



УДК 543:541

## Современные подходы к конструированию структуры полимерных сорбентов для препаративной хроматографии биологически активных веществ (обзор)

Писарев О.А., Ежова Н.М.

*Институт Высокомолекулярных Соединений РАН, Санкт-Петербург*

### Аннотация

Обзор посвящен рассмотрению новейших тенденций в дизайне синтетических полимерных сетчатых сорбентов с четко очерченной направленностью применения – препаративная хроматография биологически активных веществ (БАВ). Такой выбор обусловлен всё возрастающей потребностью в хроматографических носителях, обладающих максимально высокой селективностью сорбции целевых БАВ.

В основу классификации сорбентов заложены функциональные свойства, которые задаются условиями синтеза: структурная организация, равновесная и кинетическая проницаемость, внутренняя поверхность раздела, распределение пор и т.д. Изложены теоретические представления о влиянии условий синтеза на формирование сетчатой структуры полимерных сорбентов для препаративной хроматографии БАВ

### Введение

Высокоэффективные сорбенты для препаративной хроматографии БАВ должны характеризоваться следующим комплексом свойств:

- относительной жёсткостью структур, высокой гидродинамической протеканостью и устойчивостью к действию гидролизующих агентов и механических напряжений.
- высокой сорбционной ёмкостью и быстрой кинетикой сорбции целевого продукта или примесей.
- возможностью осуществления полной обратимости сорбции целевых компонентов в относительно «мягких» физико-химических условиях селективной элюции и получения высококонцентрированных элюатов.
- лёгкостью регенерации и возможностью реализации многократно повторяющихся хроматографических процессов.

Низкая цена, высокая селективность сорбции, максимальный выход, чистота целевого продукта являются главными требованиями препаративной хроматографии (рис.1) в отличие от аналитической хроматографии, где экспериментатор стремится достигнуть максимальной эффективности разделения многокомпонентной смеси за

минимальное время. В матрице сорбента для препаративной хроматографии, во-первых, нежелательно присутствие функциональных групп, способных к необратимым взаимодействиям с молекулами целевого БАВ и неспецифическим взаимодействиям с примесями; во-вторых, должно быть достаточное количество пор с хорошей кинетической проницаемостью; в-третьих – сорбенты должны обладать высокой химической и биологической стойкостью. Сочетание такого комплекса свойств достигается знанием основных закономерностей формирования сетчатых структур полимерных сорбентов, а также отчетливым представлением о физико-химических и биологических свойствах целевого БАВ. Следует отметить, что использование физического подхода к вопросам формирования пористой структуры сетчатых полиэлектролитов, основанного на данных о совместимости полимеров и микрорасслоении фаз, о формировании пор инертными наполнителями дало значительно лучший результат, чем традиционный химический подход, основанный на изучении реакционной способности сомономеров.



Рис.1. Критерии эффективности препаративных разделений БАВ

## Обсуждение результатов

### 1. Влияние условий синтеза на формирование структуры сетчатой полимерной матрицы.

В настоящее время при разработке методов синтеза полимерных сорбционных материалов фактически развиваются два основных направления: синтез сорбентов, способных главным образом к электростатическим взаимодействиям с сорбируемыми БАВ (т.е. монофильных ионитов) и синтез амфифильных ионитов, способных к смешанному (в основном электростатическому и гидрофобному) взаимодействию [1-3].

Реализация этих направлений основана на проведении реакций сополимеризации в присутствии различных инертных неполимеризующихся веществ (разбавителей), влияющих на морфологию образующихся сополимеров [4,5]. Разбавители могут оказаться термодинамически "хорошими" растворителями

для образующихся сополимеров, и тогда они обуславливают набухание сополимеров на всех стадиях их образования. В присутствии разбавителя, который является термодинамически “плохим” растворителем, образующийся сополимер оказывается практически ненабухающим в жидкой фазе полимеризующейся системы. Такая система становится метастабильной (пересыщенной), и в ней самопроизвольно выделяются дисперсные частицы новой фазы. Пересыщение, т.е. степень отклонения метастабильного состояния системы от термодинамического равновесия, является фактором, определяющим дисперсность и, соответственно, размер частиц выделяющейся новой фазы. Показано, что в зависимости от стадии полимеризации разбавитель играет роль как хорошего, так и плохого растворителя [6-8].

Новая фаза всегда возникает из переходных метастабильных состояний, однако только в определённых условиях этот процесс сопровождается развитием гетерогенной пористой пространственной структуры. По существу, пористость является следствием того, что объём полимерной фазы значительно меньше объёма, в котором первоначально были распределены мономеры. Стремление системы к минимуму свободной энергии приводит к тому, что в определённых условиях при образовании интрамолекулярных (внутриглобулярных, внутрицепных) полимерных сшивок образуется непрерывная пространственная структура, обладающая определённой пористостью. Чем больше при прочих равных условиях разбавление исходной смеси мономеров разбавителем, тем больше должна быть площадь поверхности пор синтезируемого полимера. Вместе с тем чрезмерный избыток разбавителя препятствует созданию непрерывной пористой полимерной структуры – в этом случае возникающий сополимер выделяется в виде высокодисперсных несвязанных друг с другом частиц. Показано, что снижение величины доли мономеров в полимеризационной смеси ( $P_m$ ) до 0.1-0.2 обеспечивает образование разбавленного раствора слабозаимосвязанных первичных полимерных глобул [9-11].

Однако, пористость сетчатых сополимеров в сухом состоянии (макропористость) определяется не только типом и количеством разбавителя, но и жёсткостью образованной полимерной структуры, её способностью противостоять при удалении разбавителя силам капиллярной контракции. При низких содержаниях сшивающего агента возникает достаточно эластичная полимерная структура, которая не способна сопротивляться этим силам [12,13]. Именно поэтому для получения макропористых сополимеров, необходимо определённое содержание сшивающего агента. С повышением степени сшивки возрастает гетерогенность структуры и её устойчивость по отношению к действию сил капиллярной контракции, в результате чего сополимер приобретает способность сохранять часть пористости в сухом состоянии. Чем выше содержание сшивающего агента в сополимере, тем жёстче его структура, тем выше суммарный объём пор, сохраняемый сополимером при удалении растворителя.

Необходимо ещё раз отметить, что осадительная радикальная полимеризация (в плохом растворителе) сопровождается не только химическим превращением мономеров в полимерные макромолекулы, но и структурной эволюцией полимеризующейся смеси в широких пределах – от возникновения дисперсных надмолекулярных частиц до формирования монолитного полимерного тела. Совокупность полученных экспериментальных результатов по кинетике сополимеризации позволяет предложить следующую схему формирования гетерогенной структуры полимерных сорбентов (рис .2 ).

Полимеризация начинается в гомогенном растворе с образованием свободных радикалов за счёт распада инициатора. Свободные радикалы вступают в реакцию с

мономерами и инициируют рост полимерной цепи с активными радикалами на конце. В начальных стадиях растущая цепь находится в развёрнутом виде, но по мере роста и достижения критической молекулярной массы, зависящей от термодинамического качества растворителя - разбавителя, переходит в новую фазу (конденсированное состояние) и становится центром дальнейшего процесса полимеризации. При этом возможно протекание двух конкурирующих процессов – внутри и межмолекулярное сшивание конденсированных полимерных цепей [14-16]. Это в свою очередь будет зависеть как от концентрации образующихся надмолекулярных частиц в растворе, так и от природы растворителя. К тому же агрегация и сворачивание полимерных цепей приводит к ускорению химических процессов сшивания внутри надмолекулярных частиц, что в свою очередь приводит к ускорению синерезиса [6,7,17]. Это ещё более усугубляет локальную агрегацию надмолекулярных частиц и в итоге вместо равномерно распределённых в объёме сополимера сшивающих узлов, образуется сетка с густосшитыми глобулярными участками и очень рыхлыми слабосшитыми эластичными прослойками, что и определяет гетерогенность полученного сшитого полимера.

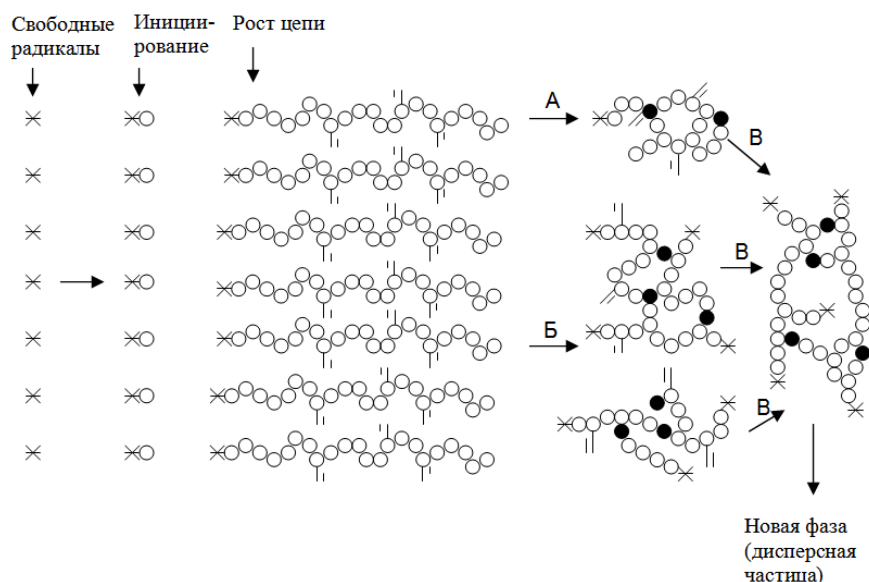


Рис.2. Схема формирования полимерной сетки в условиях осадительной трехмерной радикальной сополимеризации в растворе

## 2. Гелевые, гетеросетчатые, макропористые и макросетчатые сорбенты.

Гелевая структура сополимеров возникает при полимеризации с использованием взаиморастворимых мономеров, каждый из которых является хорошим растворителем для образующегося сополимера. При дегидратации гелевые сорбенты образуют непроницаемые даже для газов блочные структуры. В настоящее время для препаративной хроматографии БАВ сорбенты с гелевой структурой полимерной матрицы используются только при соответствующей модификации поверхности (см. раздел по пелликулярным сорбентам), ввиду невысокой проницаемости этих структур для крупных молекул и необратимости сорбции. Вместе с тем, одной из выгодных технологических особенностей гелевых сорбентов является возможность получения материалов в виде гранул правильной сферической формы при проведении суспензионной сополимеризации в среде, в которой не растворимы мономеры [18].

Реальную структуру сорбентов отражает возникновение неоднородностей в полимерной сетке (гетерогенная структура). Как уже отмечалось, этот тип пористости возникает при синтезе сетчатых полиэлектролитов с использованием инертных разбавителей в процессе сополимеризации. Сорбенты такого типа содержат уплотнённые и разреженные участки полимерной сетки и носят название гетеросетчатых [19,20]. Гетерогенная пористость присуща матрицам, формирующихся в условиях достаточно высокой сольватации образующихся полимерных цепей.

Показано, что диссоциация ионогенных групп гетеросетчатых сорбентов в основном определяется локальной плотностью зарядов матрицы. В гетеросетчатом полиэлектролите имеются области с большим количеством поперечных связей и области, в которых их настолько мало, что свойства данного сетчатого полимера подобны свойствам линейного аналога. В предельной ситуации (вне зависимости от степени дисперсности) полиэлектролитная сетка может содержать участки, сравнимые с единичными полимерными цепями, свойства которых, например содержание и структура воды, энергетические характеристики обменных групп и т.д., могут существенно отличаться от свойств всего ионита. Тогда собственно структуру гетеросетчатого сорбента можно трактовать как двухфазную структурно-сегрегированную систему, в которой сосуществуют подвижные и неподвижные участки, причем их соотношение можно варьировать, изменяя количество сшивающего агента и термодинамическое качество растворителя в полимеризационной смеси[21].

Набухание гетеросетчатых сорбентов определяется совокупностью двух факторов: 1) протяженностью участков цепей между поперечными мостиками в разряженных областях; 2) пространством, возникающим в результате плотной упаковки сшитых микрогелевых частиц в сетчатую структуру. Вклад в набухание этих двух факторов зависит от условий проведения сополимеризации. Длина участков цепей между сшивками уменьшается с увеличением содержания поливинильного соединения и концентрации основного мономера. Влияние второго фактора определяется началом микрорасслоения полимеризующейся системы и в конечном итоге – характером структурирования микрогелевых частиц[22,23].

Для ряда гетеросетчатых ионообменных сорбентов (как катионитов, так и анионитов) обнаружено аномальное увеличение коэффициента набухания сорбентов с ростом количества сшивающего агента [22 -26].

Исходя из данных о набухании и изменении химических сдвигов протонов воды и из того факта, что применение сольватирующих или разрушающих гидрофобные взаимодействия растворителей приводило к образованию сшитых ионитов, характеризующихся традиционной зависимостью влагоемкости от содержания сшивающего агента, было показано, что аномальное увеличение влагоемкости сополимеров с ростом количества сшивающего агента связано с увеличением числа межмолекулярных контактов в микрогелях полимерной сетки, в результате которых микрогели «поджимаются» за счет гидрофобных взаимодействий («вторичная» пористость) [22]. Суммарная пористость сетчатой системы увеличивается. В значительной мере это проявляется в условиях синтеза, способствующих увеличению вероятности изоляции двойных связей сшивающего агента. Термин вторичная пористость введен для того, чтобы подчеркнуть тот факт, что этот тип пористости образуется не за счет ковалентного сшивания полимерной сетки, а вследствие физических (в данном случае гидрофобных) сил взаимодействия внутри микрогелевых образований полимерного сорбента и может быть разрушен

при изменении физико-химических условий сополимеризации и свойств внешней среды.

Если образующийся сополимер не набухает в применяемом разбавителе, то при достаточно высоком содержании кросс-агента образуется жесткая пористая структура, сохраняющая пористость в сухом состоянии (так называемые макропористые сорбенты). Для макропористых сорбентов характерна предельная неоднородность и высокая кинетическая проницаемость для БАВ по транспортным каналам полимерной сетчатой структуры.

Макропористые сорбенты достаточно легко получают в виде сферических частиц. Следует отметить, что основные мономеры для синтеза широкого круга сорбентов – это стирол и дивинилбензол. Данные гидрофобные мономеры легко суспензируются, например, в водно-солевых растворах. Что касается сополимеров с гетеросетчатой структурой, получаемых на основе гидрофильных мономеров, то при их синтезе в виде сферических частиц возникают достаточно серьезные технологические проблемы. Эти трудности можно преодолеть при суспензировании не полимерной смеси, а фор-полимера с определенной вязкостью [27]. Однако, ранее было показано [28-31], что пористые гранульные сополимеры, полученные суспензионной сополимеризацией, имеют, как правило, плотный поверхностный слой – непористую оболочку, уменьшающую проницаемость сорбента по сравнению с сополимерами, полученными в массе. Поверхностная оболочка, более однородная по структуре, чем внутренние области зерна, была обнаружена в гранульных образцах сополимеров различной химической природы: (стирол-дивинилбензол, метакриловая кислота - глицидилметакрилат) .

Описанные типы полимерных сетчатых структур представляют собой макросетчатые структуры, если они получены с использованием длинноцепных сшивающих агентов, которые характеризуются значительными расстояниями между винильными группировками [32]. Гетеросетчатые, макропористые, макросетчатые сорбенты следует считать бипористыми, если для сорбируемых молекул доступны сорбционные центры как в областях уплотнения полимерной матрицы, так и на „поверхности“ пор в межглобулярном пространстве [33-35].

С использованием гетеросетчатых структурно сегрированных полимерных сорбентов разработан ряд модификаций препаративных хроматографических процессов выделения и очистки биологически активных веществ.

Резко повысить степень содержания основного вещества в конечных препаратах позволяет использование двухстадийных хроматографических систем [36,37].

Целью первой стадии является реализация режимов фронтальной хроматографии, при которых наблюдается максимальная термодинамическая селективность сорбции-десорбции целевого БАВ и родственных ему по химической структуре веществ из многокомпонентной смеси или культуральной жидкости ("квазиаффинная" стадия, но в отличие от аффинной хроматографии реализуемая с равновесными сорбционными емкостями, достигающими до 0.5-2.0 грамм БАВ на грамм сорбента). Элюат первой хроматографической колонки, содержащий уже только целевое БАВ и родственные ему компоненты, подается на вторую хроматографическую колонку, где осуществляется процесс малого термодинамического "сдвига" физико-химических параметров элюирующего раствора (рН, ионной силы, концентрации органического растворителя и т.д.). При этом примеси концентрируются в хроматографической зоне, отличной от зоны, занимаемой целевым компонентом, и в зависимости от типа используемого

хроматографического процесса элюируются либо перед, либо после хроматографического фронта целевого БАВ.

Вторая хроматографическая стадия успешно реализуется только на сетчатых биосорбентах, обладающих эффективным коэффициентом диффузии ( $\bar{D}$ ) по целевому БАВ порядка  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  см<sup>2</sup>/сек [38]. Метод “малых сдвигов” использован для получения субстанций противоопухолевых антибиотиков рубомицина, доксорубицина, карминомицина, по степени чистоты удовлетворяющим Фармакопее США, XXIII.

Известно, что по сравнению с противоионами, гетерогенный массоперенос коионов характеризуется значительно большими величинами эффективных коэффициентов диффузии, так как противоионы перемещаются от одной функциональной группы к другой, преодолевая энергетический барьер взаимодействия фиксированный ион - противоион, в отличие коионов, которые перемещаются в матрице ионитов с крайне низкими энергетическими затратами. Поэтому при условии равновесного обострения границ стационарность фронтов хроматографических зон коионов будет достигаться быстрее.

Такую кинетическую ситуацию наиболее легко реализовать при взаимодействии органических анионов с слабокислотными карбоксильными катионитами. В этом случае селективная сорбция должна в основном определяться неионным взаимодействием сорбент-сорбат, а селективная десорбция - ионизацией кислотных групп сорбента и сорбата, и, соответственно, переходом сорбированного органического иона в состояние коиона. Кроме того, изучение взаимодействия органических анионов с карбоксильными катионитами полезно и в технологическом плане, так как использование полимерных анионитов в препаративной хроматографии сильно затруднено из-за сложности и длительности регенерации, незначительной устойчивости полимерной структуры к действию гидролизующих агентов, а также малых значений величин равновесных коэффициентов распределения по целевым анионам. Метод коионно-гидрофобной хроматографии применен для очистки органического аниона - антибактериального антибиотика фузидиевой кислоты [39,40].

Антибактериальный антибиотик эремомицин и главный компонент пчелиного яда - мелиттин получены в высокоочищенном состоянии методом фронтально-вытеснительной хроматографии, где образование резких фронтов хроматографических зон разделяемых компонентов достигается подбором соответствующего вытеснителя [41-44].

Ещё одним подходом к оптимизации препаративных хроматографических разделений биологически активных веществ является реализация различий в кинетике сорбции для отдельных компонентов сорбтива с использованием эффектов инверсии селективности сорбции. Для конкретных наборов равновесных и кинетических характеристик сорбтивов могут быть определены области неравновесных режимов динамики сорбции, при которых дистанция между разделяемыми компонентами значительно увеличивается при существенном сокращении времени эксперимента по сравнению с традиционным принципом максимального различия коэффициентов распределения в рамках равновесного хроматографического процесса [45-49].

## **2. Сверхсшитые полимеры**

Новый подход к синтезу полимерных хроматографических носителей был разработан В.А. Даванковым и М.П. Цюрупой [50]. Отказавшись от проведения традиционной реакции сополимеризации мономеров, они провели сшивание цепей готового полистирола в растворе или набухшем состоянии бифункциональными

агентами. Таким образом был получен принципиально новый класс сорбентов (Стиросорбы), обладающих необычными свойствами, обусловленными нетрадиционным способом синтеза этих полимеров.

Принципиально важным является тот факт, что в данном случае трехмерная сетка полимера формируется в сольватированном состоянии, поэтому, полимерные цепи фиксируются сшивками в ненапряженных конформациях, и вероятность возникновения локальных внутренних напряжений в набухшей сетке минимальна. Такой ситуации способствует и равномерное распределение сшивок. В качестве сшивающих агентов для полистирола использовали 4,4'-бис-(хлорметил)-дифенил, *p*-ксилилендихлорид, *p,p'*-бис-(хлорметил)-1,4-дифенил - бутан, монохлордиметиловый эфир и диметилформаль. Эти соединения реагируют с полистиролом по реакции Фриделя-Крафтса в присутствии катализатора (хлористого олова)

Использованные сшивающие агенты обладали ограниченной конформационной подвижностью, причем наиболее жесткие структуры образовывались в случае использования монохлордиметилового эфира [51]. В условиях реакции весь сшивающий агент расходовался полностью, что позволяло рассчитать степень сшивки сорбента (из мольного соотношения полистирола и сшивающего агента) как долю поперечных мостиков от общего числа структурных элементов сетки - незамещенных фенильных колец и сшивок. Рассчитанная таким образом степень сшивки составляла 100%, то есть теоретически каждое фенильное кольцо полистирольной цепи было вовлечено в образование мостика.

При описании данного класса сорбентов также используют термин «макросетчатость», означающий, что в этих структурах длина сшивающих мостиков существенно превосходит размеры стандартного мостикообразователя – дивинилбензола. Макросетчатые Стиросорбы являются изопористыми структурами, что подразумевает равномерный характер распределения сшивок, который был экспериментально показан при исследовании структуры полимеров в набухшем состоянии методом гелепроникающей хроматографии.

В качестве исходного полимера может быть использован раствор линейного полистирола (первый тип структур). При этом конечный продукт представляет собой как бы единый блок геля, который разрушают затем до частиц неправильной формы.

Сферические частицы получают в том случае когда в качестве исходного полимера используют набухшие гранулы сополимера стирола с 0,3-2% дивинилбензола (второй тип структур) [52].

Показано, что пористость сополимеров резко увеличивается с ростом степени сшивки. Более пористые структуры образовывались при синтезе сополимеров в среде циклогексана. Увеличение молекулярной массы исходного полистирола приводило к увеличению внутренней поверхности получаемого полимера.

Следует отметить, что у этого класса сорбентов сшивающие агенты и основные полимерные цепи имеют близкую химическую природу и могут вступать в одни и те же реакции (сульфирования, нитрования, хлорметилирования и т.д.), что позволяло получать различные катиониты и аниониты на основе сверхсшитого полистирола. Макросетчатые изопористые полимеры стирола имеют контролируемое число сшивок и могут нести различные функциональные группы (сульфо-, фосфорно-, триметиламмониевые, фрагменты различных аминокислот и т.п.), так как легко вступают в полимераналогичные превращения. Помимо высокой емкости Стиросорбы выгодно отличаются высокими кинетическими характеристиками.



В настоящее время изопористые полимерные сорбенты успешно используются в биотехнологии для разработки аналитических и препаративных методов анализа, выделения, очистки и иммобилизации БАВ, а также в процессах водоподготовки [53].

Рассмотренные принципы создания полимерных сетчатых структур были распространены и на создание других типов полимерных сорбентов, которые в настоящее время используются при осуществлении препаративных хроматографических процессов с участием БАВ.

### **3. Монолитные сорбенты**

Интересный подход к синтезу сорбентов продемонстрирован в работах [54-58]. Синтез сорбентов на основе глицидилметакрилата и диметакрилата этиленгликоля был непосредственно проведен в стеклянных колонках различного диаметра. Диаметром 16 мм. Это так называемые “molded” (монолитные) сшитые полимеры для препаративной хроматографии. Для получения ионообменных хроматографических носителей проводилась модификация эпоксидных групп диэтиламино. Очевидно, что при подобном способе синтеза получающиеся «диски» - сорбенты полностью лишены объема между частицами. Вместе с тем, в работе [59] показано, что при уменьшении межчастичного объема резко уменьшается размывание хроматографических зон и улучшается диффузионный транспорт веществ. Показано, что при низком давлении подобные сорбенты хорошо протекаемы, при этом из экспериментов по фронтальному насыщению следует относительно небольшое размывание переднего фронта хроматографических зон разделяемых БАВ (бычьего сывороточного альбумина, миоглобина и кональбумина) [60].

Основной этап создания монолитных сорбентов состоит в радикальной полимеризации мономера и сшивающего агента при помощи инициатора в присутствии по крайней мере одного, а, обычно, двух порообразующих растворителей. Наряду с относительным количеством мономера и сшивающего агента, содержание порообразующих растворителей определяют размер микроглобул сорбента и структуру пор [61]. В настоящее время созданы монолитные сорбенты на основе полистирола и дивинилбензола, а также акриловой, метакриловой кислот и глицидилметакрилата и диметакрилата этиленгликоля. В качестве порообразователя чаще всего используется диоксид углерода [62]. Кроме того поровой объём сетчатых сополимеров может контролироваться при помощи температуры полимеризации [62] или температурно-чувствительных полимеров, например, таких как поли(N-изопропилакриламид) [63]. Наиболее пористые монолитные сорбенты с размером пор ~100 нм получены в настоящее время на основе акриламида и N,N' - метиленбисакриламида [60]. В настоящее время на основе монолитных материалов разработаны новые типы аффинных сорбентов, содержащие синтетические пептиды в качестве биоспецифических лигандов [55,57], по сравнению с белками пептиды обладают большей химической стабильностью и более низкой ценой.

