of super cross-linked polystyrene sorbents for purification of technological solutions of ammonium sulphate in the process of caprolactam production], Sorbcionnye i khromatograficheskie processy, 2009, Vol. 9, No 1, pp. 89-98.

7.. Platonov I.A., Novikova E.A., Onuchak L.A. Izuchenie sorbcii nitrobenzola na sverhshshityh polistirol'nyh sorbentah [Study of adsorption of nitrobenzene on super cross-linked polystyrene sorbents], Sorbcionnye i

khromatograficheskie processy, 2010, Vol. 10, No 1, pp. 25-34.

8.. Zolotov Yu.A. Osnovy analiticheskoy himii [Fundamentals of analytical chemistry]. V. 1. Obshhie voprosy. Metody razdeleniya: Uchebnik dlja vuzov (Common questions. Separation methods: the Textbook for high schools) / Yu.A. Zolotov, E.N. Dorohova, V.I. Fadeeva et al. Moscow: Vyssh. shk. Publ, 2004, 361 p.

9.. Sychev K.S., Davankov V.A. Materialy i metody probopodgotovki v khromatografii: tverdogfaznoe koncentrirovanie i adsorbcionnaja ochistka [Materials and methods for sample preparation in chromatography: solid-phase concentration and adsorption], Sorbcionnye i khromatograficheskie processy, 2004, Vol. 4, No 1, pp. 5-28.

10. Lanin S.N., Nikitin Yu.S. Prognozirovanie uderzhivaniya v vysokoeffektivnoj zhidkostoj hromatografii. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstviya v podvizhnoj faze [Predicting of retention in high-performance liquid chromatography. Intermolecular interactions in the mobile phase], Zhurn. analit. Chimii, 1991, Vol. 46, No 10, pp. 1971-1980.

11. . Lanin S.N., Ledenkova M.Ju., Nikitin Yu.S. Chromatograficheskoe issledovanie adsorbicii iz binarnyh i trojnyh rastvorov [Chromatographic study of the adsorption from binary and ternary solutions], Izv. AN. Ser. Chim, 2001, No 2, pp. 220-224.

12. . Davankov V.A., Sychev K.S., P'in M.M. Primenenie sverhshshityh polistirolnyh sorbentov v vysokoeffektivnoj zhidkostnoj

hromatografii [Application of super cross-linked polystyrene sorbents in high-performance liquid chromatography], Zavodskaja laboratorija, 2003, Vol. 69, No 4, pp. 3-7.

13. . Davankov V.A., Sychev C.S., Ilyin M.M. et al. Hypercrosslinked polystyrene as a novel type of high-performance liquid chromatography column packing material. Mechanisms of retention, J. Chromatogr. A, 2003, Vol. 987, pp. 67-75.

14. . Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of hypercrosslinked polystyrene the 1st representative of a new class of polymer networks, Reactive Polymers, 1990, Vol. 13, pp. 27-42.

15. . Ajvazov B.V. Praktikum po chimii poverhnostnyh javlenij i adsorbicii [Workshop on the chemistry of surface phenomena and adsorption], Moscow: Vysshaja shkola Publ., 1973, 208 p.

16. . Ivashhenko A.L., Bojchenko A.P., Loginova L.P. Pervoe soobshhenie o vozmozhnosti odnovremennogo izokraticeskogo razdeleniya vodo- i zhirorastvorimyh vitaminov metodom VJeZhCh [The first message about the possibility of the simultaneous isocratic separation of water - and fat-soluble vitamins by HPLC], Visnik Harkivs'kogo nacional'nogo universitetu, 2007, Vol. 770, No 15(38), pp. 82-89.

17. . Dmitrienko S.G., Smirnova S.V., Hatunceva L.N. et al. Metody razdeleniya i koncentrirovaniya [Methods of separation and concentration], Moscow: Moscow State university Publ, 2008, 197 p.

Ланин Сергей Николаевич – д.х.н., проф., зав. лабораторией адсорбции и хроматографии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва.

Рычкова Светлана Александровна – аспирант кафедры физической химии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Виноградов Артем Евгеньевич – к.ф.-м.н., научн. сотр. лаборатории адсорбции и хроматографии кафедры физической химии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Вирясов Михаил Борисович – к.х.н., вед. научн. сотр. лаборатории адсорбции и хроматографии кафедры физической химии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Lanin Sergey N. – Dr. Sci., professor, head of the laboratory of adsorbition and chromatography Moscow State University, Moscow, e-mail: snlanin@phys.chem.msu.ru

Rychkova Svetlana A. – post-graduate student of department of Physical Chemistry, Moscow State University, Moscow, e-mail: svetlanrychkov@yandex.ru

Vinogradov Artem E. – Ph. D., Researcher of the laboratory of adsorbition and chromatography Moscow State University, Moscow.

Viryasov Mikhail B. - Ph. D., Senior Researcher of the laboratory of adsorbition and chromatography Moscow State University, Moscow.

Востров Иван Александрович – инженер, лаборатории адсорбции и хроматографии кафедры физической химии, Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва.

Шаталов Игорь Алексеевич – директор ЗАО “Портлаб”, Москва

Vostrov Ivan A. – engineer, Moscow State University, Moscow

Shatalov Igor A. – Head of JSC “Portlab”, Moscow