### **4. Перфузионные носители**

Следует отметить, что, чем выше объём пор, тем ниже удельная поверхность сорбентов, и соответственно меньше сорбционная ёмкость. Для улучшения процессов гетерогенного массопереноса без заметного снижения сорбционной ёмкости разработаны так называемые перфузионные (гигапористые) сорбенты, в которых из-за отсутствия затруднений диффузионного транспорта веществ внутри матрицы сорбента эффективность разделительных процессов определяет

конвективная диффузия [64]. Большинство перфузионных сорбентов также являются макропористыми сетчатыми сополимерами, при этом отличительной их чертой является сочетание в пористой структуре транспортных пор очень большого размера (600 – 800 нм) с относительно малыми «диффузионными» порами (50-100 нм). Показано, что такая комбинация размеров пор облегчает «доставку» сорбируемого вещества к диффузионным порам и способствует резкому увеличению скорости гетерогенного массообмена. В отличие от полимерных сорбентов других типов эффективные коэффициенты диффузии сорбируемых БАВ в зёрна перфузионных сорбентов из-за конвективного лимитирования возрастают с увеличением скорости протекания подвижной фазы, что способствует лучшей производительности препаративных хроматографических процессов. В настоящее время разработана теория разделений веществ на перфузионных сорбентах, основанная на концепции «приращения» величин эффективных коэффициентов диффузии за счёт транспорта в гигапорах [65]. Показаны преимущества перфузионных сорбентов (главным образом, возможность осуществления препаративных процессов при высоких скоростях подвижной фазы) для выделения и очистки нестабильных белков [66,67].

Перфузионные хроматографические носители обычно получают суспензионной полимеризацией стирола и дивинилбензола (POROS R1, POROS R2, OLIGO R3 и др.) в форме сферических зёрен диаметром ~ 20 мкм. Гидрофилизация поверхности сорбентов осуществляется поливиниловым спиртом с последующей сшивкой при помощи глутарового альдегида [67].

### **5. Пелликулярные сорбенты**

В последние годы в препаративной хроматографии используются непористые (пелликулярные) иониты, получаемые нанесением на твердые инертные, сферические частицы слоя функциональных групп [68-70]. Структура промышленно выпускаемых в США пелликулярных ионитов представляет собой стеклянные шарики диаметром от 7 до 40 мкм, которые покрыты слоем сульфированного стирол-дивинилбензолного сополимера. Очевидно, что на таких сорбентах, очень быстро устанавливается сорбционное равновесие, поскольку диффузия в тонкий поверхностный слой занимает мало времени. В результате существует возможность проведения хроматографических процессов с высокими скоростями подвижной фазы. Кроме того, пелликулярные сорбенты являются удобными моделями для изучения как термодинамики, так и кинетики взаимодействия между растворённым веществом в подвижной фазе и лигандом стационарной фазы, так как в этом случае исключена диффузия внутрь сорбента. Однако, до сих пор не удалось преодолеть трудности, связанные с незначительными сорбционными ёмкостями пелликулярных сорбентов для целевых БАВ, особенно для белков с небольшими молекулярными массами

Один из последних подходов к созданию пелликулярных сорбентов и решению проблемы сокращения «диффузионного пути» сорбируемых молекул от поверхности зерна сорбента к сорбционным центрам предложен в работе [71]. Сущность метода заключается в химически иницируемой прививке звеньев метакриловой кислоты к предварительно синтезированным плотным гранулам сополимера 2-гидроксиэтилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата. Такие сополимеры с поверхностно-активным слоем обладают исключительно высокими кинетическими и сорбционными характеристиками по отношению к БАВ большой молекулярной массы: овальбумину, панкреатической рибонуклеазе. К недостаткам таких сорбентов можно отнести присущую реакциям прививки высокую гетерогенность, а также недостаточную воспроизводимость реакционных серий.

Перспективным способом получения пелликулярных сорбентов с регулируемой толщиной функционального слоя является методика, сущность которой заключается в избирательном гидролизе плотных сферических частиц на основе метилметакрилата и диметакрилатаэтиленгликоля. Получаемые по этой методике сорбенты могут иметь статическую обменную емкость от 0.5 до 4 мг-экв/g обладают высокими кинетическими характеристиками наряду с полной воспроизводимостью реакционных серий [72].

#### **6. Композитные материалы**

К числу бипористых полимерных сорбентов можно отнести и композитные материалы, т.е материалы, которые сочетают свойства двух и более компонентов. Например, так называемые целлосорбенты, получают путем иммобилизации в гранулы целлюлозы микродисперсных форм полиэлектролитов. Целлосорбенты представляют собой зёрна высокопроницаемых пористых инертных материалов (вискоза, ацетат целлюлозы) с иммобилизованными внутри них микрочастицами ионита [73,74]. Эти сорбенты характеризуются достаточно высокой проницаемостью, так как в материалах подобного типа пространство, не занятое частицами ионита и связующим материалом, образует систему транспортных пор, заполненных растворителем, по которым более или менее свободно диффундируют ионы практически любого размера. Трехмерная структура создает диффузионное сопротивление только в микрогранулах ионита, однако, это сопротивление мало из-за небольшого размера микрогранул (1-100мкм). Вместе с тем, применение этих сорбентов ограничено, так как они непригодны для работы с БАВ с молекулярной массой больше 20000.

#### **7. Сорбенты, настроенные на целевую молекулу**

В отечественной литературе описаны полимерные сорбенты на основе сополимера диэтилового эфира винилсульфоновой кислоты и акриловой кислоты с настроенным на сорбцию меди расположением макромолекул [75,76]. В этих работах было осуществлено взаимодействие линейного полимера и сорбируемых ионов в растворе, когда звенья макромолекул имели достаточную подвижность с последующей фиксацией оптимальных для сорбции конформаций путем сшивания комплекса полимера с металлом и удаления целевых ионов из сшитой системы.

Биологически активные молекулы, попадая внутрь полимерного сорбента, могут легко изменить конформацию и тем самым потерять биологическую активность. Именно поэтому в настоящее время во всем мире широкое распространение получил метод синтеза сорбентов, “настроенных” на целевой объект [77-83]. Связующие центры в таких сорбентах формируются путем особых условий синтеза, главной особенностью которого является присутствие “шаблона” (целевое вещество). Метод включает в себя образование как ковалентно, так и нековалентно связанного комплекса шаблон-мономер с последующей полимеризацией его в присутствии достаточно большого количества кроссагента. На следующей стадии комплекс шаблон-мономер разрушается обработкой сетки соответствующим реагентом, шаблон удаляется из сетки, а образовавшиеся в ней пустоты будут соответствовать размерам и конфигурации целевой молекулы (рис.3.).

Такая технология достаточно проста, эффективна и приводит к получению сорбентов, химически устойчивых, механически прочных, выдерживающих повышенные температуры.

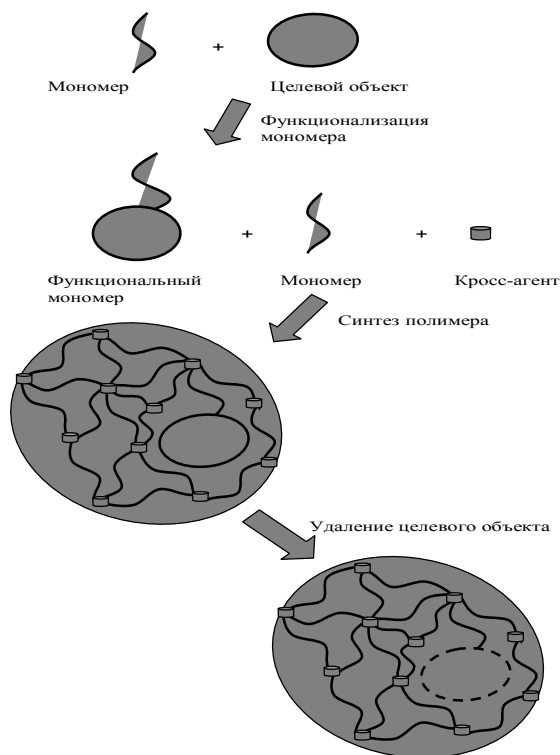


Рис.3. Схематическое представление получения настроенных сорбентов

Так, в частности, были синтезированы аналоги высокопроницаемых гетеросетчатых биосорбентов на основе метакриловой кислоты и диметакрилата этиленгликоля, настроенные на молекулу антибиотика класса макролидов – эритромицина А. Исследование сорбции эритромицина на настроенных полимерах продемонстрировало, что этот вид сорбентов позволяет существенно улучшить равновесные и кинетические характеристики сорбции, а также повысить сорбционную емкость и достичь полной элюции антибиотика в динамических условиях [84].

### Заключение

В настоящее время разработаны методы синтеза различных модификаций полимерных сорбентов для препаративной хроматографии БАВ. С использованием этих материалов и современных представлений о равновесии, кинетики и динамики сорбции могут быть решены многие задачи препаративного и промышленного получения целевых компонентов из продуктов микробиологического и химического синтеза, а также из растительного и животного сырья.

*Работа проведена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 07-03-00786).*

## Список литературы

1. Boshetti E. Advanced sorbents for preparative protein separation purposes. // *J. of Chromatogr.* 1994. V.658A. № 2. P.207-236.
2. Unger K.K. Packing and Stationary Phases In *Chromatographic Techniques*. 1990. New York. 252P.
3. Ежова. Н.М., Тощевикова А.Ю., Писарев. О.А. Структура и свойства полифункциональных сорбентов для ионно-гидрофобной хроматографии биологически активных веществ.// *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2001.Т 1. № 5. С.833-837.
4. Millar J.R., Smith D.G., Marr W.E., Kressman T.R. Solvent-modified polymer networks. // *J. Chem. Soc.* 1963. V.32. №1. P.21-225.
5. Kun K.A., Kunin R. The pore structure of macroroteticular ion- exchange resins.// *J/Polym/Sci.* 1967. V.43. №16. P.1457-1469.
6. Душек К. Структура и упругие свойства полимерных сеток. // *Российский химический журнал*. 1986. Т.31. №1. С.23-28.
7. Dusek K., Shoeltens B., Tiemersma – Thoo C. Theoretical treatment of network formation by multistage process.// *Pol. Bull.* 1987. V.17. № 3. P. 397-414.
8. Пельцбауер З. Морфология полимеров, получаемых при осадительной полимеризации и сополимеризации. // В кн. *Физико-химические свойства и синтез высокомолекулярных соединений*. Киев. 1976. с.76-84.
9. Тагер А.А., Малько Е.И., Думпис Ю.Я и др. Влияние количества растворителя, присутствующего при синтезе и его термодинамического качества на пористую структуру сетчатого катионита. // *Высокомолек. соед. А.* 1985. Т.27. №11. С.2362-2370.
10. Малько Е.И., Тагер А.А., Воробьев В.П. и др. Влияние содержания сшивающего агента на пористую структуру и свойства карбоксильного катионита. // *Высокомолек. соед. А.* 1985. Т.27. №11. С.2362-2370.
11. Самсонов Г.В., Муравьева Т.Д., Писарев О.А. Влияние неоднородности структурно сегрегированного полиэлектролита, включающего метакриловую кислоту и диметакрилат этиленгликоля, на сорбцию органических ионов. // *Ж. прикл. хим.* 1991. Т.64. №3. С.692-694.
12. Sederel W.L., De Yong Styrene-divinylbenzene copolymers. Construction of porosity in styrene-divinylbenzene matrices. // *J. App. Pol. Sc.* 1986. V.32. №6. P. 35-48.
13. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Бернотайтите М.В. и др. Полная обратимость сорбции биологически активных веществ сильноштитыми гелевыми карбоксильными катионитами. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1996. Т.32. №3. С.281-287.
14. Rosenberg J.E., Flodin P. Copolymerisation of trimethylpropane trimethylacrylate. // *Macromolecules.* 1987. V20. №7. P.1518-1524.
15. Берлин А.А. Формирование и свойства сетчатых полимеров на основе полиреакционноспособных олигомеров. // *Высокомолек. соед. А.* 1978. Т.20. № 3. С.483-493.
16. Сальников В.А., Больбит Н.М. Два типа гелей при полимеризации бифункциональных мономеров. // *Высокомолек. соед. А.* 1988. Т.30. № 12. С.2551-2555.
17. Иржак В.И., Розенберг Б.А., Ениколопан Н.С. Сетчатые полимеры (синтез, структура, свойства). Москва. Наука. 1979. 248с.

18. Тростянская Е.Б., Лосев И.П., Тевлина А.С. Синтез полимерных электролитов и их применение // Успехи химии. 1958. Т.27. №9. С.1104-1100.
19. Кузнецова Н.Н., Рожецкая К.М., Москвичев Б.В. и др. Карбоксильные сетчатые полиэлектролиты как сорбенты для выделения биологически активных веществ. // Высокомолек. соед. А. 1976. Т.18. № 2. С.355-360.
20. Шатаева Л.К., Кузнецова Н.Н., Елькин Г.Э. Карбоксильные катиониты в биологии. Л.: Наука, 1979. 286с.
21. Писарев О.А., Муравьева Т.Д., Самсонов Г.В. Энергетическая неравноценность карбоксильных групп сшитых гетерогенных полиэлектролитов. // Высокомолек. соед. Б. 1986. Т.28. №4. С.16-20.
22. Писарев О.А., Добродумов А.В., Кольцов А.И. и др. Вторичная пористость и состояние воды в гетеросетчатых карбоксильных полиэлектролитах. // Высокомолек. соед. Б. 1987. Т.29. №1. С.4-8.
23. Самсонов Г.В., Писарев О.А., Муравьева Т.Д. Химическая стабильность и набухание гетеросетчатых полимеров на основе акриловой и метакриловой кислот и диметакрилата этиленгликоля. // Высокомолек. соед. 1992. Б. Т.33. №3. С. 59-62.
24. Рожецкая К.М., Калинина Н.А., Папукова К.П., Химические и структурные превращения при радикальной сополимеризации метакриловой кислоты и N, N-этилендиметакриламида в растворе на начальной стадии формирования сетчатых структур. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т.51. №12. С.2532-2536\
25. Мишаева Р.Н., Ежова Н.М., Папукова К.П. Электрохимические и сорбционные свойства сетчатых сополимеров диметиламиноэтилметакриламида и этилендиметакриламида. // Ж. прикл. химии. 1994. Т.67. №4. С.613-617.
26. Вольский В.С., Ежова Н.М., Самсонов Г.В. Влияние сшивающего агента на сорбционную емкость и селективность гетеросетчатых катионитов. // Ж. прикл. химии. 1985. Т.58. №11. С.2133-2136.
27. Ежова Н.М., Чернова И.А., Погодина Т.Е. и др. Влияние природы сомономера на структуру сетчатых биосорбентов, включающих непредельные ароматические кислоты. // Сб. Ионный обмен и хроматография. Наука. 1984. С.38-40.
28. Чернова И.А., Погодина Т.Е., Шатаева Л.К. и др. Электронная микроскопия гетеропористых биосорбентов. // Высокомолек. соед. А. 1980. Т.22. №11. С.2403-2409.
29. Влодавец И.Н., Петри Д.Н., Русанов А.И. Термодинамические условия формирования глобулярно-ретикулярных и целлюлярных конденсационных структур. // Коллоидн. Ж.. 1991. Т.53. №2. С.211 – 215.
30. Королев Г.В., Могилевич М.М., Голиков И.В. Сетчатые полиакрилаты. Москва. Химия. 1995. 275с.
31. Радзевичюс К.И., Шатаева Л.К., Крылова В.В. и др. Влияние количества сшивающего агента на морфологию сополимеров акриловой кислоты и дивинилбензола. // Высокомолек. соед. Б. 1983. Т.25. №6. С.419-425.
32. Калюжная Л.М., Папукова К.П., Надежин Ю.С. и др. Сетчатые сополимеры стирола и бис-(n-винилфенил)алканов. // Высокомолек. соед. Б. 1977. Т.19, с.617-620.
33. Тошевилов В.П., Тошевилова А.Ю., Писарев О.А. Метод оценки характерных времен диффузии из данных по кинетике сорбции органического иона бипористым гетерогенным сорбентом. // Журн. физ. химии. 2006. Т.80. №2. С.303-30.
34. Toshchevichov V.P., Toshchevichova A.Y., Pisarev O.A. Experimental and Theoretical Studies of Sorption Kinetics of the Anthracycline Antitumor Antibiotic Rubomycin on the Carboxylic Heterogeneous Sorbent. Bidisperse Model of Sorption Kinetics. // J. of Chromatogr. 2006. V.1123. № 1. P.121 -129.

35. Sun G.U., Shi Q.-H., Sun Y. Novel biporous polymeric stationary phase for high-speed protein chromatography// *J. Chromatogr. A* .2004. V. 1061, №1, p. 159-165.
36. Самсонов Г.В., Писарев О.А. Новые принципы препаративной ионообменной хроматографии и их применение для выделения, очистки и суперочистки антибиотиков. // *Прикл. биохимия и микробиол.* 1992. Т.28. №1. С.5-17.
37. Самсонов Г.В., Писарев О.А. Новый подход к препаративной хроматографии низкого давления и суперочистка антибиотиков антрациклиновой группы. // *Доклады АН СССР.* 1991. Т.319. № 12. С.408-412.
38. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Лукьянова О.Н. Взаимодействие структурно сегрегированных карбоксильных катионитов с противоопухолевым антибиотиком даунорубицином. // *Ж. прикл. хим.* 1991. Т.64. № 6. С.1239-1246.
39. Писарев О.А., Ежова Н.М., Веселова А.В. Сорбция фузидиевой кислоты полифункциональными карбоксильными сорбентами. // *Ж. физ. хим.* 1998. Т.72. №10. С.1909-1911.
40. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Сучкова Г.С. и др. Коионно-гидрофобное взаимодействие фузидиевой кислоты с карбоксильными биосорбентами. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1998. Т.34. №3. С.242-244.
41. Ежова Н.М., Юнышева С.Г., Писарев О.А. Взаимодействие человеческого сывороточного альбумина с полифункциональными карбоксильными сорбентами. // *Ж. прикл. хим.* 1998. Т.71. №6. С. 991-995.
42. Писарев О.А., Юнышева С.Г., Самсонов Г.В. Фронтально-вытеснительная хроматография мелиттина на сетчатых полимерных ионитах. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1998. Т.34. №5. С.480-484.
43. Писарев О.А., Глазова Н.В. Применение новых методов препаративной хроматографии низкого давления для повышения качества лекарственных препаратов. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2001. Т 1. № 2. С. 415-423-424.
44. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В. Кинетически селективное разделение веществ - новое развитие хроматографического метода. // *ДАН.* 1998. Т.362. №1. С.365-367.
45. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В., Глазова Н.В., Быченкова О.В. Кинетическое регулирование селективности сорбции в жидкостной хроматографии низкого давления. // *ДАН.* 1998. Т.362. №3. С.362-365.
46. Pisarev O. A., Glasova N. V. Choice of Procedures for Preparative Chromatography. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V.1018. № 2. P. 127-136.
47. Polyakova I. V., Kolikov V. M., Pisarev O.A. Mass Transfer Effects in Preparative Chromatography of Antibacterial Antibiotic Eremomicin on Polymeric Sorbents. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V.1006. № 1-2. P.251-260.
48. Toshchevikova A.Y., Pisarev O.A. Optimisation of the Experimental Conditions in Preparative Displacement Chromatography of Antitumors Antracycline Antibiotics on Carboxylic Sorbents. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V. 1006. № 1-2. P. 121-126.
49. Polyakova I. V., Pisarev O. A. The Influence of the Polyfunctional Interactions between Organic Zwitter-ion Eremomycin and Carboxylic Cationits on Forming Concentration Front. // *J. of Chromatogr.* 2005. V.1092. № 1. P.135-141.
50. Даванков В.А., Рогожин С.В., Цюрупа М.П. Новый подход к созданию равномерно сшитых макросетчатых полистирольных структур // *Высокомолек. Соед. Б* 1973. №6. С.463-466.
51. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of porous hypercrosslinked polystyrene sorbents Styrosorb. // *Pure and Appl. Chem.* 1989. V.61. P.1881-1888.

52. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of hypercrosslinked polystyrene the 1<sup>st</sup> representative of a new class of polymer networks. // *Reactive Polymers*. 1990. N.1. V.13. P.27- 42.
53. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Hypercrosslinked polymers basic principle of preparing the new class of polymeric materials. // *Reactive Polymers*. 2002. V.53. N.1. P.193-203.
54. Tennikova T.B., Svec F. High – performance membrane chromatography: highly efficient separation method for protein in ion-exchange.// *J. Chromatogr. A*.1993. V. 646 № 2. P.279-288.
55. Tennikova T.B., Bleha M., Svec F. et al. High – performance membrane chromatography of proteins: a novel method of protein separation. // *J. Chromatogr A*. 1991. V.555. № 1. P.97-107.
56. Svec F., Frechet J.M. “Molded” rods of macroporous polymer for preparative separations of biological products. // *Biotechn.Bioeng*. 1995. V.48. № 5. C.476-480.
57. Vlach E., Ostryanina N.D., Jangbauer A. et al. Use of monolithic sorbents modified by directly synthesized peptides for affinity separation of recombinant tissue plasminogen activator (t-PA). // *J.Biotechnology*. 2004. V.107. № 2. P.275-284.
58. Wang Q.C. Svec F., Frechet J. M. Macroporous polymeric stationary phase rod as continuous medium for reversed- phase chromatography. // *Anal. Chem*. 1993. V.65. № 11. P.2243-2248.
59. Meyers I.L., Liapis A.I. Network modeling of the convective flow and diffusion of molecules adsorbing in monoliths and in porous particles packed in a chromatographic column.// *J. Chromatogr. A*. 1999. V.852. №1. C.3-12.
60. Ghose S., Cramer S. M. Characterization and modeling of monolithic stationary phases: application to preparative chromatography.// *Journal of Chromatogr. A*. 2001. V.928. № 1. P.13-23
61. Gritti F., Piatkowski W., Guiochon G. Study of the mass transfer kinetics in a monolithic column.// *Journal of Chromatogr. A* 2003.. V.983. № 1. P.51-71.
62. Sun Y., Qiu Z., Hong Y. Application of nonionic temperature sensitive hydrogel for concentration of protein aqueous solution. // *Chin. J. Pol. Sci*. 1992.V.10. № 3.P.311-318.
63. Wu X.S., Hoffman A.S., Yager P. Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly (N – isopropylacrylamide) hydrogels.//*J. Pol. Sci*. 1992. V.30.№ 1.P.2121-2129.
64. Liapis A.I. Affinity adsorption separation in high - performance liquid chromatography and perfusion chromatography systems. The effect of pore- size distribution and fractal pores on column performance. // *Math. Modeling. Sci. Comput*. 1993. V.1. P.397-414.
65. Rodrigues A. Permeable packing and perfusion chromatography in protein separation. // *Journ. of Chromatogr. B*.1997. V.699. № 2. P.47-61.
66. Whitney L., McCoy M., Gordon N et al. Characterization of large pore polymeric supports for use in perfusion biochromatography// *J.Chromatogr. A*. 2000. V.807. №2. C.165-174
67. Carcia M.C., Marina M.C., Torre M. Perfusion chromatography: an emergent technique for the isolation of food proteins. // *J.Chromatogr. A*. 2000. V.880. №2. C.169-187.
68. Buchmeister M.R. New synthetic ways for the preparation of high performance liquid Chromatography.// *J. of Chromatogr. A*. 2001. V.918. № 2. P.233-266.
69. Leonard M. New packing materials for protein chromatography. // *J. of Chromatogr*. 1997.B. V.699. № 1. P.3-27.



70. Adachi T., Isobe E. Fundamental characteristics of synthetic adsorbents intended for industrial chromatographic separation. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V.1036. №1. С.33-44.
71. Ежова Н.М., Меленевский А.Т. Синтез и свойства полимерных сорбентов с поверхностным расположением ионогенных групп. // *Ж.прикл. химии.*1994. Т.67. №11. С.1850-1854.
72. Гаркушина И.С., Ежова Н.М., Писарев О.А. Влияние структуры биосорбента на равновесные и кинетические параметры сорбции эритромицина А. // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2006. Т.42. №4. С.409 - 412.
73. Samsonov G.V., Pisarev O.A., Melenevsky A.T. Chromatographic purification and superpurification of biologically active compounds using heterorectular and composite ion exchange resins at low pressure.// *Pure and Appl. Chem.*1993.V.65.№ 10.P.2287-2290.
74. Меленевский А.Т., Демин А.А., Тищенко Г.А. и др. Кинетика сорбции физиологически активных веществ на полимерных композиционных сорбентах типа Целлосорб.// *Ж.физ. химии.*1988. Т.62. №8. С.2139-2144.
75. Кабанов В.А., Эфендиев А.А., Оруджев Д.Д. Получение комплексобразующего полимерного сорбента с «настроенным» на сорбируемый ион расположением макромолекул. // *Высокомолек. соед. Б.* 1977. Т.19. №2. С.91-92.
76. Кабанов В.А., Эфендиев А.А., Оруджев Д.Д. Комплексобразующие полимерные сорбенты настроенные на сорбируемый ион. // *Высокомолек. соед. А.* 1979. Т.21. №3. С.589-594.
77. Y. Chen, M. Kele, I. Quinones et al. Influence of the pH on the behavior of an imprinted polymeric stationary phase – supporting evidence for a binding site model. // *J. Chromatogr. A.* 2001.V.927. №1. P.1 – 17.
78. T. Papa, G. Horvai, Characterization of the selectivity of a phenytoin imprinted polymer. // *J. Chromatogr. A.* 2004.V.1034. №1. P.99-107.
79. M.-J. Syu, J.-H. Deng., Y.-M. Nian/ Towards bilirubin imprinted poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethylacrylate) for the specific binding of  $\alpha$ -bilirubin. // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 504 . №3. P.167 – 177.
80. D.A. Spivak. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. // *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2005. V. 57 . №10. P.1779 – 1794.
81. C. O. Brügemann, K. Haupt, Lei Ye et al. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers. // *J. Chromatogr. A.* 2000.V.889. №1. P.15 –24.
82. J.L. Urraca, M.D. Marazuela, E.R. Merino et al. Molecularly imprinted polymers with a streamlined mimic for zearaleone analysis. // *J. Chromatogr. A.* 2006.V.1117. №1. P.74-80.
83. M.-J. Syu, Y.-M. Nian, Y.-Sh. Chan et al. Ionic effect on the binding of bilirubin to the imprinted poly(methacrylic acid-ethylene glycol dimethacrylate). // *J. Chromatogr. A.* 2006.V.1122. №1. P.1 – 17.
84. Писарев О.А., Ежова Н.М., Гаркушина И.С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, настроенными на молекулу антибиотика. // *Журнал физ. Химии.* 2008. Т.82.№5.С.632-637.

**Modern approaches to designing of polymeric sorbents structure for preparative chromatography of biologically active substances**

Pisarev O.A., Ezhova N.M.

*Institute of Macromolecular Compounds of Russian Academy of Sciences, S.-  
Petersburg*

The review is devoted to consideration of the newest tendencies in design of synthetic polymeric network sorbents with precisely outlined orientation of application -

preparative chromatography of biologically active substances (BAS). Such choice is caused all by increasing need in the chromatographic carriers possessing as much as possible high selectivity of sorption of target BAS.

In a basis of classification of sorbents functional properties which are set by conditions of synthesis are incorporated: the structural organization, equilibrium and kinetic permeability, an internal interface, distribution of pores, etc. Theoretical representations about influence of conditions of synthesis on formation of structure of polymeric sorbents for preparative to chromatography BAS.

*Ключевые слова: сорбенты, биологически активные вещество, хроматография*



УДК 541.18. 532.517.4

## Теоретическая оценка устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в аппарате с механическим перемешиванием и аэрацией (обзор)

Ганин П.Г.

*Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,  
Санкт-Петербург*

### Аннотация

Ряд технологических процессов происходит в системе жидкость - жидкость - твёрдая фаза - газ с механическим перемешиванием и аэрацией, например - рост микроорганизмов с использованием жидких гидрофобных соединений (субстратов). В таких системах возможна адсорбция частиц дисперсных фаз, образование сложных, в том числе «двойных частиц», и межфазных поверхностей типа газ - твёрдое тело, газ - жидкость, жидкость - твёрдое тело. Транспорт жидкой гидрофобной дисперсной фазы в твёрдую фазу (сорбент) в значительной степени происходит через межфазную поверхность этих фаз. Очевидно, что образование межфазных поверхностей газа с твёрдой и жидкой дисперсными фазами уменьшит площадь поверхности межфазного контакта твёрдой и жидкой дисперсных фаз, следовательно, и скорость переноса веществ между этими фазами. Предложена модель оценки устойчивости адсорбционного взаимодействия твёрдых сферических частиц и пузырьков газа в ядре турбулентного потока жидкости. Получено аналитическое выражение для оценки размера наибольших частиц дисперсных фаз, допускающих их устойчивое адсорбционное взаимодействие

### Введение

Ряд технологических процессов происходит в системах типа жидкость - жидкость - твёрдая фаза - газ с механическим перемешиванием. Пример такой системы - развитие микроорганизмов в водной среде на жидких гидрофобных соединениях (н-алканах нефти) в аппарате (ферментаторе) с интенсивным механическим перемешиванием и принудительной аэрацией. В таких системах возможна адсорбция частиц дисперсных фаз, образование сложных частиц (в том числе «двойных частиц») и межфазных поверхностей типа: газ - твёрдое тело, газ - жидкость, жидкость - твёрдое тело. Скоростью транспорта жидкой гидрофобной дисперсной фазы в твёрдую фазу (сорбент, клетки микроорганизмов) в значительной степени будет происходить через межфазную границу этих фаз [1]. Образование межфазных поверхностей газа с твёрдой и жидкой дисперсными фазами уменьшит площадь поверхности межфазного контакта твёрдой и жидкой дисперсных фаз, а следовательно, и скорость переноса веществ между этими фазами. Для оценки

влияния газообразной дисперсной фазы на скорость массопереноса вещества жидкой дисперсной фазы в твёрдую дисперсную фазу в первую очередь необходимо оценить устойчивость адсорбционного взаимодействия твёрдых сферических частиц и пузырьков газа в ядре турбулентного потока жидкости. Эта задача сводится к анализу устойчивости взаимодействия пары частиц - т.е. «двойных частиц» типа твёрдое тело - газ.

Отметим, что теоретическая оценка устойчивости адсорбционного взаимодействия твёрдой частицы и пузырька газа в ядре турбулентного потока жидкости схожа с оценкой устойчивости адсорбционного взаимодействия твёрдой сферической частицы и капли [1]. Основное отличие связано с тем, что пузырёк, в отличие от капли, испытывает силу инерции и силу гидростатического подъёма. Эти силы обусловлены существенным отличием плотности газа от плотности жидкости сплошной фазы, тогда как отличием плотностей жидкой и твёрдой дисперсных фаз можно пренебречь.

Настоящая теоретическая оценка представляется полезной не только для уточнения кинетики роста микроорганизмов при их развитии на жидких гидрофобных соединениях, но и для моделирования и интенсификации других процессов, протекающих в соответствии законом действующих поверхностей в системах типа жидкость - жидкость - твёрдая фаза - газ с механическим перемешиванием.

**Цель работы** - теоретическая оценка устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в ядре турбулентного потока жидкости в аппарате с интенсивным механическим перемешиванием и принудительной аэрацией.

## Теоретическая часть

**1. «Двойная частица» типа твёрдая сфера - пузырёк газа.** Рассмотрим систему жидкость - твёрдая фаза - газ с интенсивным механическим перемешиванием и принудительной аэрацией, в которой твёрдая дисперсная фаза представлена частицами сферической формы. Движение дисперсных частиц, обусловленное механическим перемешиванием (и всплыванием пузырьков), будет приводить к столкновениям частиц, а также их адсорбции. При адсорбции твёрдых частиц и пузырьков газа будут формироваться сложные частицы, в том числе «двойные частицы», в общем случае несимметричной формы. На рис. 1. приведена схема такой «двойной частицы», состоящей из твёрдой частицы диаметром  $C$  и пузырька газа диаметром  $D$  (изменённый диаметр - диаметр пузырька деформированного вследствие адсорбции на твёрдой поверхности).

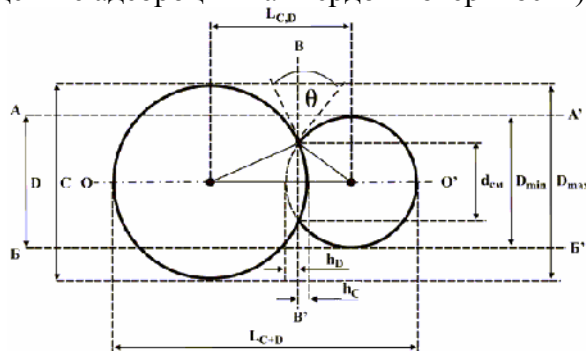


Рис. 1. Схема «двойной частицы» типа твёрдая сферическая частица -

пузырёк газа

$C$  - диаметр твёрдой сферы;  $D$  - изменённый диаметр пузырька газа;  $D_{\max}$  и  $D_{\min}$  - диаметры наибольшей и наименьшей из взаимодействующих частиц (диаметрами  $C$ ,  $D$ ), соответственно;  $d_{\text{см}}$  - диаметр окружности смачивания;  $\theta$  - угол смачивания;  $L_{C,D}$  - расстояние между центрами частиц;  $L_{C+D}$  - длина двойной частицы;  $h_C$  и  $h_D$  - высоты сегментов, отсекаемых плоскостью, проходящей через окружность смачивания от твёрдой сферы и пузырька газа, соответственно

**2. Диаметр наибольших пузырьков газа устойчивых в аппарате с механическим перемешиванием ( $d_{\text{кр}}$ )** оценивается на основе теории локальной однородной и изотропной турбулентности Колмогорова-Обухова [2, 3], а также теории дробления и устойчивости пузырьков газа в турбулентном потоке жидкости [4-6]. Оценка  $d_{\text{кр}}$  имеет вид

$$d_{\text{кр}} \approx 1,5(\sigma / \rho)^{0,6}(\rho / \rho_{\Gamma})^{0,2} \varepsilon_0^{-0,4}, \quad (1)$$

где  $\varepsilon_0$  - диссипация энергии в аппарате в расчёте на единицу массы среды (Вт/кг);  $\sigma$  - поверхностное натяжение жидкости (Н/м);  $\rho$ ,  $\rho_{\Gamma}$  - плотность жидкости и газа (кг/м<sup>3</sup>), соответственно.

Помимо оценки (1), существуют и другие оценки  $d_{\text{кр}}$  (в том числе эмпирические), отражающие влияние вязкости сплошной (жидкость) и дисперсной (газ) фаз, а также объёмного содержания газообразной фазы [6]. Для настоящего исследования необходимо привести некоторые детали условия дробления пузырьков. Реализация дробления пузырьков предполагает выполнение двух необходимых условий: условия деформации (достаточного для деформации внешнего силового воздействия) и достаточной продолжительности такого силового воздействия.

**Условие деформации пузырька** предполагает превышение разности динамических напоров  $\Delta p_d$  (деформирующих каплю) над капиллярным давлением  $p_{\sigma}$  (препятствующего деформации) [4-6]

$$\Delta p_d > p_{\sigma}, \quad (2)$$

или

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_{\Gamma})^{-1/3} (\Delta v)^2 > 4\sigma / d, \quad (3)$$

где  $\Delta v$  - разность скоростей жидкости в окрестности пузырька;  $d$  - диаметр пузырька.

**Условие достаточной продолжительности деформации** (т.е. выполнения условия (3)) предполагает необходимость превышения продолжительности такого воздействия ( $\tau_{d(\Gamma)}$ ) над характерным временем деформации пузырька газа ( $\tau_{0(\Gamma)}$ ) [5]

$$\tau_{d(\Gamma)} > \tau_{0(\Gamma)}. \quad (4)$$

Очевидно, что условие (4) представляет собой, собственно, необходимое и достаточное условие дробления, поскольку оно в неявном виде предполагает выполнение условия деформации (3). Однако, характерное время деформации пузырька ( $\tau_{0(\Gamma)}$ ) имеет оценку с точностью до порядка [5], что не позволяет построение условия дробления пузырька на основе условия (4) с необходимой точностью. Эту сложность удаётся «преодолеть» посредством следующих приближённых оценок. При выражении величины  $\Delta v$  через пульсационную скорость того же масштаба условие (3) примет вид

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_{\Gamma})^{-1/3} (v'_d)^2 > 4\sigma / d, \quad (5)$$

где  $v'_d$  - пульсационная скорость (среднеквадратичное значение, усреднённое за бесконечно большой промежуток времени) масштаба  $\lambda=d$ .

Важно отметить, что принятие в расчёт в уравнении устойчивости (3) вместо  $\Delta v$  величины  $v'_d$  (5) предполагает, что время, в течение которого мгновенная

величина пульсационной скорости  $v'_d(t)$  превышает собственно пульсационную скорость  $v'_d$  обеспечивает выполнение условия (4), т. е. - достаточную продолжительность деформации пузырька для реализации акта дробления.

**Условие устойчивости по отношению к дроблению**, в соответствии с (5), будет иметь вид

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_r)^{-1/3}(v'_d)^2 \leq 4\sigma / d. \quad (6)$$

**Диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости ( $d_{кр}$ )** оценивается на основе уравнения, вытекающего из условия устойчивости (6), при условии достижения пульсационной скорости максимальной величины  $v'_{\lambda}=v'_{(max)\lambda}$ . Соответствующие подстановки  $v'=v'_{(max)\lambda}$  и  $\lambda=d=d_{кр}$  в уравнение (6), дадут

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_r)^{-1/3}(v'_{(max)d_{кр}})^2 = 4\sigma / d_{кр}, \quad (7)$$

где  $v'_{(max)d_{кр}}$  - максимальная величина пульсационной скорости масштаба  $\lambda=d_{кр}$ .

Поскольку амплитуда пульсационной скорости является случайной величиной, в первом приближении распределённой по нормальному закону [7], для максимального значения в таком случае принимается оценка [6-9]

$$v'_{(max)\lambda} \approx 3v'_{\lambda}. \quad (8)$$

С учётом (8), уравнение (7) приобретает вид

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_r)^{-1/3}9(v'_{d_{кр}})^2 \approx 4\sigma / d_{кр}. \quad (9)$$

В соответствии с «законом двух третей» Колмогорова-Обухова [2, 3], для масштабов движения  $\lambda$ , удовлетворяющих условию  $L>\lambda>\lambda_0$  (где  $L$  - диаметр аппарата,  $\lambda_0$  - внутренний масштаб турбулентности), пульсационная скорость жидкости масштаба  $\lambda$  оценивается зависимостью

$$(v'_{\lambda})^2 \approx (\varepsilon_0^L \lambda)^{2/3}, \quad (10)$$

где  $\varepsilon_0^L$  - локальное значение диссипация энергии в расчёте на единицу массы среды.

Уравнение (9), с учётом (10), приобретает вид

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_r)^{-1/3}9(\varepsilon_0^L d_{кр})^{2/3} \approx 4\sigma / d_{кр}. \quad (11)$$

Уравнение (11) позволяет оценить диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости, где соблюдаются условия локальной однородной и изотропной турбулентности. Эти условия, выполняются в гипотетических (идеальных) системах, а также, с известным приближением, в зонах реального аппарата с механическим перемешиванием среды.

**Диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в реальном аппарате с перемешиванием**

В реальных аппаратах с механическим перемешиванием распределение диссипации энергии является неоднородным. Наибольшая локальная величина диссипация энергии ( $\varepsilon_0^{L(max)}$ ) достигается в зоне мешалки:  $\varepsilon_0^{L(max)}=\varepsilon_0^{ZM}$ . По оценкам  $\varepsilon_0^{ZM}$  в 50÷100 раз превосходит среднее по аппарату значение диссипация энергии ( $\varepsilon_0$ ) [10], в расчётах используется среднее значение [6]

$$\varepsilon_0^{L(max)} = \varepsilon_0^{ZM} \approx 75\varepsilon_0. \quad (12)$$

Подстановка (12) в уравнение (11), даст

$$(1/2)\rho(\rho / \rho_r)^{-1/3}9(75\varepsilon_0 d_{кр})^{2/3} \approx 4\sigma / d_{кр}, \quad (13)$$

откуда следует уравнение (1).

Экспериментально установленный размер пузырьков газа вблизи лопастей мешалки, (эмпирические зависимости) удовлетворительно согласуется с расчётными величинами [6], что позволит в нашем последующем моделировании использовать приведённые выше теоретические оценки.

**Диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в основной зоне**

**аппарата ( $d_{кр.ZF}$ ).** В первом приближении в объёме аппарата выделяют две зоны, в пределах которых соблюдаются условия однородной и изотропной турбулентности - зону мешалки и основную зону аппарата (обозначим индексами “ZM” и “ZF”, соответственно). Можно показать [11], что диссипация энергии в основной зоне аппарата ( $\varepsilon_0^{ZF}$ ) стандартного конструктивного типа с турбинной мешалкой, с учётом (12), составит

$$\varepsilon_0^{ZF} \approx 0,25\varepsilon_0. \quad (14)$$

Из (11), полагая  $\varepsilon_0^L = \varepsilon_0^{ZF}$  и с учётом (14), получим оценку «локальной» ( $d_{кр.L}$ ) величины  $d_{кр.}$  для основной зоны аппарата

$$d_{кр.ZF} \approx 1,5(1/9)^{0,6}(\sigma / \rho)^{0,6}(\rho / \rho_T)^{0,2}(0,25\varepsilon_0)^{-0,4}. \quad (15)$$

**Адекватность величин  $d_{кр}$  и  $d_{кр.ZM}$ .** Поскольку при оценке диаметра наибольших пузырьков газа, устойчивых в аппарате ( $d_{кр}$ ), используется наибольшая локальная величина диссипации в аппарате, которая достигается в зоне мешалки ( $\varepsilon_0^{L(max)} = \varepsilon_0^{ZM}$ ), то величина  $d_{кр}$  адекватна диаметру наибольших пузырьков газа, устойчивых в зоне мешалки  $d_{кр.ZM}$  («локальная» величина  $d_{кр}$  для зоны мешалки)

$$d_{кр} \equiv d_{кр.ZM}. \quad (16)$$

На рис. 2. для наглядности приведены расчётные, по уравнениям (1) и (15), зависимости диаметра наибольших пузырьков газа, устойчивых в аппарате ( $d_{кр}$ ) (соответствует  $d_{кр.ZM}$ ) и в основной зоне аппарата ( $d_{кр.ZF}$ ) от средней по аппарату величины диссипации энергии в расчёте на единицу массы жидкости ( $\varepsilon_0$ ). Расчёт проведён для аппарата стандартного конструктивного типа с турбинной мешалкой и разделительными перегородками (вода - воздух;  $t=30^{\circ}\text{C}$ ;  $\rho_{\text{вода}} \approx 10^3$ ,  $\rho_{\text{воздух}} \approx 1,2$ , кг/м<sup>3</sup>;  $\sigma \approx 72,75 \cdot 10^{-3}$ , Н/м).

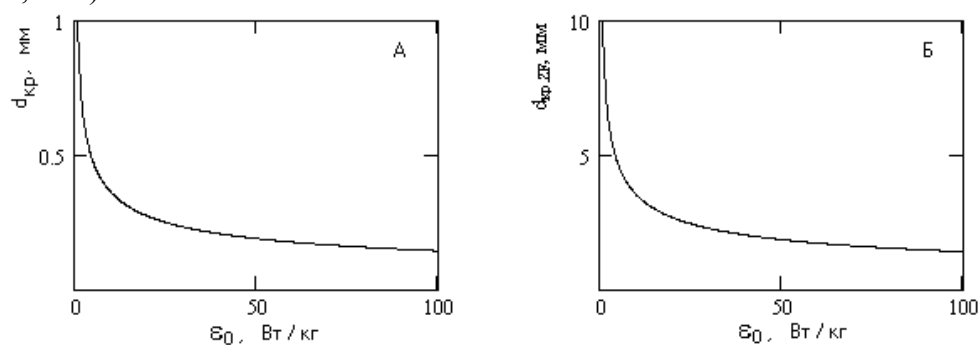


Рис. 2. Расчётная зависимость диаметра наибольших пузырьков газа устойчивых (А) в аппарате ( $d_{кр}$ , мм) и (Б) в основной зоне аппарата ( $d_{кр.ZF}$ , мм) от средней величины диссипации энергии в аппарате в расчёте на единицу массы среды ( $\varepsilon_0$ , Вт/кг). Система вода – воздух,  $t=30^{\circ}\text{C}$

**Внутренний масштаб турбулентности ( $\lambda_0$ ).** Оценим  $\lambda_0$  для определения границ применимости расчёта пульсационной скорости по уравнению (10). Величина  $\lambda_0$  оценивается зависимостью [5]

$$\lambda_0 \approx (v^3 \rho / \varepsilon)^{1/4} = (\eta^3 / \rho^3 \varepsilon_0^L)^{1/4}$$

где  $v$  - кинетическая вязкость жидкости ( $v = \eta / \rho$ );  $\eta$  - вязкость жидкости.

На рис. 3 приведена зависимость  $\lambda_0$  от локальной величины диссипации энергии ( $\varepsilon_0^L$ ), а так же зависимость величины  $\lambda_0$  в зоне мешалки и в основной зоне аппарата от средней величины диссипации энергии в аппарате ( $\varepsilon_0$ ). Рассчитано с учётом (12, 14);  $t=30^{\circ}\text{C}$ ;  $\eta_{\text{вода}} \approx 1$ , мПа·с;  $\rho_{\text{вода}} \approx 10^3$ , кг/м<sup>3</sup>.

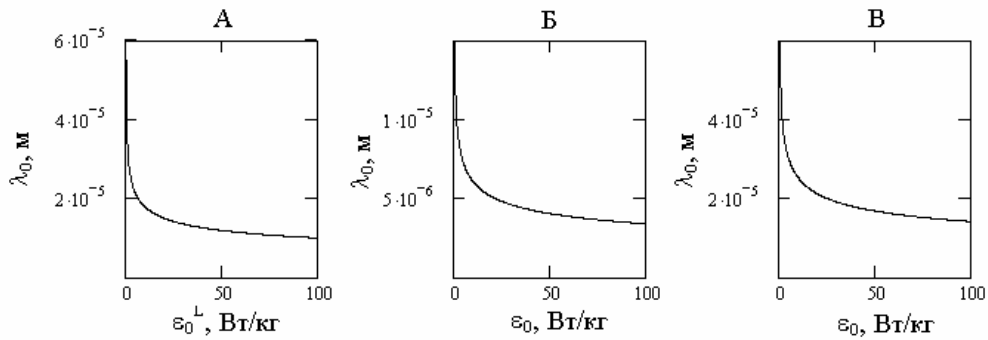


Рис. 3. Зависимость внутреннего масштаба турбулентности ( $\lambda_0$ ) от диссипации энергии ( $\varepsilon_0$ ). (Вода,  $t=30^\circ\text{C}$ )

А) Зависимость  $\lambda_0$  от локальной величины диссипации энергии ( $\varepsilon_0^L$ );  
Зависимость  $\lambda_0$  от средней по аппарату величины диссипации энергии ( $\varepsilon_0$ ): (Б) В зоне мешалки; (Б) В основной зоне аппарата

**3. Условие устойчивости «двойной частицы» типа газ - твёрдое тело** (по отношению к деформации) можно представить, как необходимость превышения силы прилипания пузырька газа к твёрдой частице над суммой сил, действующих на «двойную частицу» и способствующих её деформации. Нас будет интересовать частный случай, когда плотность твёрдой частицы ( $\rho_T$ ) несущественно отличается от плотности сплошной жидкой фазы ( $\rho$ ):  $\rho_T \approx \rho$ . В векторном виде условие устойчивости «двойной частицы» можно представить

$$\mathbf{F}_{\text{пр}} \geq \mathbf{F}_D + \mathbf{F}_{\sigma,p} + \mathbf{F}_a + \mathbf{F}_B, \quad (17)$$

откуда получим удобную для дальнейшего анализа форму

$$\mathbf{F}_D \leq \mathbf{F}_{\text{пр}} - [\mathbf{F}_{\sigma,p} + \mathbf{F}_a + \mathbf{F}_B], \quad (18)$$

где  $\mathbf{F}_D$  - вектор силы, обусловленной разницей динамических напоров сплошной фазы и приложенной к противоположным концам взаимодействующих частиц;  $\mathbf{F}_{\text{пр}}$  - вектор силы прилипания пузырька газа к твёрдой поверхности;  $\mathbf{F}_{\sigma,p}$  - вектор силы, обусловленной капиллярным давлением в газовом пузырьке;  $\mathbf{F}_a$  - вектор силы инерции;  $\mathbf{F}_B$  - вектор выталкивающей силы.

**3.1. Сила, обусловленная разницей динамических напоров жидкости ( $\mathbf{F}_D$ )** вблизи «двойной частицы» и направленная вдоль оси проходящей через центры взаимодействующих частиц  $O-O'$  (рис. 1), будет «растягивать» «двойную частицу». Величина этой силы будет обусловлена двумя обстоятельствами. Во-первых, разностью динамических напоров на противоположных сторонах (вдоль оси  $O-O'$ ) «двойной частицы»  $\Delta p_d$ , т. е. - величиной  $\Delta p_d$  масштаба  $\lambda = L_{C+D}$  (длина «двойной частицы»). Очевидно, что действие  $\Delta p_d$  масштаба каждой из взаимодействующих частиц ( $\lambda=C$  или  $\lambda=D$ ) может привести только к деформации индивидуальных частиц и не создаст «растяжения» (деформации) «двойной частицы» и последующего её дробления. Во-вторых, площадью сечения наименьшей из взаимодействующих частиц (если угол смачивания  $\theta < \pi/2$ ). Очевидно, что действие  $\Delta p_d$  вне «габаритов» меньшей из частиц - т. е. вне мысленного цилиндра диаметром равного диаметру наименьшей из частиц (сечение цилиндра обозначено прерывистыми линиями  $A-A'$ ,  $B-B'$ ) не создаст напряжения между частицами. Для силы  $\mathbf{F}_D$  можно принять оценку

$$\mathbf{F}_D \approx \Delta p_d S_{\text{min}}, \quad (19)$$

где  $\Delta p_d$  - вектор разности динамических напоров на противоположных сторонах



«двойной частицы»;  $S_{\min}$  - площадь сечения наименьшей из взаимодействующих частиц (диаметрами  $C$  и  $D$ ).

Для количественной оценки  $\Delta r_d$  необходимо сопоставить размер пузырька газа ( $D$ ) с толщиной пограничного слоя  $\delta_0$  вблизи поверхности твёрдой частицы.

**Толщина пограничного слоя жидкости  $\delta_0$**  вблизи твёрдой поверхности (частицы) оценивается зависимостью  $\delta_0 \sim (\nu \lambda / U_0)^{1/2}$ , характерная скорость обтекания  $U_0$  имеет порядок величины пульсационной скорости масштаба частицы  $U_0 \approx \nu' \lambda \approx (\varepsilon_0 \lambda)^{1/3}$ , где  $\nu$  - кинетическая вязкость жидкости (сплошной фазы);  $\lambda$  - размер частицы;  $\varepsilon_0$  - диссипация энергии в расчёте на единицу массы среды [5]. Полагая  $\lambda = C$ , получим оценку:  $\delta_0 \sim (\nu C^{2/3} / \varepsilon_0^{1/3})^{1/2} = (\nu^3 C^2 / \varepsilon_0)^{1/6}$ , где  $C$  - диаметр твёрдой частицы. В толще пограничного слоя, по мере приближения к твёрдой поверхности, турбулентные пульсации убывают.

На рис. 4 приведена зависимость  $\delta_0$  вблизи поверхности твёрдых частиц сферической формы диаметром 5 мкм (рис. А, В) и 0,2 мкм (рис. Б, Г) при их нахождении в зоне мешалки (рис. А, Б) и в основной зоне аппарата (рис. В, Г) от средней по аппарату величины диссипации энергии ( $\varepsilon_0$ ). Рассчитано с учётом (12, 14);  $t=30^\circ\text{C}$ ;  $\eta_{\text{вода}} \approx 1$ , мПа·с;  $\rho_{\text{вода}} \approx 10^3$ , кг/м<sup>3</sup>.

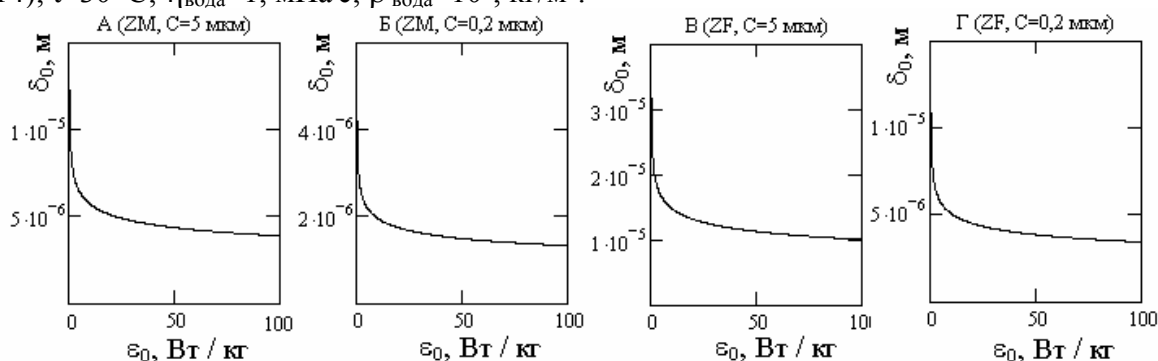


Рис. 4. Зависимость толщины пограничного слоя жидкости ( $\delta_0$ ) вблизи поверхности твёрдых частиц (диаметром  $C$ ) от средней по аппарату величины диссипации энергии ( $\varepsilon_0$ ). (Вода,  $t=30^\circ\text{C}$ )

А) Зона мешалки, диаметр частиц  $C=5$  мкм; Б) Зона мешалки, диаметр частиц  $C=0,2$  мкм; В) Основная зона аппарата, диаметр частиц  $C=5$  мкм; Г) Основная зона аппарата, диаметр частиц  $C=0,2$  мкм

**Случай  $D < \delta_0$ .** Пузырёк газа, по существу, находится не в ядре турбулентного потока жидкости, а в толще пограничного слоя жидкости вблизи твёрдой (поверхности) частицы. Этот случай требует отдельного рассмотрения.

**Случай  $D > \delta_0$ .** В этом случае разность динамических напоров жидкости ( $\Delta r_d$ ) вблизи противоположных сторон «двойной частицы» (вдоль оси  $O-O'$ ), можно представить [5, 6], как

$$\Delta r_d = (1/2)\rho(\nu' \lambda)^2, \quad (20)$$

где  $\rho$  - плотность сплошной фазы;  $\nu' \lambda$  - пульсационная скорость жидкости масштаба  $\lambda$ ;  $\lambda = L_{C+D}$  - длина «двойной частицы».

Уравнение (19) с учётом (20) примет вид

$$F_d \approx (1/2)\rho(\nu' \lambda)^2 S_{\min}. \quad (21)$$

Выражая площадь сечения наименьшей из взаимодействующих частиц (диаметрами  $C$  и  $D$ ) через её диаметр ( $D_{\min}$ ):  $S_{\min} = 2^{-1} \pi D_{\min}^2$ , из (21) будем иметь

$$F_d \approx 2^{-3} \pi \rho (\nu' \lambda)^2 D_{\min}^2, \quad (22)$$

откуда можно получить оценку максимальной величины  $F_d$

$$F_{D(\max)} \approx 2^{-3} \pi \rho (v'_{(\max)\lambda})^2 D_{\min}^2, \quad (23)$$

где  $v'_{(\max)\lambda}$  - максимальная величина пульсационной скорости масштаба  $\lambda=L_{C+D}$ .

С учётом (8), из (23) получим

$$F_{D(\max)} \approx 9(2)^{-3} \pi \rho (v'_{\lambda})^2 D_{\min}^2. \quad (24)$$

Если длина «двойной частицы» ( $L_{C+D}$ ) удовлетворяет условию  $L_{C+D} > \lambda_0$ , то пульсационная скорость жидкости масштаба  $\lambda=L_{C+D}$  оценивается зависимостью (10), и уравнение (24), примет вид

$$F_D \approx 2^{-3} \pi \rho (\varepsilon_0^L L_{C+D})^{2/3} D_{\min}^2. \quad (25)$$

Можно показать, что длина «двойной частицы» ( $L_{C+D}$ ) составит

$$L_{C+D} = (1/2)[(C + D) + (C^2 + D^2 + 2CD\cos\theta)^{1/2}]. \quad (26)$$

Уравнение (25) и (24), с учётом (10), примут, соответственно, удобный для последующего анализа вид

$$F_D \approx (2)^{-11/3} \pi \rho (\varepsilon_0^L)^{2/3} [2L_{C+D}]^{2/3} D_{\min}^2, \quad (27)$$

$$F_{D(\max)} \approx 9(2)^{-11/3} \pi \rho (\varepsilon_0^L)^{2/3} [2L_{C+D}]^{2/3} D_{\min}^2. \quad (28)$$

Для интересующего нас размера дисперсных частиц: диаметр твёрдых частиц  $C > 0,2$  мкм (клетки дрожжей  $C \approx 2 \div 8$  мкм, бактерий -  $C \approx 0,2 \div 0,5$  мкм), средний диаметр пузырьков газа (при интенсивном механическом перемешивании среды) порядка  $D \approx 1 \div 3$  мм [6], а величина  $d_{кр}$  не менее 0,2 мм (рис. 2), очевидно, что длина «двойной частицы» превышает внутренний масштаб турбулентности (рис. 3)  $L_{C+D} \approx C+D > \lambda_0$ , а диаметр пузырьков газа превосходит толщину пограничного слоя жидкости вблизи твёрдой частицы (рис. 4)  $D > \delta_0$ . Эти обстоятельства обеспечивают применимость уравнений (10) и (20) для оценки пульсационной скорости ( $v'_{\lambda}$ ) и разности динамических напоров ( $\Delta p_d$ ) масштаба  $\lambda=L_{C+D}$ .

**3.2. Сила прилипания пузырька к твёрдой поверхности ( $F_{пр}$ )** в статических условиях может быть представлена в виде [12]

$$F_{пр} \approx L_{см} \sigma \sin\theta = \pi d_{см} \sigma \sin\theta, \quad (29)$$

где  $L_{см}$  - периметр смачивания;  $\sigma$  - поверхностное натяжение жидкости;  $d_{см}$  - диаметр окружности смачивания;  $\theta$  - угол смачивания.

Можно показать, что диаметр окружности смачивания, составит

$$d_{см} = CD \sin\theta / 2L_{C,D}, \quad (30)$$

$$L_{C,D} = (1/2)(C^2 + D^2 + 2CD\cos\theta)^{1/2}. \quad (31)$$

где  $L_{C,D}$  - расстояние между центрами частиц.

Уравнение (29), с учётом (30), примет вид

$$F_{пр} \approx \pi \sigma CD (\sin\theta)^2 / 2L_{C,D}, \quad (32)$$

**3.3. Сила отталкивания, обусловленная капиллярным давлением в пузырьке газа ( $F_{\sigma,p}$ )** в плоскости, проходящей через периметр контакта (нормальная составляющая силы), создаст напряжение

$$F_{\sigma,p} = S_{1-2} P_{\sigma} = (1/4) \pi d_{см}^2 [CD \sin\theta / 2L_{C,D}]^2 (4\sigma / D)$$

откуда, с учётом (30), после элементарных преобразований получим

$$F_{\sigma,p} = \pi \sigma C^2 D (\sin\theta)^2 / (2L_{C,D})^2, \quad (33)$$

где  $S_{1-2} = (1/4) \pi d_{см}^2$  - площадь сечения «двойной частицы» по окружности смачивания;  $P_{\sigma} = 2\sigma/R$  - капиллярное давление жидкости в капле (уравнение Лапласа-Юнга);  $R = (1/2)D$  - радиус капли (в общем случае - радиус кривизны поверхности раздела фаз).

**3.4. Сила гидростатическая подъёма ( $F_B$ )** (выталкивающая сила, сила Архимеда), действующая на пузырёк газа, будет направлена вертикально вверх, вектор силы составит

$$F_B = -V_r (\rho - \rho_r) \mathbf{g}, \quad (34)$$

где  $V_{\Gamma}$  – объём газового пузырька;  $\rho$  – плотность жидкости;  $\rho_{\Gamma}$  – плотность газа;  $\mathbf{g}$  – вектор ускорения силы тяжести.

Очевидно, что объём газового пузырька, деформированного в результате адсорбции на твёрдой частице  $V_{\Gamma}$ , будет равен объёму исходного недеформированного пузырька ( $V_{\Gamma(0)}$ )

$$V_{\Gamma} = V_{\Gamma(0)} = (1/6)\pi D_0^3 \quad (35)$$

и, если угол смачивания ( $\theta$ ) не слишком велик, то диаметр пузырька газа не слишком изменится при деформации (адсорбции), тогда можно приближённо принять

$$D_0 \approx D, \quad (36)$$

где  $D_0$  – диаметр исходного недеформированного пузырька.

С учётом (36), из (35) получим

$$V_{\Gamma} \approx (1/6)\pi D^3. \quad (37)$$

Уравнение (34), с учётом (37), примет приближённый вид

$$\mathbf{F}_B \approx - (1/6)\pi D^3 (\rho - \rho_{\Gamma}) \mathbf{g}, \quad (38)$$

поскольку плотность газа существенно меньше плотности жидкости ( $\rho \gg \rho_{\Gamma}$ ), из (38), можно принять

$$\mathbf{F}_B \approx - (1/6)\pi D^3 \rho \mathbf{g}, \quad (39)$$

**3.5. Сила инерции ( $\mathbf{F}_a$ )** приведёт к «растяжению» «двойных частиц» вдоль оси О-О' (рис. 1). Она возникнет в турбулентном потоке жидкости ввиду различия плотностей сплошной (жидкость) и дисперсной (газ) фаз. Сила инерции и её максимальная величина, соответственно, составят

$$\mathbf{F}_a = (\rho - \rho_{\Gamma}) V_{\Gamma} \boldsymbol{\omega}_{\lambda} = (1/6)\pi D_0^3 (\rho - \rho_{\Gamma}) \boldsymbol{\omega}_{\lambda}, \quad (40)$$

$$\mathbf{F}_a^{\max} = (\rho - \rho_{\Gamma}) V_{\Gamma} \boldsymbol{\omega}_{\lambda}^{\max} = (1/6)\pi D_0^3 (\rho - \rho_{\Gamma}) \boldsymbol{\omega}_{\lambda(a)}^{\max}, \quad (41)$$

где  $\boldsymbol{\omega}_{\lambda}$  и  $\boldsymbol{\omega}_{\lambda}^{\max}$  – вектор ускорения турбулентных пульсаций масштаба  $\lambda_a$  и его максимальная величина, соответственно;  $\lambda_a$  – расстояние между центрами инерции твёрдой частицы и пузырька газа.

Сделаем три приближения. Для не слишком больших углов смачивания ( $\theta$ ) можно принять: во-первых, что диаметр пузырьков при деформации изменяется незначительно  $D \approx D_0$  (36), во-вторых, расстояние между центрами инерции адсорбированных частиц будет приближённо соответствовать расстоянию между геометрическими центрами взаимодействующих частиц, составит:  $\lambda_a \approx L_{C,D}$  (рис. 1). В-третьих, поскольку плотность газа пренебрежимо мала по сравнению с плотностью жидкости сплошной фазы ( $\rho \gg \rho_{\Gamma}$ ), можно принять  $\rho - \rho_{\Gamma} \approx \rho$ . Тогда из (40, 41), соответственно, получим оценки

$$\mathbf{F}_a \approx (1/6)\pi D^3 \rho \boldsymbol{\omega}_{\lambda}, \quad (42)$$

$$\mathbf{F}_a^{\max} \approx (1/6)\pi D^3 \rho \boldsymbol{\omega}_{\lambda}^{\max}, \quad (43)$$

где  $\lambda \approx L_{C,D}$ , задано уравнением (31).

**Ускорение турбулентных пульсаций ( $\boldsymbol{\omega}_{\lambda}$ )** оценивается следующим образом [5]. Характерный период  $T_{\lambda}$  и скорость  $v_{\lambda}$  турбулентных пульсаций масштаба  $\lambda$  можно представить в виде

$$T_{\lambda} = (\lambda^2 \rho / \varepsilon) = (\lambda^2 / \varepsilon_0) \sim \lambda / v_{\lambda}, \quad (44)$$

$$v_{\lambda} = d\lambda / dT_{\lambda} \sim \lambda / T_{\lambda}, \quad (45)$$

откуда получают оценку  $\boldsymbol{\omega}_{\lambda}$  по порядку величины [5], которую применительно к локальной зоне аппарата, запишем, соответственно, в виде

$$\boldsymbol{\omega}_{\lambda} = dv_{\lambda} / dT_{\lambda} \sim v_{\lambda} / T_{\lambda} \sim \lambda / T_{\lambda}^2 \sim (\varepsilon^L / \rho)^{2/3} (1 / \lambda^{1/3}) \sim (\varepsilon_0^L)^{2/3} (1 / \lambda^{1/3}), \quad (46)$$

или

$$\boldsymbol{\omega}_{\lambda} \sim \lambda / T_{\lambda}^2 = \lambda / (\lambda / v_{\lambda})^2 = v_{\lambda}^2 \lambda^{-1}. \quad (47)$$

Принимая во внимание, что ускорение турбулентных пульсаций ( $\boldsymbol{\omega}_{\lambda}$ )

оценивается по порядку величин (46, 47) [5], эти оценки, соответственно, можно представить (введя коэффициент  $k_a$ ) в виде

$$\omega_\lambda \approx k_a(\varepsilon_0^L)^{2/3}(1/\lambda^{1/3}), \quad (48)$$

$$\omega_\lambda \approx k_a v_\lambda^2(1/\lambda), \quad (49)$$

где  $\lambda \approx L_{C,D}$ , задано уравнением (31);

$$k_a = 0,33 \div 3,3. \quad (50)$$

**Максимальная величина ускорения турбулентных пульсаций ( $\omega_\lambda^{\max}$ ).** Очевидно, что оценку  $\omega_\lambda^{\max}$  можно получить, приняв в расчёт максимальную величину пульсационной скорости того же масштаба ( $\lambda$ ), с учётом (8) из оценок (46, 47), соответственно, получим

$$\omega_\lambda^{\max} \sim 9(\varepsilon/\rho)^{2/3}(1/\lambda^{1/3}) = 9(\varepsilon_0^L)^{2/3}(1/\lambda^{1/3}), \quad (51)$$

$$\omega_\lambda^{\max} \sim (v_\lambda^2/\lambda)^{\max} \sim (v_\lambda^{\max})^2/\lambda = 9v_\lambda^2(1/\lambda), \quad (52)$$

или с учётом (48-50), соответственно, получим

$$\omega_\lambda^{\max} \approx 9k_a(\varepsilon_0^L)^{2/3}(1/\lambda^{1/3}), \quad (53)$$

$$\omega_\lambda^{\max} \approx 9k_a v_\lambda^2(1/\lambda), \quad (54)$$

где  $\lambda \approx L_{C,D}$ , задано уравнением (31);  $k_a$  задано уравнением (50).

**Сила инерции ( $F_a$ ),** заданная оценкой (42), полагая  $\lambda \approx L_{C,D}$  и с учётом (48, 49), соответственно, примет вид

$$F_a \sim (1/6)\pi D^3(\rho - \rho_r)(v_\lambda)^2 L_{C,D}^{-1}, \quad (55)$$

$$F_a \sim (1/6)\pi D^3(\rho - \rho_r)(\varepsilon_0^L)^{2/3} L_{C,D}^{-1/3}, \quad (56)$$

откуда с учётом (50-52), соответственно, примет вид приближённых равенств

$$F_a \approx (1/6)k_a \pi D^3(\rho - \rho_r)(v_\lambda)^2 L_{C,D}^{-1}, \quad (57)$$

$$F_a \approx (1/6)k_a \pi D^3(\rho - \rho_r)(\varepsilon_0^L)^{2/3} L_{C,D}^{-1/3}, \quad (58)$$

где  $\lambda \approx L_{C,D}$  задано уравнением (31);  $k_a$  задано уравнением (50).

**Максимальная величина силы инерции ( $F_a^{\max}$ ),** заданная оценкой (41), с учётом (51, 52), соответственно, примет вид

$$F_a^{\max} \sim (1/6)9\pi(\rho - \rho_r) D^3(v_\lambda^2/L_{C,D}), \quad (59)$$

$$F_a^{\max} \sim (1/6)9\pi(\rho - \rho_r) D^3(\varepsilon_0^L)^{2/3} L_{C,D}^{-1/3}, \quad (60)$$

откуда, с учётом (48-50), соответственно, примет вид приближённых равенств

$$F_a^{\max} \approx (1/6)9k_a \pi(\rho - \rho_r) D^3(v_\lambda^2/L_{C,D}), \quad (61)$$

$$F_a^{\max} \approx (1/6)9k_a \pi(\rho - \rho_r) D^3(\varepsilon_0^L)^{2/3} L_{C,D}^{-1/3}, \quad (62)$$

где  $\lambda \approx L_{C,D}$  задано уравнением (31);  $k_a$  задано уравнением (50).

На основании допустимых границ вариации коэффициента  $k_a$  (50) (отражает точность оценки ускорения турбулентных пульсаций в пределах порядка), приведём предельные и среднее его значения

$$k_{a(\min)} = 0,33 \text{ (а)}; \quad k_{a(\text{cp})} = 1 \text{ (б)}; \quad k_{a(\max)} = 3,3 \text{ (в)}. \quad (63)$$

**3.6. Условие устойчивости по отношению к деформации в развёрнутом виде.** Очевидно, что вектора всех сил, входящие в уравнение устойчивости (18), за исключением вектора выталкивающей силы ( $F_B$ ) направлены вдоль оси проходящей через центры взаимодействующих частиц - О-О'. Вектор выталкивающей силы ( $F_B$ ) направлен вертикально вверх, а результирующая сила всех остальных сил (векторная сумма)  $F_{\text{рез}} = F_{\text{пр}} - (F_D + F_{\sigma,p} + F_a)$  имеет произвольное, случайное направление. Это обстоятельство предполагает решение уравнения устойчивости в векторном виде, что затруднительно. Однако можно ожидать, что при достаточно интенсивном перемешивании выталкивающей силой  $F_B$  можно пренебречь по сравнению с силой инерции  $F_a$ . Такая оценка сводится к сопоставлению величин ускорения турбулентных пульсаций ( $\omega_\lambda$ ) и ускорения силы тяжести ( $g$ ). Очевидно, что выталкивающей силой можно пренебречь при выполнении условия, которое с

учётom (46), будет иметь вид

$$\omega_{\lambda} = (\varepsilon_0)^{2/3} (1/\lambda^{1/3}) \gg g, \quad (64)$$

где  $\lambda = L_{C,D}$ , задано уравнением (26).

На рис. 5 приведена расчётная зависимость ускорения турбулентных пульсаций ( $\omega_{\lambda}$ ) масштаба «двойной частицы»  $\lambda \approx L_{C,D}$  от средней величины диссипации энергии в аппарате ( $\varepsilon_0$ ). «Двойная частица» образована пузырьком газа диаметром  $D=1$  мм и твёрдой частицей диаметром  $C=5$  мкм, угол смачивания  $\theta=50$  град. Расчёт проведён по зависимостям (46, 51) и (31) для основной зоны аппарата, где  $\varepsilon_0^{ZF}=0,25\varepsilon_0$ , (14). В аппаратах с механическим перемешиванием  $\varepsilon_0$  устанавливают от 1 до 100 Вт/кг, при культивировании микроорганизмов с использованием жидких гидрофобных соединений - от 10 до 50 Вт/кг [13]. Для наглядности на рис. 3 приведено ускорение силы тяжести ( $g$ ).

Средний диаметр пузырьков газа в аппарате с интенсивным перемешиванием составляет  $D=1\div 3$  мм [6]. В этой связи в приведённой расчётной зависимости  $\omega_{\lambda}$  от  $\varepsilon_0$  (рис. 5) принят в расчёт диаметр  $D=1$  мм. Однако диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости, зависит от локальной величины диссипации энергии в зонах аппарата. На рис. 2 приведены расчётные по уравнениям (1, 15) зависимости диаметров наибольших пузырьков газа устойчивых в аппарате ( $d_{кр}=d_{кр,ZM}$ ) и в основной зоне аппарата ( $d_{кр,ZF}$ ) от величины  $\varepsilon_0$ . В этой связи представляется целесообразным оценить силу инерции, испытываемую пузырьком газа, составляющего «двойную частицу», размер которого соответствует наибольшему пузырьку газа, устойчивому в зонах аппарата.

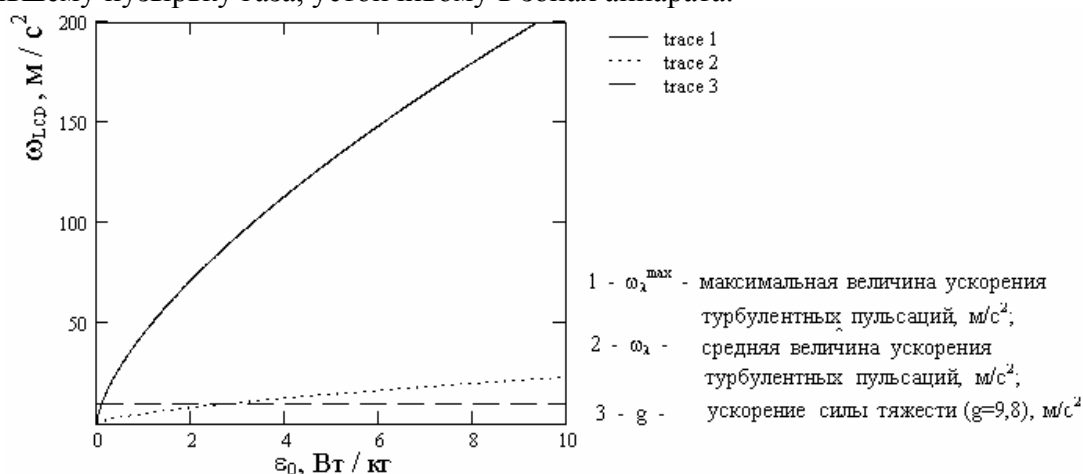


Рис. 5. Расчётная зависимость средней ( $\omega_{\lambda,ZF}$ ) и максимальной ( $\omega_{\lambda}^{\max,ZF}$ ) величин ускорения турбулентных пульсаций масштаба  $\lambda \approx L_{C,D}$  в основной зоне аппарата от средней величины диссипации энергии в аппарате в расчёте на единицу массы среды ( $\varepsilon_0$ ). Рассчитано для  $D=1$  мм,  $C=5$  мкм,  $\theta=50$  град

На рис. 6 приведена расчётная зависимость отношения максимальной и средней величины ускорения турбулентных пульсаций масштаба  $\lambda \approx L_{C,D}$  к ускорению силы тяжести ( $\omega_{\lambda}^{\max}/g$  и  $\omega_{\lambda}/g$ , соответственно) от средней величины диссипации энергии в аппарате  $\varepsilon_0$ . Расчёт проведён для зоны мешалки (рис. 6. А, Б) и основной зоны аппарата (рис. 6 В, Г), «двойной частицы», образованной твёрдой частицей диаметром  $C=5$  мкм и наибольшим пузырьком газа, устойчивым в зоне мешалки ( $D=d_{кр,ZM}=d_{кр}$ ) и в основной зоне аппарата ( $D=d_{кр,ZF}$ ) при угле смачивания  $\theta=50$  град. На каждом рисунке приведены зависимости, рассчитанные для различных значений коэффициента (65):  $k_a=0,33$ ,  $k_a=1$ ,  $k_a=3,3$ .

Как следует из представленных расчётных данных (рис. 5-6), при  $\epsilon_0 > 1 \div 5$  Вт/кг выталкивающей силой вполне можно пренебречь по сравнению с силой инерции. Тогда, уравнение устойчивости (18) примет упрощённый вид, который, как очевидно, можно представить в скалярной форме

$$F_D \leq F_{пр} - (F_{\sigma,p} + F_a), \tag{65}$$

откуда, после соответствующих подстановок (22, 32, 33, 57) и элементарных преобразований, получим

$$2^{-3} \rho (v'_{\lambda 1})^2 D_{\min}^2 \leq [\sigma C D (\sin \theta)^2 / 2 L_{C,D}] [1 - C / 2 L_{C,D}] - (1/6) D^3 (\rho - \rho_r) (v'_{\lambda 2})^2 / L_{C,D}, \tag{66}$$

где  $\lambda_1 = L_{C+D}$  и  $\lambda_2 = L_{C,D}$  заданы уравнениями (26, 31); можно показать, что  $D_{\min} = 1/2(C+D-|C-D|)$ .

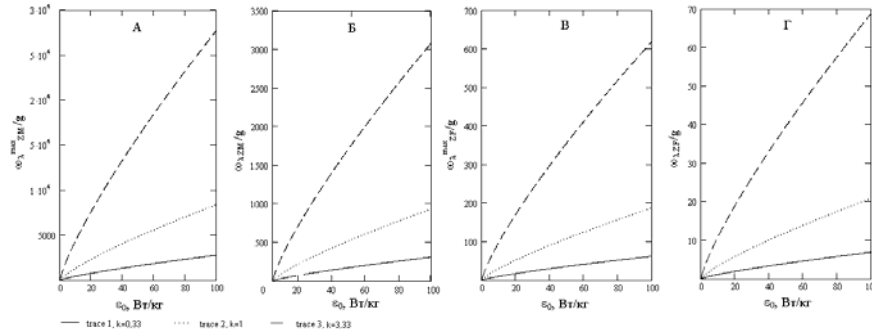


Рис. 6. Расчётная зависимость отношения средней ( $\omega_\lambda$ ) и максимальной ( $\omega_\lambda^{\max}$ ) величин ускорения турбулентных пульсаций масштаба  $\lambda \approx L_{C,D}$  к ускорению силы тяжести ( $g$ ) от средней величины диссипации энергии в аппарате в расчёте на единицу массы среды ( $\epsilon_0$ )

Расчёт проведён для  $C=5$  мкм,  $D=d_{кр,ZM}=d_{кр}$  (зона мешалки) и  $D=d_{кр,ZF}$  (основная зона аппарата),  $\theta=50^\circ$ . Кривые (trace) соответствуют различным значениям коэффициента  $k_a$ : 1 –  $k_a=0,33$ ; 2 –  $k_a=1$ ; 3 –  $k_a=3,3$ .

А) Максимальная величина отношения  $\omega_\lambda/g$  в зоне мешалки ( $\omega_\lambda^{\max}_{ZM}/g$ ); Б) Средняя величина отношения  $\omega_\lambda/g$  в зоне мешалки ( $\omega_{\lambda,ZM}/g$ ); В) Максимальная величина отношения  $\omega_\lambda/g$  в основной зоне аппарата ( $\omega_\lambda^{\max}_{ZF}/g$ ); Г) Средняя величина отношения  $\omega_\lambda/g$  в основной зоне аппарата ( $\omega_{\lambda,ZF}/g$ ).

**4. Диаметр наибольших пузырьков газа ( $D_{кр}$ ), допускающих устойчивое адсорбционное взаимодействие с твёрдой частицей** сферической формы в ядре турбулентного потока жидкости, должен в пределе удовлетворять условию устойчивости «двойной частицы» по отношению к деформации (65), при достижении силы обусловленной разницей динамических напоров жидкости и силы инерции максимальных величин

$$F_D^{\max} \sim F_{пр} - (F_{\sigma,p} + F_a^{\max}), \tag{67}$$

которое с учётом (23, 32, 33, 43 и 52), а так же соответствующей подстановке

$D=D_{кр}$ , примет вид

$$2^{-3} \rho (v'_{\lambda 1(\max)})^2 D_{\min}^2 \sim [\sigma C D_{кр} (\sin \theta)^2 / 2 L_{C,D_{кр}}] [1 - C / 2 L_{C,D_{кр}}] - (1/6) D_{кр}^3 (\rho - \rho_r) (v'_{\lambda 2(\max)})^2 / L_{C,D_{кр}}, \tag{67}$$

откуда, с учётом (10), соответственно

$$2^{-3} \rho (3v'_{\lambda 1})^2 D_{\min}^2 \sim \{ \sigma C D_{кр} (\sin \theta)^2 / 2 L_{C,D_{кр}} [1 - C / 2 L_{C,D_{кр}}] - (1/6) D_{кр}^3 (\rho - \rho_r) [(3v'_{\lambda 2(\max)})^2 / L_{C,D_{кр}}] \}, \tag{68}$$

где  $L_{C,D_{кр}} = (1/2)(C^2 + D_{кр}^2 + 2CD_{кр}\cos\theta)^{1/2}$ ;  $L_{C+D_{кр}} = (1/2)[C+D+(C^2+D_{кр}^2+2CD_{кр}\cos\theta)^{1/2}]$ ;  $D_{\max}$  - диаметр наибольшей из взаимодействующих частиц (диаметрами  $C$  и  $D$ ).

Можно показать, что  $D_{\max} = 1/2(C+D+|C-D|)$ .

Выражая  $F_D^{\max}$  и  $F_a^{\max}$  через локальную величину диссипации энергии с учётом (28, 32, 33, 62), уравнение (67) примет вид

$$2^{-11/3}9\pi\rho(\varepsilon_0^L)^{2/3}(2L_{C+D_{кр}})^{2/3}D_{\min}^2 \sim \pi\sigma CD_{кр}(\sin\theta)^2(2L_{C,D_{кр}})^{-1} - \pi\sigma C^2D_{кр}(\sin\theta)^2(2L_{C,D_{кр}})^{-2} - (1/6)9\pi D_{кр}^3(\rho - \rho_r)(\varepsilon_0^L)^{2/3}(L_{C,D_{кр}})^{-1/3}, \quad (69)$$

откуда после элементарных преобразований получим

$$9\rho(\varepsilon_0^L)^{2/3}(2L_{C+D_{кр}})^{2/3}(D_{\min}/D_{\max}) + 2^{11/3}(1/6)9(D_{кр}^2/C)(\rho - \rho_r)(\varepsilon_0^L)^{2/3}/(L_{C,D_{кр}})^{-1/3} \sim \sim 2^{11/3}[\sigma(\sin\theta)^2/2L_{C,D_{кр}}][1 - C/2L_{C,D_{кр}}]. \quad (70)$$

В оценке (70) удобно перейти к приведённым (безразмерным) линейным размерам, выразив их через диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости при однородной и изотропной турбулентности ( $d_{кр}$ ). Деление уравнения (70) на уравнение (11) после элементарных преобразований даст

$$(\rho/\rho_r)^{1/3}[(2L_{C+D_{кр}}^*)^{2/3}(D_{\min}^*/D_{\max}^*) + 2^{11/3}(1/6)(D_{кр}^*)^2/C^*)(\rho - \rho_r)/\rho L_{C,D_{кр}}^{*1/3}] \sim \sim 2^{2/3}[(\sin\theta)^2/2L_{C,D_{кр}}^*][1 - C^*/2L_{C,D_{кр}}^*], \quad (71)$$

$$\text{где} \quad C^* = C/d_{кр};$$

$$D_{кр}^* = D_{кр}/d_{кр};$$

$$L_{C,D_{кр}}^* = (1/2)[(C^2 + D_{кр}^2 + 2CD_{кр}\cos\theta)^{1/2}]/d_{кр} = L_{C,D_{кр}}/d_{кр};$$

$L_{C+D_{кр}}^* = (1/2)[(C + D_{кр}) + (C^2 + D_{кр}^2 + 2CD_{кр}\cos\theta)^{1/2}]/d_{кр} = L_{C+D_{кр}}/d_{кр}$  - приведённые линейные размеры частиц;  $D_{\min} = 1/2(C + D_{кр} - |C - D_{кр}|)$ ;  $D_{\max} = 1/2(C + D_{кр} + |C - D_{кр}|)$ ;  $d_{кр}$  задан уравнением (11).

Поскольку силы инерции оценивается по порядку величины (59-62), принимая в расчёт среднее и предельные значения в рамках допустимого интервала вариации  $k_a$  (63), из (71) может быть получена оценка в форме приближённого уравнения, справедливого для условий однородной и изотропной турбулентности

$$(\rho/\rho_r)^{1/3}[(2L_{C+D_{кр}}^*)^{2/3}(D_{\min}^*/D_{\max}^*) + 2^{11/3}(1/6)k_a(D_{кр}^*)^2/C^*)(\rho - \rho_r)/\rho L_{C,D_{кр}}^{*1/3}] \approx \approx 2^{2/3}[(\sin\theta)^2/2L_{C,D_{кр}}^*][1 - C^*/2L_{C,D_{кр}}^*]. \quad (72)$$

где  $k_a = 0,33 \div 3,3$ , задан уравнениями (50, 63).

Уравнение (72) не имеет аналитического решения относительно  $D_{кр}^*$ , однако легко может быть решено в численном виде при известных величинах угла смачивания ( $\theta$ ), плотностей фаз ( $\rho$ ,  $\rho_r$ ), приведённого диаметра твёрдой частицы сферической формы ( $C^* = C/d_{кр}$ ) и коэффициента  $k_a$ .

На рис. 7. приведены рассчитанные из уравнения (72) зависимости диаметра наибольших пузырьков воздуха ( $D_{кр}^*$ ), допускающих устойчивое адсорбционное взаимодействие с твёрдой частицей сферической формы, от диаметра частицы ( $C^*$ ) при различных углах смачивания ( $\theta = 10; 20; 30; 40; 50$ , град). В расчёт принято:  $\rho_{\text{вода}} \approx 10^3$ ,  $\rho_{\text{воздух}} \approx 1,2$ ,  $\text{кг/м}^3$  ( $t = 30^\circ\text{C}$ ),  $\rho_{\text{вода}} \approx \rho_r$ .

Для удобства восприятия расчётных данных графики построены в полулогарифмических координатах: зависимости  $D_{кр}^*$  от  $\log(C^*)$ , прерывистыми линиями приведены кривые, соответствующие значениям  $C^* = D^*$  и  $C^* = 0,1D^*$ .

На рис. 7.А. расчётные зависимости  $D_{кр}^*$  от  $C^*$  построены на основе принятия в расчёт средней оценки ускорения турбулентных пульсаций, что соответствует  $k_a = 1$ , (63).

На рис. 7.Б расчётные зависимости  $D_{кр}^*$  от  $C^*$  построены в пределах возможных оценок ускорения турбулентных пульсаций для угла смачивания  $\theta = 50$  град. Расчёт произведён по уравнению (72) для наименьшей, средней и наибольшей оценок величины ускорения турбулентных пульсаций, соответствующих значениям (63) коэффициента  $k_{a(\min)} \approx 0,33$ ,  $k_{a(\text{cp})} = 1$  и  $k_{a(\max)} \approx 3,3$ .

Диаметр наибольших исходных (недеформированных при адсорбции) пузырьков газа ( $D_{0,кр}^*$ ), допускающих устойчивое адсорбционное взаимодействие с твёрдой частицей сферической формы можно оценить из уравнения (72) приняв справедливое, для не слишком больших углов смачивания ( $\theta$ ), приближение (36),

откуда  $D_{0.кр}^* \approx D_{кр}^*$ .

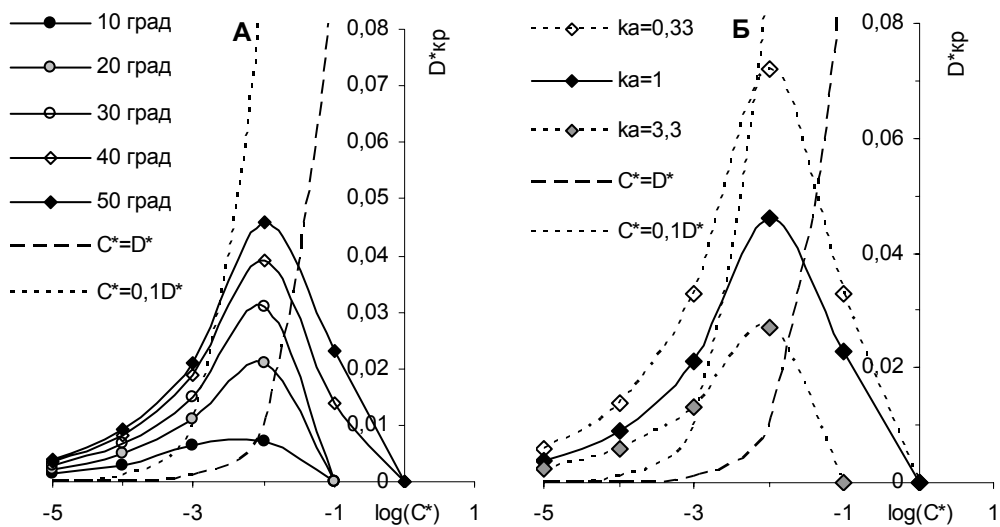


Рис. 7. Расчётные зависимости приведённого диаметра наибольших пузырьков газа, допускающих устойчивое адсорбционное взаимодействие с твёрдой частицей сферической формы ( $D_{кр}^*$ ) от приведённого диаметра твёрдой частицы ( $C^*$ ) при различных углах смачивания. Система вода-воздух

А) Рассчитано для  $k_a=1$  и углов смачивания  $\theta=10; 20; 30; 40$  и  $50$ , град.

Б) В рассчитано угла смачивания  $\theta=50$  град и  $k_a=0,33, k_a=1$  и  $k_a=3,3$ .

## Обсуждение результатов

Условие дробления и устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в ядре турбулентного потока жидкости можно свести к модели устойчивости парного взаимодействия частиц дисперсных фаз: устойчивости «двойных частиц» типа твёрдая частица - пузырёк газа. Условие дробления и устойчивости определяется размерами частиц (диаметры  $C, D$ ), плотностью фаз ( $\rho_{ж}, \rho_{т}, \rho_{г}$ , предполагается  $\rho_{ж} \approx \rho_{т}$ ), краевым углом смачивания ( $\theta$ ) и диаметром наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости ( $d_{кр}$ ). Известна зависимость  $d_{кр}$  от поверхностного натяжения жидкости ( $\sigma$ ), диссипации энергии в расчёте на единицу массы среды ( $\epsilon_0$ ), плотностей жидкой и газообразной фаз ( $\rho, \rho_{г}$ ). Краевой угол смачивания ( $\theta$ ) может быть выражен (в соответствии с законом Юнга), через величины межфазного натяжения  $\sigma_{т-г}, \sigma_{т-ж}$  и  $\sigma_{ж-г}$ :  $\cos(\theta) = (\sigma_{т-г} - \sigma_{т-ж}) / \sigma_{ж-г}$ , откуда получим  $\sin(\theta) = [1 - (\sigma_{т-г} - \sigma_{т-ж})^2 / \sigma_{ж-г}^2]^{1/2}$ . Это позволит в уравнении устойчивости (72) выразить величины  $d_{кр}$  и  $\theta$  через эти параметры ( $\sigma_{т-г}, \sigma_{т-ж}, \sigma_{ж-г}$ ).

Приведённое уравнение (условие) устойчивости (72), получено для условий однородной и изотропной турбулентности, однако оно может быть применено для оценки устойчивости в зонах реального аппарата, где выполняются (с известным приближением) условия однородной и изотропной турбулентности. Для таких оценок, в уравнении устойчивости (72) необходимо заменить  $d_{кр}$  соответствующей «локальной» величиной для этой зоны  $d_{кр,L}$ , т.е. - величиной  $d_{кр,Z}$ . Так для зоны мешалки необходимо принять в расчёт величину  $d_{кр,ZM}$ , а для основной зоны аппарата -  $d_{кр,ZF}$ . Условие устойчивости взаимодействия частиц во всём объёме аппарата можно оценить, приняв в расчёт диаметр наибольших пузырьков



устойчивых в аппарате ( $d_{кр}$ ), что соответствует (16) диаметру наибольших пузырьков, устойчивых в зоне мешалки  $d_{кр} \equiv d_{кр,ЗМ}$ .

Важно отметить, что устойчивость «двойных частиц», в частности, зависит от размера пузырьков газа (72). Поскольку в аппарате с механическим перемешиванием газовая дисперсная фаза является полидисперсной, то устойчивость адсорбционного взаимодействия твёрдых частиц с пузырьками различного размера будет существенно различаться.

При построении условия устойчивости (72) принята в расчёт максимальная величина пульсационной скорости ( $v'_{(max)\lambda}$ ), что предполагает некоторую неточность. Величину  $v'_{(max)\lambda}$  необходимо заменить некой «критической» величиной  $v'_{кр,\lambda}$ , вычисленной из условия достаточной продолжительности деформации для реализации акта дробления. Аналогичная вынужденная неточность (приближение) имеет место и в принятой оценке диаметров наибольших пузырьков газа и капель, устойчивых в турбулентном потоке жидкости [5, 6].

Предложенная модель устойчивости не распространяется на случаи:

- дробления вблизи твёрдых поверхностей аппарата;
- когда толщина вязкого подслоя вблизи поверхности твёрдой частицы больше пузырьков газа,

и должна быть модифицирована. Это предполагает уточнение оценки разницы динамических напоров воздействующих на «двойные частицы» в соответствующих условиях. Эти вопросы предполагают специальное рассмотрение.

В аппаратах с аэрацией и интенсивным механическим перемешиванием газовая дисперсная фаза является полидисперсной. При этом приведённый диаметр значительной фракции пузырьков порядка  $D^* \sim 1$  ( $D \sim d_{кр}$ ). Из этого обстоятельства и представленных расчётных данных (рис. 7) следует, что адсорбционное взаимодействие твёрдых частиц с большей частью пузырьков будут неустойчивым. Адсорбционное взаимодействие и дробление частиц твёрдой дисперсной фазы с пузырьками газа, превышающими  $D_{кр}$ , будет иметь случайный характер, обусловленный следующими обстоятельствами:

- Во-первых, вероятностью пребывания «двойной частицы» в зоне мешалки (зона аппарата с наибольшей локальной величиной диссипации энергии).
- Во-вторых, вероятностью достижения пульсационной скорости (в окрестности «двойной частицы») максимального значения  $v'_{(max)\lambda}$ .

Таким образом, очевидна необходимость оценки вероятности дробления и устойчивости «двойных частиц» как в одном испытании, так и за время пребывания взаимодействующих частиц в различных зонах аппарата. Такая теоретическая оценка необходима и для экспериментальной проверки точности приведённой теоретической оценки. Эти вопросы предполагают специальное рассмотрение.

Интересующее нас прикладное применение настоящей оценки состоит в следующем. В промышленных условиях культивирование микроорганизмов проводят в водных средах в аппаратах механическим перемешиванием и принудительной аэрацией. Даже при интенсивном механическом перемешивании среды средний диаметр пузырьков воздуха составляет  $D \approx 1 \div 3$  мм [13], размер клеток дрожжей  $C \approx 2-8$  мкм, размер бактериальных клеток (кокки)  $C \approx 0,2-0,5$  мкм. Для этих систем справедливы оценки, использованные в представленных зависимостях (рис. 7), что позволяет оценить устойчивости адсорбционного взаимодействия клеток микроорганизмов с пузырьками воздуха в реальных аппаратах.

Диаметр наибольших пузырьков газа, устойчивых в зоне аппарата  $d_{кр,З}$ , зависит от локальной величины диссипации энергии в зоне (1), как  $d_{кр,З} \sim (\varepsilon_0^Z)^{-0,4}$ ,

откуда следует  $d_{кр.Z}/d_{кр}=d_{кр.Z}^* \approx (\varepsilon_0^Z/\varepsilon_0^{ZM})^{-0,4}$ . Сопоставляя оценки (12, 14) локальных величин диссипации энергии в зоне мешалки ( $\varepsilon_0^{ZM} \approx 75\varepsilon_0$ ) и в основной зоне аппарата ( $\varepsilon_0^{ZF} \approx 0,25\varepsilon_0$ ), получим:  $\varepsilon_0^{ZM}/\varepsilon_0^{ZF} \approx 300$ . Из этого следует важная оценка - диаметр наибольших пузырьков газа устойчивых в основной зоне аппарата ( $d_{кр.ZF}$ ) примерно в 10 раз превосходит эту величину для зоны мешалки и аппарата в целом:  $d_{кр.ZF} \approx 10d_{кр} \equiv 10d_{кр.ZM}$ , или  $d_{кр.ZF}^* = d_{кр.ZF}/d_{кр} \approx 10$ . Однако, по экспериментальной оценке (сопоставление эмпирических уравнений) установлено, что средний диаметр пузырьков газа в основной части (зоне) аппарата в 2÷4 раза превосходит диаметр пузырьков в зоне мешалки [6]. Такое различие расчётных и экспериментальных величин (в 2,5÷5 раз), вероятно, свидетельствует о том, что формирование наибольших пузырьков газа в основной зоне аппарата детерминировано в основном их ограниченной коалесценцией, а так же уменьшением времени пребывания пузырьков в среде по мере увеличения их размера и, в меньшей степени, - их дроблением.

### Заключение

1. Дробление и устойчивость адсорбционное взаимодействие частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в ядре турбулентного потока жидкости определяется размерами частиц (диаметры  $C, D$ ), плотностью фаз ( $\rho_ж, \rho_г, \rho_г$ , предполагается  $\rho_ж \approx \rho_г$ ), краевым углом смачивания ( $\theta$ ), при этом:

- в условиях однородной и изотропной турбулентности - диаметром наибольших пузырьков газа устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости ( $d_{кр}$ );
- при неоднородном распределении энергии - диаметром наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости в зоне ( $d_{кр.Z}$ ).

2. В уравнении устойчивости величина ( $\theta$ ) может быть выражены через величины межфазного натяжения  $\sigma_{г-г}, \sigma_{г-ж}$  и  $\sigma_{ж-г}$ , а величина  $d_{кр}$  (или  $d_{кр.Z}$ ) - через поверхностное натяжение жидкости ( $\sigma$ ), диссипацию энергии ( $\varepsilon_0$ ), плотность фаз ( $\rho_ж, \rho_г$ ).

3. В процессах, протекающих в системе жидкость - жидкость - газ - твёрдая фаза с механическим перемешиванием, включающих этап адсорбции дисперсных фаз и происходящих через межфазные поверхности типа:

- твёрдая дисперсная фаза - газообразная дисперсная фаза,
  - твёрдая дисперсная фаза - жидкая сплошная фаза,
  - жидкая дисперсная фаза - газообразная дисперсная фаза,
- необходимо учитывать устойчивость адсорбционного взаимодействия газообразной и твёрдой дисперсных фаз, влияющих на образование межфазных поверхностей других фаз.

### Список литературы

1. Ганин П.Г. Теоретическая оценка устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и жидкой дисперсных фаз в аппарате с перемешиванием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т.6. Вып. 3. С. 486-497.
2. Колмогоров А.Н. Рассеяние энергии при локальной изотропной турбулентности // Докл. АН СССР. 1941. Т.32. Вып. 1. С. 19-21.
3. Обухов А.М. О распределении энергии в спектре турбулентного потока // Докл.

АН СССР. 1941. Т.32. Вып. 1. С. 22-24.

4. Колмогоров А. Н. О дроблении капель в турбулентном потоке // Докл. АН СССР. 1949. Т. 66. № 5. С. 825-828.

5. Левич В.Г. Физико-химическая гидродинамика. М.: Физматгиз, 1959. 699 с.

6. Брагинский Л.Н., Бегачёв В.И., Барабаш В.М. Перемешивание в жидких средах. Физические основы и методы расчёта. Л.: Химия, 1984. 336 с.

7. Бреншоу П. Введение в турбулентность и её измерение. М.: Мир, 1974. 277 с.

8. Химельблау Д. Анализ процессов статистическими методами. М.: Мир, 1973. 957

с

9. Гурский Е.И. Теория вероятностей с элементами математической статистики. М.: высшая школа, 1971. 328 с.

10. Mockel H.O. Die Verteilung der ortlichen Energiedissipation in einem Ruhrwerk // Chem. Techn. 1980. V. 32. № 3. P. 127-129.

11. Ганин П.Г. Адсорбционное взаимодействие частиц твёрдой и жидкой дисперсных фаз в аппарате с перемешиванием. Теоретическая оценка вероятности дробления и устойчивости взаимодействия частиц за время их пребывания в зонах аппарата // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. Вып. 4. С. 618-630.

12. Кабанов Б.В., Фрумкин А.Н. Величина пузырьков газа, выделяющегося при электрофорезе // ЖФХ. 1933. Т.4. Вып. 5, С. 538-548.

13. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов. М.: Лесная промышленность, 1979. 344 с.

### **Theoretical Estimation of Solid and Gas Dispersed Phases Particles Adsorption Interactions Stability in the Apparatus with Mechanical Stirring and Aeration.**

Ganin P.G.

*St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Russia*

A number of technological processes occurs in liquid - liquid - solid phase - gas system with mechanical stirring and aeration, e.g.. microorganism growth with use of liquid hydrophobic compounds (substrates). In these systems adsorption of disperse phases particles, formation of complex particles, including «double particles» and interphase surfaces of gas - solid, gas - liquid, liquid - solid type, is possible. Transport of a liquid hydrophobic disperse phase into a solid phase (sorbent) substantially occurs through an interphase surface of these phases. It is obvious, that formation of interphase surfaces of gas with solid and liquid disperse phases will reduce the surface area of solid and liquid disperse phases interphase contact, and hence a rate of substances transfer between these phases. The stability estimation model for adsorption interactions of solid spherical particles and gas bubbles in a nucleus of a turbulent flow of liquid was proposed. Analytical expression for an estimation of the size of the largest particles of the disperse phases admitting their stable adsorptive interaction was found.

*Ключевые слова: адсорбция частиц, устойчивость взаимодействия, дисперсные фазы, газ - твёрдая фаза, турбулентный поток жидкости, аппарат с перемешиванием, клетки микроорганизмов, пузырьки газа.*



УДК 543.544.943.3

## Применение нового варианта капиллярной тонкослойной хроматографии для анализа антибиотиков группы тетрациклина

Березкин В.Г.

*Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва*

Онучак Л.А., Евтюгина Е.Н.

*ГОУ ВПО «Самарский государственный университет», Самара*

---

### Аннотация

В работе предложен новый вариант ТСХ – капиллярная ТСХ, где хроматографический процесс реализован в тонком капилляре, наполненном сорбентом. Впервые изучено хроматографическое поведение окрашенных препаратов группы тетрациклина в условиях капиллярной ТСХ. Предложенный вариант капиллярной ТСХ отличается от традиционной планарной ТСХ лучшей воспроизводимостью вследствие отсутствия влияния газовой среды на хроматографический процесс, минимальный расход сорбента и элюента, отсутствие хроматографических камер

---

### Введение

Тетрациклины являются антибиотиками широкого спектра действия. В основе механизма антибактериального действия препаратов этой группы лежит подавление ими биосинтеза белка микробной клетки на уровне рибосом [1]. Ранее для определения тетрациклинов использовали масс-спектрометрию, ВЭЖХ [2]. Для определения подлинности тетрациклиновых лекарственных препаратов и обнаружения тетрациклинов в пищевых продуктах широко используется также планарная тонкослойная хроматография [3,4]. Преимуществами метода являются высокая производительность, простота, доступность и экономичность [5]. Однако данный метод обладает рядом недостатков, таких как низкая эффективность, необходимость использования специальных камер, насыщенных парами подвижной фазы, и как, следствие, невысокая воспроизводимость хроматографических характеристик удерживания [5,6].

В работе рассмотрен новый вариант ТСХ – капиллярная тонкослойная хроматография. В капиллярной ТСХ хроматографический процесс реализован в тонком капилляре, наполненном сорбентом. Детектирование зон сорбатов

---

аналогично традиционной планарной ТСХ. Предлагаемый вариант хроматографии можно классифицировать также как одномерную высокоэффективную ТСХ, в отличие от традиционной планарной ТСХ, так как движение и размытие зон сорбатов происходит в очень тонком слое сорбента ( $\leq 0,5$  мм), находящемся в капилляре, что уменьшает вклад гидродинамического (стеночного) эффекта в размытие зон сорбатов.

В настоящей работе проведена оценка нового варианта ТСХ. Изучена возможность использования капиллярной ТСХ для анализа окрашенных антибиотиков группы тетрациклина.

## Эксперимент

Образцы исследуемых веществ готовили из лекарственных форм. Для этого таблетки измельчали, заливали 2 мл ацетонитрила и экстрагировали вещество в течение 0,5 ч.

В таблице 1 представлены структурные формулы и физико-химические свойства исследованных антибиотиков группы тетрациклина.

Таблица 1. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры исследованных соединений [1]\*)

Наименование	Структурная формула	$M_r$	$\alpha, \text{Å}^3$	$\mu, \text{D}$	$V, \text{Å}^3$
Тетрациклин		444,44	43,23	4,45	1071,72
Доксициклин		444,44	43,91	5,82	1065,81
Окситетрациклин		460,44	43,87	6,67	1074,80

\*) Примечание: поляризуемость молекул  $\alpha$ , дипольный момент  $\mu$  и молекулярный объем  $V$  рассчитаны с помощью программы Hyper Chem 7.0. Оптимизацию геометрии молекул проводили полуэмпирическим методом PM1.

Эксперимент проводили как в условиях традиционной планарной ТСХ, так и капиллярной ТСХ.

Для проведения эксперимента методом традиционной восходящей ТСХ использовали пластины для обращенно-фазной ТСХ «Плазмахром» (тип сорбента – силикагель с привитой фазой  $C_3$ ,  $d_p = 8-12$  мкм, алюминиевая подложка, УФ-254 нм) размером  $10 \times 10$  см, выпущенные фирмой «Манометр», (г.С.-Петербург, Россия). Хроматографирование проводили в камерах, насыщенных парами элюента, при комнатной температуре. Длина пути элюента составляла 7,5 см.

Для реализации нового метода капиллярной ТСХ использовали капилляры из плавленного кварца ( $d = 0,5$  мм), изготовленные из колонки для капиллярной газовой хроматографии (Phenomenex, США). Длина капилляра не превышала 6,0 см. Предварительно капилляры промывали ацетонитрилом. В качестве сорбента использовали тот же силикагель с привитой фазой  $C_3$ , который был предварительно снят с поверхности пластинки для обращенно-фазовой ТСХ «Плазмахром» и измельчен с помощью стеклянной палочки. Заполнение капилляра производили сухим сорбентом. Набивали капилляр, периодически постукивая по плоской поверхности. Пробу исследуемого вещества в ацетонитриле вносили в начальную часть капиллярной колонки капилляром меньшего размера ( $d = 0,3$  мм). Капиллярную наполненную колонку вертикально помещали одним концом в элюент (на 1-2 мм). Эксперимент проводили при комнатной температуре. Длина пути элюента составляла 4,5 см. В качестве подвижной фазы использовали смешанный элюент состава: 0,5 М водный раствор щавелевой кислоты – метанол – ацетонитрил в объемном соотношении 6:2:2 [3].

Визуально определяли расстояния, пройденные элюентом ( $a$ ) и окрашенной зоной элюента ( $b$ ) от линии старта, в зависимости от времени. Текущие значения фактора задержки рассчитывали по формуле:

$$R_f = \frac{b(t)}{a(t)}, \quad (1)$$

Для определения конечной величины  $R_f$  для каждого из анализов проводили не менее 3-х параллельных опытов ( $n \geq 3$ ).

Высоту, эквивалентную теоретической тарелке, (ВЭТТ,  $H$ ) для каждого исследуемого вещества определяли по формуле:

$$H = \frac{b}{N}, \quad (2)$$

$N$  – число теоретических тарелок,  $b$  – конечное расстояние, пройденное зоной анализа от линии старта. Для определения  $N$  высушенные пластинки и капилляры сканировали с использованием программы Sorbfil Videodensitometr TLC Quantitative Evaluation (Ver 1.7.0.216) производства ЗАО «Сорбполимер» (г.Краснодар, Россия).

## Обсуждение результатов

Для оценки нового метода капиллярной ТСХ в статье были исследованы закономерности движения подвижной фазы. Движение фронта элюента под действием капиллярных сил в обоих вариантах ТСХ описывается уравнением:

$$a^2 = kt + A, \quad (3)$$

где  $a^2$  – квадрат расстояния от линии старта до фронта подвижной фазы,  $k$  – постоянная потока ("константа скорости"),  $t$  – время движения подвижной фазы.

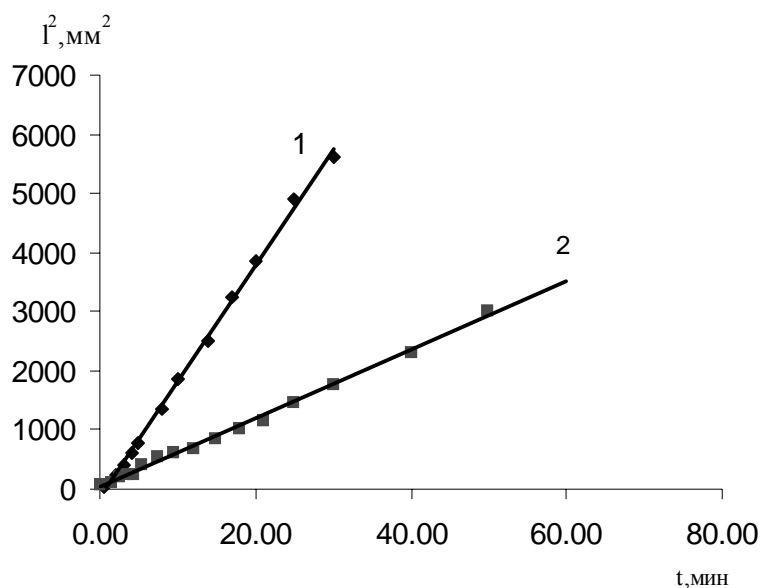


Рис. 1. Зависимости движения фронта элюента ( $a^2$ ) от продолжительности эксперимента ( $t$ ) полученные методами планарной ТСХ (1) и капиллярной ТСХ (2): элюент «0,5 М раствор щавелевой кислоты – метанол – ацетонитрил» (6:2:2), сорбент – силикагель с привитой фазой  $C_3$

Установлено, что движение фронта подвижной фазы в планарной ТСХ описывается уравнением  $a^2 = 196.2t - 142.4$  (коэффициент линейной корреляции  $R^2 = 0.9980$ ), а в капиллярном варианте ТСХ – уравнением  $a^2 = 58.078 + 21.242t$  (коэффициент линейной корреляции  $R^2 = 0.996$ ). Фронт подвижной фазы в капиллярном варианте движется медленнее, чем в традиционном варианте ТСХ (рис. 1). Снижение скорости движения элюента может быть вызвано высокой плотностью набивки объема капилляра сорбентом и снижением проницаемости.

Типичные зависимости расстояний, пройденных элюентом  $a = a(t)$  и центром зоны сорбата  $b = b(t)$  по пластине и в капилляре, представлены на рис.2.

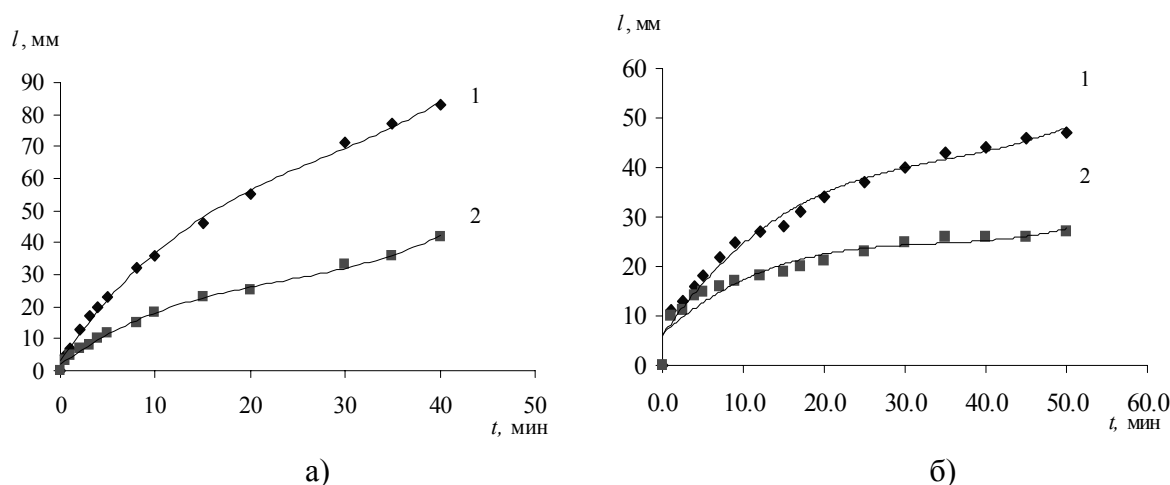


Рис. 2. Зависимости расстояний, пройденных элюентом (1) и доксициклином (2) (условия эксперимента – см. рис.1)

Из рис. 2 видно, что подъем элюента и аналита по пластине и в капилляре происходит аналогично с установлением некоторого постоянного значения  $R_f$ . На основании зависимостей  $a = a(t)$  и  $b = b(t)$ , полученных визуально для каждого из анализов, были определены текущие зависимости  $R_f$  анализов. На рис. 3 представлены значения  $R_f$  доксициклина от времени с момента начала эксперимента. В начале эксперимента отмечается характерный разброс значений величины  $R_f$ , обусловленный конкурентным взаимодействием молекул аналита и элюента с поверхностью сорбента. В конце процесса хроматографирования наблюдается постоянство  $R_f$  и для обоих вариантов ТСХ. Величины  $R_f$  несколько больше в случае капиллярной ТСХ по сравнению с планарной ТСХ, что может быть связано с уменьшением испарения подвижной фазы с поверхности сорбента в закрытом капилляре по сравнению с испарением подвижной фазы с пластинки в планарной ТСХ. Так, для тетрациклина в случае капиллярной ТСХ  $R_f$  больше на 10,4 % по сравнению с планарной ТСХ, для доксициклина – на 21,5 %, а для окситетрациклина – на 25,8 %. Заметное отличие величины подвижности  $R_f$  окситетрациклина может быть связано с тем, что зона аналита движется вблизи фронта элюента, где испарение элюента в случае планарной ТСХ максимально. В таблице 2 представлены конечные значения величин  $R_f$ , полученных обоими способами для исследуемых соединений. Относительная погрешность результата измерения меньше в варианте капиллярной ТСХ, что может быть обусловлено отсутствием влияния газовой фазы.

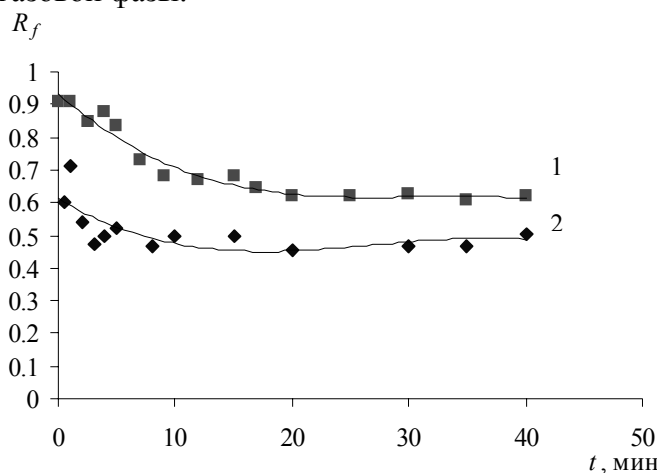


Рис.3. Зависимости величины  $R_f$  доксициклина от продолжительности эксперимента ( $t$ ), полученные методами капиллярной ТСХ (1) и планарной ТСХ (2)(условия эксперимента – см. рис.1)

Удерживание исследуемых соединений в обращенно-фазовом варианте ТСХ, как известно, определяется конкуренцией между дисперсионным взаимодействием аналитов с неподвижной фазой и диполь-дипольным взаимодействием с подвижной фазой. Наличие полярных групп в молекулах

тетрациклинов приводит к усилению специфического межмолекулярного взаимодействия с элюентом и, таким образом, к уменьшению удерживания.



Таблица 2. Величины  $R_f$  тетрациклинов, полученные с использованием планарной и капиллярной восходящей ТСХ при индивидуальном хроматографировании аналитов

Аналит	Планарная ТСХ		Капиллярной ТСХ	
	$\bar{R}_f \pm \Delta R_f$	$\varepsilon, \%$	$\bar{R}_f \pm \Delta R_f$	$\varepsilon, \%$
Тетрациклин	0,48±0,04	8,3	0,53±0,04	7,5
Доксициклин	0,51±0,03	5,9	0,62±0,03	4,8
Окситетрациклин	0,62±0,04	6,5	0,78±0,03	3,8

Величины  $R_f$  тетрациклинов находятся в интервале от 0,48 до 0,62 для планарной ТСХ и – от 0,53 до 0,78 для капиллярной ТСХ. Видно, при переходе от тетрациклина к окситетрациклину удерживание уменьшается. Так как  $\alpha$  и  $V$  молекул исследуемых антибиотиков близки, то различия в величинах  $R_f$  могут быть связаны с величиной дипольного момента  $\mu$ . С ростом  $\mu$  происходит увеличение  $R_f$ , обусловленное усилением диполь-дипольных взаимодействий в связи с образованием водородных связей молекул аналитов с молекулами ацетонитрила и метанола (при переходе от тетрациклина к окситетрациклину в структуре соединений увеличивается число гидроксильных групп).

В работе была также исследована возможность практического разделения смеси тетрациклинов (тетрациклин, доксициклин, окситетрациклин) методом капиллярной ТСХ с использованием программного комплекса Sorbfil Videodensitometr TLC Quantitative Evaluation (Ver 1.7.0.216). Хроматограмму разделения смеси получили непосредственным сканированием капилляра с разделенными компонентами смеси и обработкой полученного изображения.

Основные хроматографические характеристики процессов планарной и капиллярной ТСХ, полученные при практическом разделении смеси тетрациклинов, представлены в таблице 3.

Таблица 3. Основные хроматографические характеристики процессов планарной ТСХ и капиллярной ТСХ при разделении смеси тетрациклинов

Аналит	Планарная ТСХ			Капиллярная ТСХ		
	$R_f$	$H$ , мкм	$t$ , мин	$R_f$	$H$ , мкм	$t$ , мин
Тетрациклин	0,47	150	40	0,37	25	50
Доксициклин	0,51	109		0,65	13	
Окситетрациклин	0,64	71		0,78	8	

Из таблицы 3 видно, что при использовании капиллярной ТСХ для каждого из компонентов разделяемой смеси тетрациклинов значительно уменьшается ВЭТТ, что связано с малым размытием зоны аналита в объеме капилляра ( $d = 0,5$  мм) по сравнению с размытием зоны на пластине в планарной ТСХ. При использовании нового варианта ТСХ увеличивается время анализа на 25 % по отношению к традиционному варианту планарной ТСХ, что может быть обусловлено высокой плотностью набивки капилляра.

Таким образом, в работе был впервые применен метод капиллярной ТСХ для анализа окрашенных препаратов группы тетрациклина. Установлено, что размытие зон аналитов в капиллярной ТСХ на порядок меньше, чем в традиционной, плоскостной ТСХ. Преимуществом капиллярной ТСХ является лучшая воспроизводимость вследствие отсутствия влияния состава газовой среды на

хроматографический процесс, минимальный расход сорбента и растворителя, отсутствие специального оборудования (хроматографических камер).

### Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные препараты. М.: Медицина, 2006. 1803 с.
2. Hisao Okaа, Yuko Itoa, Yoshitomo Ikaia, Tadaaki Kagamia, Ken-ichi Haradab  
Mass spectrometric analysis of tetracycline antibiotics in foods.//Journal of Chromatography A. 1998. P. 309–319.
3. Красиков В.Д. Основы планарной хроматографии. СПб.: Химиздат., 2005. С. 147-148.
4. Separation of tetracyclines by thin-layer chromatography/Choma Irena//Chem. anal. 2001 V.6 № 1. P 1-9.
5. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография / Перевод под ред. В.Г. Березкина. М.: Мир, 1981. Т. 1 и 2. 1100с.
6. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. М.: Изд-во при совете по хроматографии РАН, 1999. Т. 1 и 2. 753 с.
7. Березкин В.Г., Кормишкина Е.В. Вариант традиционной тонкослойной хроматографии с контактно закрытым сорбционным слоем («бескамерная» ТСХ)// ЖАХ. 2006. Т.61, № 10, С. 1074-1080.

#### **Use of a new version capillary thin-layer chromatography for analysis of tetracycline antibiotics**

Berezkin V.G.\*, Onuchak L.A., Evtyugina E.N.\*\*

*\*Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, Russian Academy of Science, Moscow, \*\* Samara State University, Samara*

In the present paper a new version TLC – a capillary TLC is proposed, where a chromatographic process is realized inside the thin capillary filled with sorbent. Chromatographic behavior of colored tetracycline antibiotics was studied by capillary thin-layer chromatography for the first time. The proposed TLC version is more reproducibile comparing with conventional TLC because of absence of influence of gaseous medium on chromatographic process, minimal consumption of sorbent and eluent and absence of chromatographic chamber as well.

*Ключевые слова: тонкослойная хроматография, капиллярная тонкослойная хроматография, тетрациклины*



УДК 665.7:543

## Статистическая оценка точности методов жидкостно-адсорбционного хроматографического разделения и диализа в исследовании легированных масел

Занозина И.И.

*ОАО «Средневолжский научно-исследовательский институт по нефтепереработке»,  
Новокуйбышевск*

---

### Аннотация

В статье приведены данные, подтверждающие правомочность применения разработанных в институте методических вариантов разделения многокомпонентных композиций масел с присадками: жидкостно-адсорбционная хроматография и диализ, в схемах исследования легированных масел

---

### Введение

Многолетний опыт выполнения исследований легированных промышленных масел неизвестного состава, включающих комплекс различных присадок, показывает, что основная сложность решения задачи расшифровки и количественного определения всех добавленных компонентов заключается в достижении квалифицированного разделения исходного продукта с получением однотипных групп углеводородов базового масла и предельно дифференцированного выделения присадок.

Это положение объясняется тем, что идентификация присадок в продуктах разделения осуществляется, в основном, методом ИК-спектроскопии с привлечением эмиссионного, рентгено-флуоресцентного, УФ-спектрального, газохроматографического и других физико-химических методов. При нечётком разделении наложение ИК-спектров крайне осложняет результирующее измерение.

В различных схемах исследования легированных масел для промышленного оборудования основными методами разделения являются жидкостно-адсорбционная хроматография и диализ [1, 2]. Диализ – метод разделения, основанный на различии в диффузии растворённых веществ через полупроницаемые перегородки (мембраны), используется для выделения из масла полимерных присадок (полиметакрилаты, полибутены и др. с молекулярной массой более 2000), а также присадок, относящихся к кальциевым и бариевым сульфонатам. При выполнении диализа, как правило, мембраной служит резиновый медицинский напальчник, в качестве растворителя используются неполярные продукты: н-гексан, петролейный эфир, реже н-пентан [2].

Опытным путем было установлено, что чёткость выделения присадок из масел методом диализа значительно улучшается при использовании последовательно растворителей повышающейся полярности, в частности, н-гексана и ацетона. Этот вариант диализа принят нами как постоянный. Жидкостно-адсорбционная хроматография (ЖАХ), первый вариант препаративного хроматографического разделения [3], в отечественной нефтехимии используется более пятидесяти лет. Однако до сих пор, несмотря на значительный опыт выполнения таких работ, нет публикации о статистической оценке правильности и точности указанных методов, что обосновало бы правомочность их использования в схемах исследования легированных масел неизвестного состава.

Метод жидкостно-адсорбционного хроматографического разделения на силикагеле АСК, стандартизированный как раздел ГОСТ 11244-76 «Метод определения потенциального содержания дистиллятных и остаточных масел», используемый для определения группового углеводородного состава высококипящих нефтяных фракций, длителен и рассчитан на 50-100 грамм исследуемого нефтяного остатка.

В тоже время целью ЖАХ при исследовании легированных масел является возможно полное выделение и идентификация присадок наряду с получением базового масла в предельно сжатые сроки при минимальном объеме исходного продукта.

### **Эксперимент, обсуждение результатов**

Как результат значительного опыта работ в ОАО «СвНИИ НП» разработан методический вариант ЖАХ разделения с использованием стеклянной колонки  $l = 500$  мм,  $d = 13$  мм, против  $l = 2550$  мм,  $d = 35$  мм по ГОСТ 11244-76. В целях повышения эффективности разделения набор растворителей–элюентов: петролейный эфир, бензол, спирто-бензольная смесь в соотношении 1:1 (ГОСТ 11244); частично изменен и дополнен: гексан, бензол, смесь гексан-бензол 98:2 (специально для выделения ионола=агидола), ацетон, спирто-бензольная смесь 35:65, иногда вода. Отдельные фракции ЖАХ отбирались в фарфоровые чашечки, удаление элюентов-растворителей проводилось в мягких условиях.

Уменьшение параметров разделительной колонки и подбор оригинальных элюентов позволили сократить время разделения примерно до 14 часов против 35-40 часов по ГОСТ 11244-76, что дало основание определить разработанный вариант ЖАХ разделения как самостоятельную методику.

Все вышеизложенное обусловило необходимость выполнения статистической оценки правильности и точности разработанных методических вариантов разделения: ЖАХ и диализа. Первым этапом указанной работы была разработка процедуры приготовления искусственных смесей и отдельных приемов статистической проверки степени достоверности получаемых результатов. Сложность задачи составления поверочных искусственных смесей обусловлена, в первую очередь, тем, что большинство присадок представляет собой раствор в масле, причем концентрация активного вещества неизвестна. Отдельные углеводородные группы базового масла и масла-растворителя при ЖАХ разделении иногда элюируются вместе с активным компонентом присадки, последний зачастую элюируется из колонки не одним, а двумя элюентами повышающейся полярности. Все это было учтено для достижения предельно возможной точности приготовления поверочных искусственных смесей (ИС).

Таблица 1. Характеристика присадок

Наименование, свойства	ТУ, характеристика	Метод выделения (определения) содержание активного компонента, % мас.	Компоненты искусственной смеси, содержание, % мас.	Поверяемый вариант. Метод разделения
<i>Ионол (Агидол-1)</i>  Антиоксидант фенольного типа	ТУ 38 5901237-90. Бутил-4-метил-фенол, кристаллический однородный порошок без посторонних примесей	-  100,0	Ионол (1, 13) + глубокоочищенное масло (92,67)	ЖАХ - использован ие принятого методического варианта
<i>А-22</i> Антиокислительное, противоизносное, антикоррозионное и антифрикционное действие	ТУ 0257-006-40065452-97. Диалкилдитиофосфат цинка, модифицированный бором в масле	ЖАХ  81,8	А-22, 1,96 активный компонент (1,6) + масло И-20 (98,4)	ЖАХ - использован ие принятого методического варианта
<i>Детерсол Д-140</i>  Моющие, нейтрализующие, антиокислительные свойства	ТУ 38.601-13-071-92. Раствор карбонатированного алкилсалицилата кальция в масле	Диализ  34,05	Детерсол Д-140. Активный компонент - концентрат (1,0) + глубокоочищенное масло (99,0)	Диализ - использован ие принятого методического варианта
<i>ПМА«Д»</i> Депрессорная, загущающая присадка, повышает индекс вязкости (ИВ)	ТУ 6-01-270-84, литер А. 30-40%-ный раствор в масле И-20А полимеров эфиров метакриловой кислоты и синтетических жирных первичных спиртов типа Альфол фракции C <sub>12</sub> -C <sub>18</sub>	Диализ  33,66	ПМА«Д» Активный компонент- концентрат (2,6)+ масло И-20 (97,4)	Диализ - использован ие принятого методического варианта

Для приготовления поверочных искусственных смесей и, соответственно, статистической оценки точности методов разделения ЖАХ и диализа были

подобраны четыре присадки: ионол (агидол), А-22, Детерсол Д-140 и ПМА«Д», характеристика указанных присадок приведена в таблице 1.

Приготовление искусственных смесей в каждом конкретном случае имело свои особенности. Ионол (агидол), представляющий индивидуальное вещество, вводился в масло-разбавитель непосредственно. В качестве масла-разбавителя при приготовлении ИС использовались масло глубокой очистки и масло И-20А.

В присадке А-22 – диалкилдитиофосфат цинка, модифицированный бором в масле, методом ЖАХ было определено содержание активного компонента, равное 81,8% (таблица 1). Идентификация присадок во фракциях ЖАХ выполнялась методом ИК-спектрометрии. Составление ИС с присадкой А-22 также осуществлялось путем непосредственного введения присадки в масло-разбавитель.

Для составления искусственных смесей с присадками Детерсол Д-140 и ПМА «Д» использовались концентраты, полученные диализом, т.е. непосредственно, массы активных компонентов (см. таблицу 1). Диапазон концентраций присадок был подобран с учетом их содержания в маслах промышленного производства.

В соответствии с принятой процедурой наработки данных для статистической оценки правильности и точности разработанных методических вариантов выделения и количественного определения присадок в легированных маслах ЖАХ разделение ИС проводили в условиях повторяемости (сходимости) с параллельной работой на двух колонках. Дополнительно ставился холостой опыт с разделением образца базового масла. Была выполнена процедура по экспериментальной оценке показателей правильности и внутрилабораторной сходимости методического варианта ЖАХ разделения и диализа, серии результатов получали разные исполнители в разное время.

Ниже приводятся выборочные результаты ЖАХ разделения искусственных смесей (табл. 2-4).

По данным ИК-спектрального анализа, ионол, в основном (89,3%) элюируется специально подобранным растворителем гексан:бензол (98:2) и частично (около 10%) бензолом.

Таблица 2. Результаты ЖАХ разделения ИС-1 (ионол 1,13%)

Элюент (растворитель)	Выход, % мас.		
	Масло (холостой опыт)	ИС	ионол
Гексан	95,47	94,35	
Гексан:бензол= 98:2	2,55	3,56	1,01
Бензол	1,42	1,52	0,10
Ацетон	0,28	0,28	
Спирт:бензол= 35:65	0,28	0,29	
Всего	100	100	1,11

Поскольку углеводородные компоненты масла-разбавителя также элюируются указанными растворителями для количественной оценки выхода активного компонента предложено использовать прием вычитания из полученного результата разделения смеси результат холостого опыта. Аналогичный прием иногда используется в газовой хроматографии - метод фиксированной добавки.

По данным ИК-спектрального анализа, диалкилдитиофосфат цинка, модифицированный бором (А-22), элюируется, в основном, ацетоном;

карбонатированный алкилсалицилат кальция (Детерсол Д-140) элюируется спирто-бензольной смесью и водой.

Наряду с апробацией и отработкой приемов ЖАХ проверялся усовершенствованный методический вариант диализа с двумя различными растворителями повышающейся полярности.

Таблица 3. Результаты ЖАХ разделения ИС- 2 (А-22, активный компонент 1,6%) и ИС-3 (Детерсол Д-140, активный компонент 1,0%)

Элюент (растворитель)	Выход, % мас.					
	ИС-2			ИС-3		
	масло (холостой опыт)	ИС	А-22 активный компонент	масло (холостой опыт)	ИС	Д-140 активный компонент
Гексан	91,8	90,2		88,4	87,3	
Бензол	6,7	6,8		4,8	4,9	
Ацетон	1,0	2,5	1,5	2,4	2,4	
Спирт:бензол=35:65	0,5	0,5		0,4	1,0	0,6
Вода	-	-	-	4,0	4,4	0,4
Всего	100	100	1,5	100	100	1,0

Две искусственные смеси, имитирующие реальные легированные масла, с двумя присадками (ПМА «Д» и А-22; Детерсол Д-140 и А-22) разделялись диализом по двум вариантам: с одним растворителем (н-гексан) и двумя растворителями (н-гексан, ацетон). Средние результаты пяти последовательных определений, приведенные в таблице 4, наглядно показывают, что в соответствии с высокой диализуемостью масла полностью выделяются как гексановый диализат, не оставаясь в концентрате полимерной (ПМА «Д») или алкилсалицилатной (Д-140) присадки.

Таблица 4. Результаты статистической обработки данных определений присадок (активных компонентов) в искусственных смесях (1- взято, 2 – получено, 3 - расхождение)

Компонент	ИС-1 «Д» ПМА«Д» - 27,2 (акт. комп. 9, 10) А-22 – 16,8 (акт. комп. 13,7) масло глубоководное						ИС-2 «Д» Детерсол Д-140 - 31,9 (акт. комп. 10, 8) А-22 – 14,5 (акт. комп. 11,9) масло глубоководное					
	Диализ растворитель гексан			Диализ растворитель гексан/ацетон			Диализ растворитель гексан			Диализ растворитель гексан/ацетон		
	1	2*	3*	1	2*	3*	1	2*	3*	1	2*	3*
Концентрат	9,1	10,9	+1,8	9,1	9,0	-0,1	10,8	12,9	+2,1	10,8	10,8	-
Диализат гексана		89,1			88,2			87,1			87,1	
Диализат ацетона	-	-	-		2,8						2,1	
Всего	90,9	89,1	-1,8	90,9	91,0	+0,1	89,2	87,1	-2,1		89,2	-

\*Среднее значение пяти определений

Таблица 5. Данные статистической обработки результатов измерений

Показатель	Образец, активный компонент			
	ИС-1 ионол	ИС-2 А-22	ИС-3 Детерсол-140	ИСД-4 ПМА«Д»
Взято, а	1,13	1,60	1,00	2,60
Получено: $x_1$	0,96	1,40	0,85	2,40
$x_2$	0,99	1,50	0,92	2,50
$x_3$	1,13	1,50	1,00	2,60
$x_4$	1,17	1,60	1,06	2,60
$x_5$	1,18	1,80	1,11	2,60
$x_6$	1,23	1,80	1,18	2,70
Среднее арифметическое $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$	1,11	1,60	1,02	2,57
Среднее квадратическое отклонение результата измерения $S = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$	0,11	0,17	0,12	0,10
Коэффициент вариации $\nu = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\%$	9,8	10,46	11,98	4,02
<i>Продолжение табл. 5</i>				
Среднее квадратичное отклонение выборки $S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$	0,05	0,07	0,05	0,04
Доверительные границы погрешности результата измерения $\xi_{\alpha} = S_{\bar{x}} \cdot t_{\alpha}, k$	0,13	0,18	0,13	0,11
Критерий Стьюдента $t_{\text{расч}} = \frac{a - \bar{x}}{S_{\bar{x}}}$	0,40	0,00	0,40	0,79
Сходимость $\tau = t_{\alpha}, k \cdot S \cdot \sqrt{2}$	0,40	0,62	0,44	0,36



Диализуемость полярных соединений, входящих в состав других присадок, в частности А-22, значительно ниже, что в значительной степени обусловлено большей коллоидной устойчивостью их масляных растворов. Как результат – удерживание концентратом до 20% присадки, должной выделиться вместе с базовым маслом в диализате. Продолжение процесса диализа с заменой н-гексана полярным растворителем – ацетоном позволяет получить более однородный концентрат, что так важно для дальнейшей ИК-спектральной идентификации его компонентов. Данный вывод был многократно подтвержден при проведении исследований различных легированных масел.

Результирующие данные шести измерений при определении содержания активного компонента в четырех искусственных смесях: ИС- 1-3 (ЖАХ), ИСд-4 (диализ), приведены в таблице 5.

### **Заключение**

Данные статистической обработки результатов измерений позволяют заключить, что усовершенствованные методические варианты выполнения ЖАХ разделения и диализа не вносят систематической ошибки определения, значительные численные величины коэффициентов вариации (10,0-12,0% отн.) объясняются, прежде всего, малыми концентрациями определяемых компонентов и, соответственно, наложением случайных погрешностей двух определений (рабочего и холостого разделения) при исследовании ИС-1-3.

Разделение диализом (ИСд-4) характеризуется большей точностью, значение коэффициента вариации 4,0% отн. Это особенно ценно, поскольку диализ является первым этапом в схеме исследования легированных масел и в процедуре подготовки и составления поверочных искусственных смесей.

В целом, приведенные данные позволяют констатировать, что разработаны достаточно надежные методические варианты разделения легированных масел, позволяющие осуществлять исследование смазочных материалов неизвестного состава при сравнительно небольшом объеме объекта исследования и оптимальных трудозатратах.

### **Список литературы**

1. Занозина И.И., Шабалина Т.Н. и др. Методология исследования компонентного состава легированных масел для промышленного оборудования//Технологии нефти и газа. 2005. № 3. С. 40-42
2. Клевцова В.П., Фиалко М.М. и др. Диализ присадок на резиновых мембранах//Химия и технология топлив и масел. 1973. № 4. С.24-26
3. Вигдергауз М.С. Цветопись.- М.: Химия, 1980. 96 с., ил.

**Statistical estimation of accuracy of methods  
the liquid-adsorptional chromatographical  
division and the dialysis in research  
the doped oils**

Zanozina I.I.

*Open Society «Srednevolzhsky scientific research institute on oil refining»,  
Novokuybyshevsk*

In article the data confirming competency of application of methodical variants developed at institute of division of multicomponent compositions of oils with additives are cited: liquid-adsorptional chromatography and a dialysis, in schemes of research of the doped oils.

*Ключевые слова: легированные масла, присадки, жидкостно-адсорбционное разделение, диализ, ИК-спектрометрия, статистическая обработка.*



УДК 628.163:579.63:665.7

## Саморегенерирующиеся сорбенты для очистки воды от нефтяных углеводородов

Лейкин Ю.А., Черкасова Т.А., Смагина Н.А.

*Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва*

### Аннотация

Исследована очистка воды от нефтяных углеводородов (на водной эмульсии додекана) на биосорбентах с иммобилизованными клетками микроорганизмов. Показано, что такие биосорбенты являются эффективными и саморегенерирующимися системами, пригодными к многократному использованию и обеспечивают очистку воды от нефтяных углеводородов до уровня ПДКрх (0,05 мг/л). Саморегенерирующиеся сорбенты были опробованы на реальной сточной воде автомойки и показано, что величина ПДКрх. по нефтяным углеводородам может быть достигнута для процесса сорбции из сточной воды за 48 часов и для биодеструкции – за 18 часов

### Введение

Несмотря на широкое применение в настоящее время природных материалов (сажи, угля, торфа, целлюлозы, древесной стружки) для очистки воды от нефтепродуктов [1-2], наиболее перспективными методами являются биотехнологические, основанные на способности микроорганизмов использовать нефтяные углеводороды (НУ) в качестве биогенных веществ [3-4]. Процесс биодеструкции НУ обусловлен способностью отдельных микроорганизмов ассимилировать углерод углеводородов путем биохимической трансформации токсичных углеводородов в экологически безвредные соединения, не представляющие опасности для здоровья человека и окружающей среды. Причем показано, что оксидазная активность иммобилизованных на твердофазной подложке микроорганизмов стабилизируется лучше, чем в обычной суспензии клеток, и для них шире оптимумы диапазона рН и температуры [5]. Процесс биодеструкции в случае использования биосорбента происходит как при контакте материала с эмульсией, так и в самом материале, адсорбировавшем нефтепродукты, что является важным и после разделения фаз. Сведений о дальнейшем использовании отработанных материалов, об их регенерации немного, а о повторном или многократном использовании таких систем данные отсутствуют. Поэтому представляло интерес провести исследования на сорбентах с иммобилизованными штаммами нефтеокисляющих микроорганизмов. Чтобы более полно оценить эффективность процесса очистки воды от нефтепродуктов, обеспечиваемую как процессами сорбции твердофазной подложкой, так и процессами биодеструкции

иммобилизованными микроорганизмами, в данной работе сделана попытка оценить вклад каждого из этих процессов и выявить возможность саморегенерации исследуемых материалов и многоразового их использования.

## Эксперимент

### 1. Сорбция и биодеструкция додекана из водной эмульсии

Исследования проведены на модельных растворах водной эмульсии додекана (ДД) с добавлением изопропилового спирта в качестве стабилизатора эмульсии. ДД выбран потому, что имеет достаточно длинную углеводородную цепочку ( $C_{12}H_{26}$ ), сам получается из керосиновых фракций нефти, не растворяется в воде,  $t_{кип} = 216\text{ }^{\circ}C$ ,  $\rho_{20} = 0,749\text{ г/см}^3$ .

При приготовлении эмульсии был использован цилиндрический круглодонный реактор с мешалкой роторного типа, что позволило добиться однородности капель (размер капель 0,06-0,07 мм) и стабильного сохранения и размера по крайней мере в течение 24 ч.

Изучение сорбции ДД из его водной эмульсии проводили с использованием нетканого материала на основе полипропиленового волокна и углей марок СКТ и ФАС. Изучение биосорбции проводили на нетканых материалах, имеющих схожие сорбционные свойства, на основе полипропиленового волокна и сополимера акрилонитрила и стирола. Процессы осуществляли в статических условиях при постоянном перемешивании на перемешивающем устройстве «ЭКРОС» (модель 6410) при температуре 20-22  $^{\circ}C$ . Изменение концентрации ДД наблюдали во времени, определяя ее до и после контакта с материалом гравиметрическим методом, описанным ниже.

Иммобилизацию нативных клеток микроорганизмов рода *Pseudomonas* (K-5-25, K-2) и *Rhodococcus* (EtIA. 2-4M) проводили одновременно с их активацией. Для приготовления суспензии клеток микроорганизмов по 1 г каждого вида клеток помещали в 1 л буфера с питательной средой ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Cl^-$ ,  $NH_4^+$ ) и перемешивали. Далее 0,4 г твердофазного носителя (сорбента) помещали в 100 мл суспензии клеток и, поместив реакционную колбу в термостат, выдерживали в течение 48 часов при температуре 29-30  $^{\circ}C$ . Готовый биоматериал отделяли от жидкой фазы, промывали тремя порциями по 10 мл калий-фосфатного буфера и направляли на деструкцию ДД.

### 2. Модификация и уточнение метода определения нефтепродуктов в воде

В качестве объекта исследования для создания эмульсии типа "вода – НУ" был выбран ДД, хорошо моделирующий нелетучие нефтяные углеводороды (НУ). Для определения концентрации ДД в эмульсии до и после контакта с сорбентом или биосорбентом за основу был выбран модифицированный гравиметрический метод определения нефтепродуктов. Поскольку гравиметрический метод, описанный в [6], не учитывает испаряющихся легколетучих фракций нефтепродуктов, были исследованы скорости испарения летучих нефтепродуктов на специально разработанном приборе, снабженном термостатируемой камерой и вентилятором, при температуре порядка 18-20  $^{\circ}C$  в течение 5 - 60 мин, в зависимости от исследуемого вещества. Взвешивание остатка проводили на электронных весах серии Adventurer фирмы Ohaus (Switzerland). Таким образом были проведены исследования по уточнению скорости испарения реагентов, моделирующих в нашем случае эмульсию нефтепродуктов (додекан - класс опасности IV, ПДК<sub>р.х.</sub> = 0,05 мг/л;

изопропиловый спирт - класс опасности III, ПДК<sub>р.х.</sub> = 0,01 мг/л) и экстрагента - хлороформа (класс опасности I, ПДК<sub>р.х.</sub> = 0,005 мг/л).

## Обсуждение результатов

### 1. Модификация методики определения нефтепродуктов

Для гравиметрического метода определения нефтепродуктов [6] в отличие от колоночной хроматографии с аппаратным окончанием или определением на ИК-спектрометре представляются более широкие возможности в выборе растворителя и в модификации метода с целью повышения точности определения и сокращения времени проведения анализа. Следует отметить, что в обычных условиях легколетучие фракции быстро удаляются из водной эмульсии и, особенно, из поверхностной пленки, что делает эксперимент на легколетучих НУ весьма проблемным из-за изменяющейся концентрации в водной фазе и затрудненного пробоотбора.

Гравиметрический метод позволяет довольно точно определить в малом объеме экстракта, полученного из водной эмульсии НУ или после экстракции нефтепродукта с сорбента, содержание нелетучих НУ и основан именно на различии скоростей испарения легко- и труднолетучих растворителей.

После определенного времени масса пробы становится постоянной и это позволяет определить труднолетучие нефтяные углеводороды, поскольку легколетучие углеводороды удаляются вместе с растворителем. В связи с этим были исследованы скорости испарения ряда органических веществ и смесей, представляющих интерес для использования в данном методе.

Исследование скорости испарения веществ из смеси, состоящей из ДД, изопропилового спирта и хлороформа, позволило обнаружить заметную разницу между скоростями испарения труднолетучего ДД и легколетучих хлороформа и изопропилового спирта и определить необходимое время испарения легколетучих компонентов (рис.1).

Кривая испарения представляет собой линию второго порядка, четко распадающуюся на две линии, одна из которых принадлежит легколетучим растворителям, а вторая принадлежит труднолетучему – ДД.

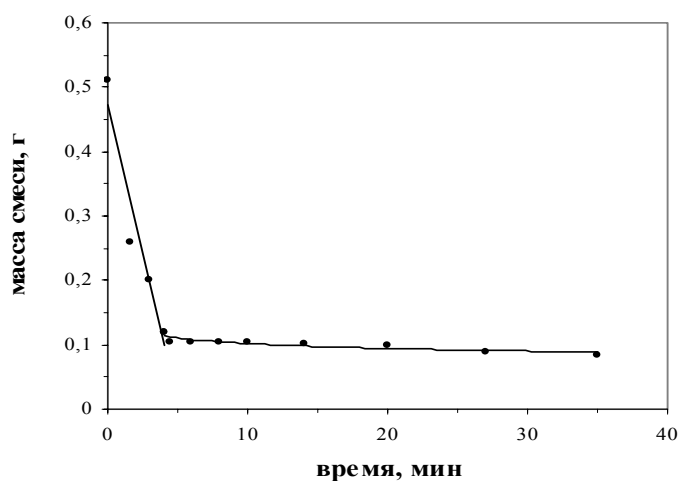


Рис. 1. Зависимость массы смеси "додекан-изопропанол-хлороформ" от времени испарения при 20 °С

Результаты расчетов, проведенных по линейному и по квадратичному уравнениям, приведены в обобщающей таблице 1.

Таблица 1. Данные для линейной и квадратичной экстраполяции смесей

Исследуемый образец	Введенное кол-во ДД, г	Линейная экстраполяция		Квадратичная экстраполяция	
		найденное кол-во ДД, г	точность, отн. %	найденное кол-во ДД, г	точность, отн. %
Додекан	0,203	0,203	0,1	0,203	0,1
Додекан	0,106	0,109	-2,4	0,106	0,6
Додекан	0,301	0,300	0,2	0,300	0,2
Додекан : изопропанол (7 : 3)	0,105	0,106	-0,6	0,108	-2,6
Додекан : изопропанол (5 : 5)	0,102	0,103	-1,0	0,103	-1,5
Додекан в смеси на фоне хлороформа	0,113	0,115	-1,3	0,115	-1,3

Квадратичная экстраполяция дает несколько меньшую погрешность, которая смещена в минусовую область, и составляет -0,75 %, для линейной экстраполяции она равна -0,83 %. Во всех случаях отклонение не выше, чем  $\pm 2,6$  %. Предложенный способ позволяет использовать для экстракции хлороформ (для извлечения из водной среды) и изопропиловый спирт (для извлечения с сорбента), т.к. для смесей наблюдается четкое соответствие между экспериментально введенными и определенными расчетным путем количествами ДД.

В таблице 2 приведены скорости испарения исследуемых веществ, полученные экспериментальным путем ( $V_{\text{дд}}$ , г/мин), из которых видно, что скорость испарения ДД на несколько порядков ниже скорости испарения используемых растворителей.

Таблица 2. Скорости испарения исследуемых веществ

Вещество	Скорость испарения $V_{\text{дд}}$ , г/мин
Додекан	$5,02 \cdot 10^{-4}$
Изопропиловый спирт	$4,84 \cdot 10^{-2}$
Четыреххлористый углерод	$7,03 \cdot 10^{-2}$
Хлороформ	$1,21 \cdot 10^{-1}$

Таким образом, согласно уточненной методике общее количество нефтепродукта  $m_{\text{дд}}$  (включая легколетучую фракцию) можно рассчитать по формуле:

$$m_{\text{дд}} = m'_{\text{дд}} + \tau \cdot V_{\text{дд}}$$

где  $m_{\text{дд}}$  - масса общего количества нефтепродукта, г;

$m'_{\text{дд}}$  - масса нефтепродукта после выветривания (труднолетучая фракция) в течение времени  $\tau$ , г;  $\tau$  - поправка на время испарения растворителя, мин;  $V_{\text{дд}}$  - скорость испарения легколетучих фракций, г/мин.

## 2. Исследование сорбции и биодеструкции додекана из эмульсии

Вначале были проведены сравнительные исследования сорбции ДД из водной эмульсии на различных материалах: на углях марок СКТ-3, ФАС и на нетканом материале на основе полипропиленового волокна (ПП). Исходная концентрация ДД

( $C_{исх}$ ) составляла 643 мг/л, время контакта  $t$  – 24 часа. В таблице 3 приведены результаты определения концентрации ДД после контакта с сорбентом ( $C_t$ ) и рассчитанная эффективность извлечения  $F_t$  по формуле:

$$F_t = (C_{исх} - C_t) / C_{исх} \quad (1)$$

Таблица 3. Эффективность сорбции додекана различными материалами

Сорбент	Концентрация ДД в эмульсии после контакта $C_t$ , мг/л	Эффективность извлечения $F_t$
Уголь СКТ-3	44,5	0,925
Уголь ФАС	23,6	0,964
НМ на основе ПП	106,9	0,834

Эффективность извлечения ДД из эмульсии исследованными сорбентами весьма высока и составляет 0,834 – 0,925 долей (или 83,4 – 96,4 %), однако, при высоких исходных концентрациях ( $C_{исх}$ ) остаточная концентрация ( $C_t$ ) додекана после 24 часов контакта эмульсии с сорбентами остается на уровне, значительно превышающем уровень ПДК<sub>р.х.</sub>, который равен 0,05 мг/л.

Для интенсификации процесса извлечения ДД из водной эмульсии была проведена иммобилизация клеток микроорганизмов на выборочных сорбентах.

Угли обеих марок были исключены из дальнейшего исследования, т.к. при использовании угля марки СКТ-3 происходило вымывание мелкой фракции сорбента, что привело к осложнению дальнейшего разделения жидкой и твердой фазы; при использовании угля марки ФАС, представленного в виде гладких зерен, таких затруднений не возникло, однако, этот сорбент не имеет достаточно развитой макропористости, необходимой для иммобилизации клеток и их надежного удерживания. Кроме того, угли не обладают биологической устойчивостью, в то время как, нетканые материалы обладают высокой удельной поверхностью (на два порядка выше удельной поверхности гранулированных хемосорбентов) и экономически и технологически более выгодны в использовании. Исходя из этих соображений, иммобилизация клеток микроорганизмов была проведена на нетканых материалах двух видов: на основе полипропиленового волокна (ПП), не имеющего в своей структуре активных групп (нейтральный материал), и на основе волокон из сополимера акрилонитрила и стирола (АН-3), содержащего в ароматическом ядре группы первичного и вторичного амина ( $-NH_2$ ,  $=NH$ ). Процесс иммобилизации клеток на полипропилене вероятнее всего носит адсорбционный характер, а на АН-3 происходит дополнительное ионное связывание.

В таблицах 4, 5 представлены параметры сорбции ДД на ПП и биодеструкции ДД на ПП с иммобилизованными микроорганизмами, а также рассчитаны степени извлечения его из эмульсии за определенный отрезок времени. Количество адсорбированного ДД (мг ДД на 1 г сорбента) оценивали по величине статической обменной емкости (СОЕ), расчет которой проводили по формуле:

$$СОЕ = [(C_{исх} - C_t) \cdot V] / g \quad (2)$$

где:  $C_{исх}$  - исходная концентрация ДД в эмульсии, мг/л ( $C_{исх}=89$  мг/л);  $C_t$  - концентрация ДД в воде (мг/л) после времени контакта  $t$ ;  $V$  – объем пробы, взятый для анализа, л ( $V=0,1$  л);  $g$  – навеска нетканого материала, г ( $g(ПП)=0,4$  г).

Степень извлечения ДД из водной эмульсии рассчитывали по выше приведенной формуле 1.

Таблица 4. Параметры извлечения ДД из эмульсии нетканым материалом на основе ПП в статических условиях

Время сорбции t, ч	$C_t^{\text{сорб}}$ , мг/л	СОЕ, мг/г	$F_t^{\text{сорб}}$
0,5	59	7,500	0,337
1	48	10,25	0,461
2	46	10,75	0,483
4	45	11,00	0,494
6	40	12,25	0,551
24	34	13,75	0,618

Вклад биодеструкции (мг/л и %) в процесс извлечения ДД сорбентом с иммобилизованными клетками микроорганизмов оценивали по разнице концентраций:

$C_t^{\text{дестр}} = C_t^{\text{общ}} - C_t^{\text{сорб}}$ , мг/л;  $\Delta_{\text{дестр.}} = C_t^{\text{дестр.}} / C_t^{\text{сорб}}$ , %, где:  
 $C_t^{\text{общ}}$  – концентрация ДД в воде (мг/л) после извлечения его сорбентом с иммобилизованными клетками за время t;  $C_t^{\text{сорб}}$  – концентрация ДД в воде (мг/л) после процесса сорбции за время t;  $\Delta_{\text{дестр.}}$  – вклад биодеструкции в %.

Таблица 5. Параметры извлечения ДД из эмульсии нетканым материалом на основе ПП с иммобилизованными клетками ( $\text{pH}_{\text{исх}}=9$ )

Время контакта t, ч	$C_t^{\text{общ}}$ , мг/л	Вклад биодеструкции		СОЕ, мг/г	$F_t^{\text{общ}}$	рН
		$C_t^{\text{дестр.}}$ , мг/л	$\Delta_{\text{дестр.}}$ , %			
0,5	34	25	42	13,75	0,618	8,93
1	31	17	35	14,50	0,652	8,82
2	27	19	70	15,50	0,697	8,75
4	16	29	64	18,25	0,820	8,55
6	15	25	62	18,50	0,831	8,15
24	10	24	70	19,75	0,888	8,02

Как видно, иммобилизация клеток микроорганизмов значительно увеличивает степень извлечения ДД из водной эмульсии. Вклад биодеструкции в процесс извлечения ДД составляет в среднем 57%.

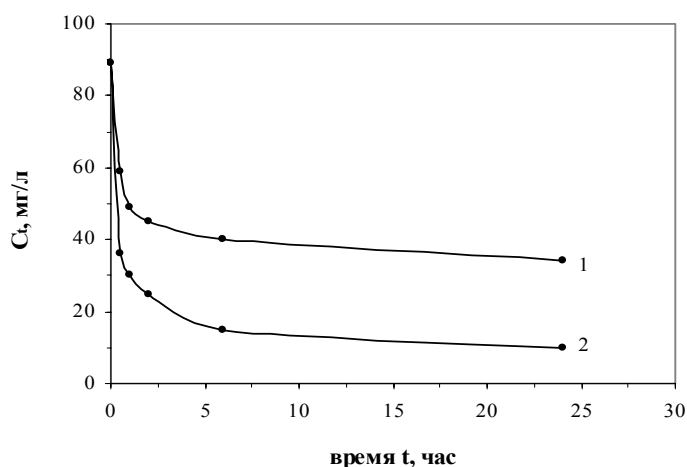


Рис. 2. Зависимость концентрации ДД в эмульсии от времени контакта с ПП (1) и с ПП с иммобилизованными клетками (2)



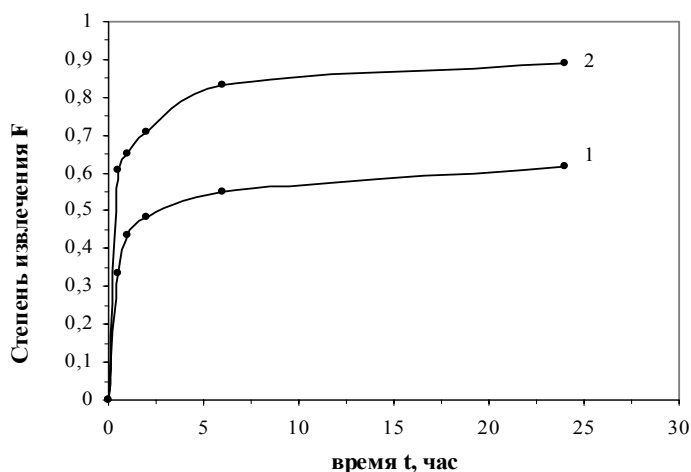


Рис. 3. Зависимость степени извлечения ДД от времени контакта с ПП (1) и с ПП с иммобилизованными клетками (2)

На ри. 2 и 3 представлены зависимости изменения концентраций и степеней извлечения ДД из водной эмульсии от времени контакта с сорбентом и биосорбентом на основе ПП.

Аналогичный эксперимент проведен и на нетканом материале АН-3, который использовался как простой сорбент, так и с иммобилизованными микроорганизмами. В отличие от полипропилена АН-3 содержит в своей структуре активные группы, которые позволяют лучше удерживать клетки на поверхности носителя.

В таблицах 6, 7 приведены параметры процесса сорбции и биосорбции ДД для материала АН-3. Исходные данные для изучаемых процессов следующие:  $C_{исх}=91$  мг/л,  $V=100$  мл,  $g(АН-3)=0,4$  г.

Таблица 6. Параметры извлечения ДД из водной эмульсии нетканым материалом АН-3

Время сорбции t, ч	$C_t^{сорб}$ , мг/л	СОЕ, мг/г	$F_t^{сорб}$
0,5	58	8,25	0,363
1	48	10,75	0,473
2	37	13,50	0,593
4	34	14,25	0,626
6	27	16,00	0,703
24	25	16,50	0,725

В этом случае также, как и в случае с ПП, количество извлеченного ДД на материале с иммобилизованными клетками превышает количество ДД, извлеченное при сорбции. Однако следует отметить, что вклад биодеструкции ДД ниже, чем на ПП (табл.7), и в среднем составляет 42%, тогда как сорбционное извлечение несколько эффективнее.

На рисунках 4-5 представлены зависимости концентрации ДД и степени его извлечения из водной эмульсии от времени контакта с нетканым материалом АН-3 и АН-3 с иммобилизованными клетками.

Таблица 7. Параметры извлечения ДД из водной эмульсии нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками ( $pH_{исх}=9$ )

Время контакта $t$ , ч	$C_t^{общ}$ , мг/л	Вклад деструкции		СОЕ, мг/г	$F_t^{общ}$	рН
		$C_t^{дестр}$ , мг/л	$\Delta_{дестр.}$ , %			
0,5	44	14	24	11,75	0,516	8,57
1	38	10	21	13,25	0,582	8,24
2	21	16	43	17,50	0,769	8,01
4	16	18	53	18,75	0,824	7,90
6	15	12	44	19,00	0,835	7,88
24	8	17	68	20,75	0,912	7,83

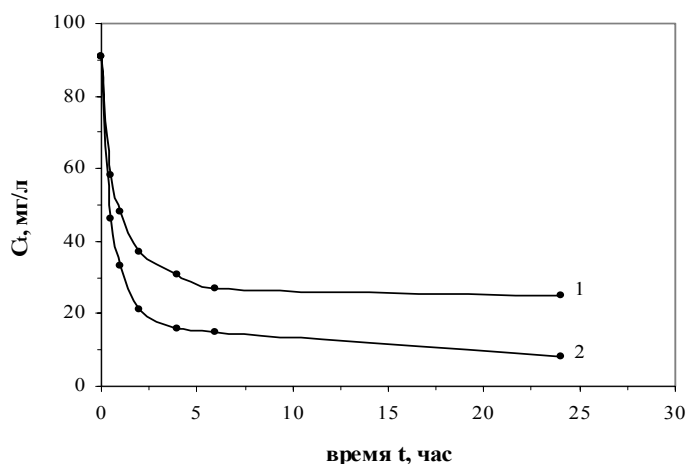


Рис. 4. Зависимость концентрации ДД от времени контакта с АН-3 (1) и АН-3 с иммобилизованными клетками (2)

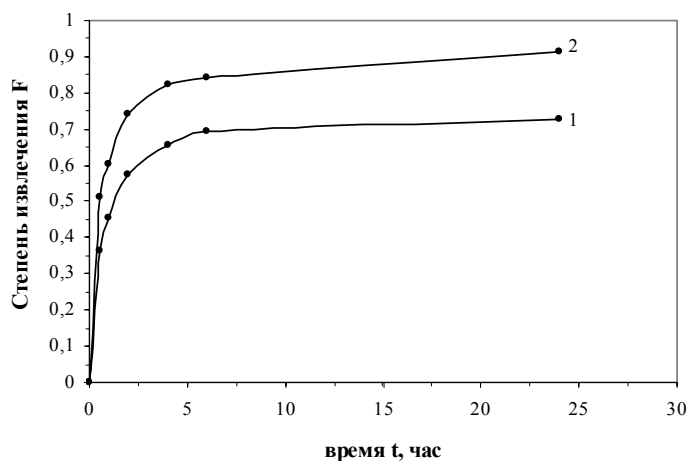


Рис. 5. Зависимость степени извлечения ДД от времени контакта с АН-3 (1) и АН-3 с иммобилизованными клетками (2)

При сравнении двух видов нетканых материалов с иммобилизованными клетками показано, что степень извлечения ДД при использовании АН-3 выше, чем при использовании ПП. Это можно объяснить лучшим удерживанием клеток на поверхности АН-3 и наличием в его структуре аминогрупп, которые являются дополнительным источником в азотно-фосфорно-калиевом питании микроорганизмов, а также более эффективной сорбцией на АН-3.

Логарифмические зависимости концентрации ДД от времени извлечения  $\ln C_{дд} = f(t)$  для исследуемых материалов с иммобилизованными клетками,

представленные на рис. 6, являются линейными зависимостями и описываются уравнениями, позволяющие прогнозировать достижения ПДК<sub>р.х.</sub> по ДД. Для ПП с иммобилизованными клетками уравнение логарифмической зависимости имеет вид:  $\ln C_{\text{ДД}} = 3,66 - 0,216 \cdot t$  с коэффициентом корреляции  $r = 0,99$ , для АН-3 с иммобилизованными клетками:  $\ln C_{\text{ДД}} = 3,86 - 0,294 \cdot t$  с коэффициентом корреляции  $r = 0,95$ .

Согласно полученным уравнениям, уровень ПДК по ДД можно достигнуть через 1,3 суток для ПП с иммобилизованными клетками, и через 1 сутки для АН-3 с иммобилизованными клетками.

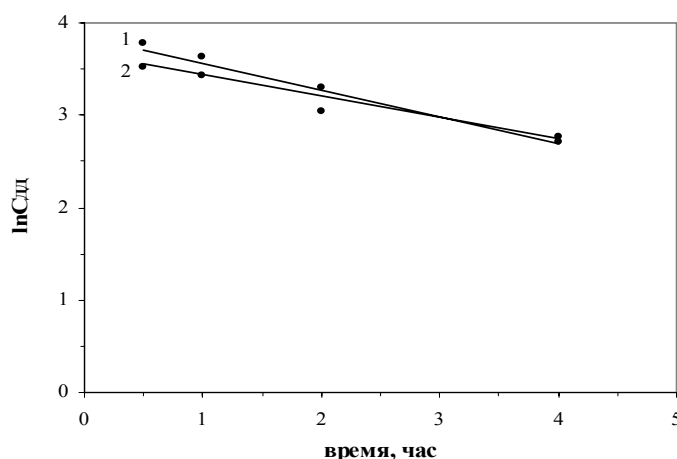


Рис. 6. Логарифмические зависимости концентрации ДД от времени контакта с биосорбентами АН-3 (1) и ПП (2)

Зависимости  $\ln C_{\text{ДД}} = f(t)$  были рассмотрены для периода наиболее эффективной биодеструкции (0 – 5 часа), когда снижение концентрации происходит достаточно интенсивно. По истечении примерно 5 часов биодеструкции количество ДД практически не изменяется, это может свидетельствовать о приостановке процесса за счет изменения рН среды. На рис. 7 показано изменение рН в процессе очистки водной эмульсии ДД с использованием иммобилизованных на ПП и АН-3 клетках.

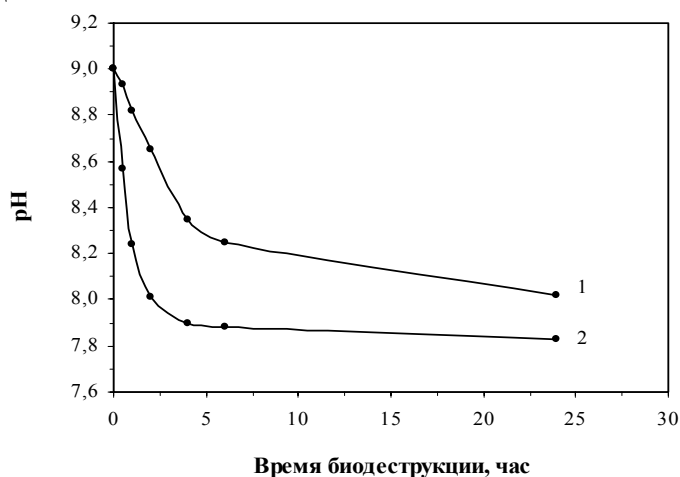


Рис. 7. Зависимость рН эмульсии от времени биодеструкции на ПП (1) и АН-3 (2)

Изменение значений рН происходит в течение первых 5 часов, а затем оно снижается незначительно, причем оптимальные значения рН для биодеструкции, как показывают результаты, лежат в области значений  $8 \div 9$ , в то время как при рН менее

8, процессы биодеструкции практически прекращаются. Процесс биодеструкции связан с определенным механизмом, в этом случае нефтепродукт подвергается ферментативному окислению с образованием гидроксильных групп, которые затем окисляются достаточно быстро до альдегидных и кислотных групп, наблюдается снижение массы углеводорода с последующей деструкцией по концевым группам, изменяется рН среды. Обычно для процессов биодеструкции необходимо поддерживать определенное значение рН и обеспечить оптимальный уровень азотно-фосфорно-калиевого питания микроорганизмов. Экспериментально показано, что снижение деструкции после 5 часов наблюдается на анионите АН-3 даже больше, чем на полипропилене, это может быть связано с большим количеством НУ, деструктирующих до жирных кислот, которые удерживаются ионитом. В этом случае для реализации процесса необходимо вводить определенное количество реагента для связывания кислот, выделяющихся в процессе деструкции, т.е. необходимо рН-статирование.

На материале АН-3 с иммобилизованными клетками были проведены последовательные исследования трех эмульсий с исходной концентрацией ДД 100 мг/л. Результаты экспериментов показали практически постоянную скорость деструкции ДД (количество деструктированного ДД одним граммом сорбента с иммобилизованными клетками за время  $t$ ) во всех трех циклах, которая составила 1.06, 1.05 и 1.04 мг/г·ч. Это свидетельствует о том, что жизнеспособность клеток микроорганизмов была стабильной во всех трех эмульсиях, что позволяет многократно использовать подобные биосорбенты.

### 3. Практическое использование саморегенерирующихся сорбентов

Объектом практического исследования была выбрана сточная вода автомойки, суммарное содержание нефтепродуктов (НУ) в которой было определено уточненным гравиметрическим методом и составило 74 мг/л. Стандартное отклонение составило 0,0016 и относительная квадратичная ошибка 2%.

Исследование сорбции и биодеструкции НУ сточной воды автомойки проводили на нетканом материале АН-3, исходном и с иммобилизованными клетками, который помещали в сточную воду и вводили стандартное количество питательных веществ. В дальнейшем условия жизнедеятельности микроорганизмов оптимизировали, контролируя содержание неорганического азота, фосфора и рН среды в очищаемом объекте с целью интенсификации биодеградации НУ. Степень очистки сточной воды автомойки от НУ контролировали через 0,5; 1; 2; 4; 6 часов и за сутки. Методика расчета параметров обоих процессов аналогична исследованиям, описанным выше на модельной эмульсии ДД.

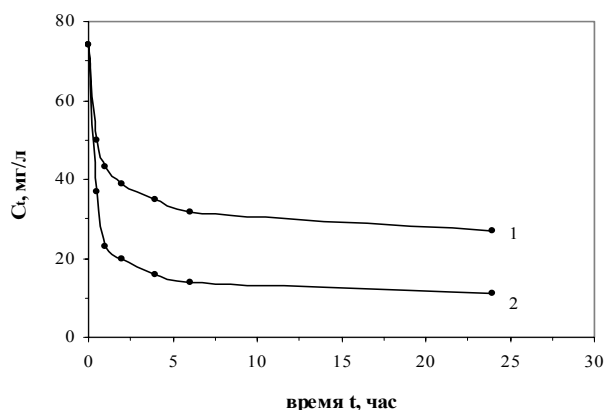


Рис. 8. Зависимость концентрации НУ сточной воды автомойки от времени контакта с АН-3 (1) и АН-3 с иммобилизованными клетками (2)

В табл.10, 11 приведены параметры процесса адсорбции и биосорбции НУ из сточной воды автомойки без коррекции рН и подпитки биогенными элементами. На основании полученных данных были построены зависимости концентрации НУ из сточной воды автомойки от времени контакта с материалом (рис. 8). На рисунке 9 представлено изменение рН воды от времени контакта сточной воды автомойки с биодеструктором АН-3.

Таблица 10. Параметры извлечения НУ из сточной воды автомойки нетканым материалом АН-3

Время контакта, ч	$C_t^{\text{сорб}}$ , мг/л	СОЕ, мг/г	$F_t^{\text{сорб}}$
0,5	50	6,00	0,324
1	43	7,75	0,419
2	39	8,75	0,473
4	36	9,50	0,514
6	31	10,75	0,581
24	27	11,75	0,635

Таблица 11. Параметры извлечения НУ из сточной воды автомойки нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками (без коррекции рН)

Время контакта, ч	$C_t^{\text{общ}}$ , мг/л	СОЕ <sub>сум</sub> , мг/г	рН	Вклад деструкции		$F_t^{\text{общ}}$
				$C_t^{\text{дестр}}$ , мг/л	$\Delta_{\text{дестр.}}$ %	
0,5	37	9,25	8,67	13	26,0	0,500
1,0	23	12,75	8,60	20	46,5	0,689
2,0	20	13,5	8,52	19	48,7	0,730
4,0	16	14,5	8,35	20	55,5	0,784
6,0	14	15,0	8,27	17	54,8	0,811
24	11	15,75	7,85	16	59,3	0,851

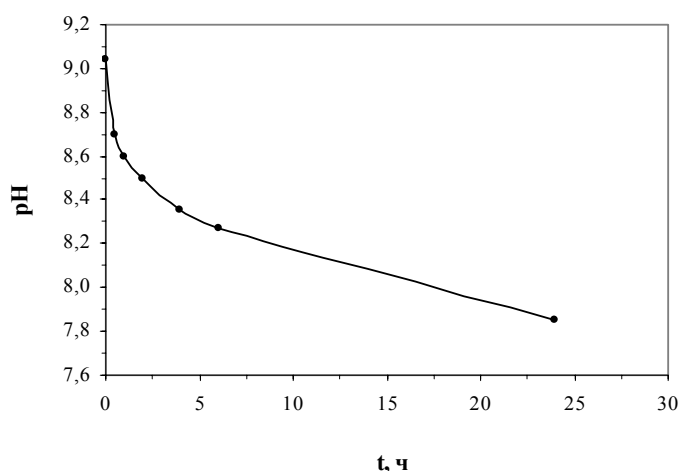


Рис. 9. Зависимость рН сточной воды автомойки от времени контакта с иммобилизованными клетками микроорганизмов на АН-3

Как видно из полученных экспериментальных данных, снижение величины рН сточной воды в зависимости от времени контакта с иммобилизованными клетками отрицательно сказывается на эффективности процесса биодеструкции. Степень очистки  $F_t^{общ}$  составляет 0,851 за 24 часа.

Анализируя изменение равновесной концентрации НУ в сточной воде во времени, было отмечено, что на последней стадии процесса, по истечении суток значение рН системы стало ниже 8, при этом содержание НУ в сточной воде уменьшилось незначительно. Далее, с целью повышения эффективности процесса биодеструкции НУ в изучаемом объекте был проведен эксперимент с коррекцией рН (таблица 12). Поддержание рН в пределах значений 8÷9 должно способствовать более результативному процессу биодеструкции НУ.

Таблица 12. Параметры извлечения НУ из сточной воды автомойки нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками (с коррекцией рН в пределах 8÷9)

Время контакта, ч	$C_t^{общ}$ , мг/л	СОЕ <sub>сум</sub> , мг/г	рН	Вклад деструкции		$F_t^{общ}$
				$C_t^{дестр}$ , мг/л	$\Delta_{дестр.}$ , %	
0,5	35	9,75	8,61	15	30	0,527
1	23	12,75	8,43	20	46,5	0,689
2	19	13,75	8,30	20	51,3	0,743
4	17	14,25	8,21	19	52,7	0,770
6	16	14,50	8,19	15	48,4	0,784
24	9	16,25	8,00	18	66,7	0,878

Для наглядного сравнения на рис. 10 приведены зависимости изменения степени извлечения НУ для процесса биосорбции с коррекцией рН и без коррекции и для чисто сорбционного процесса.

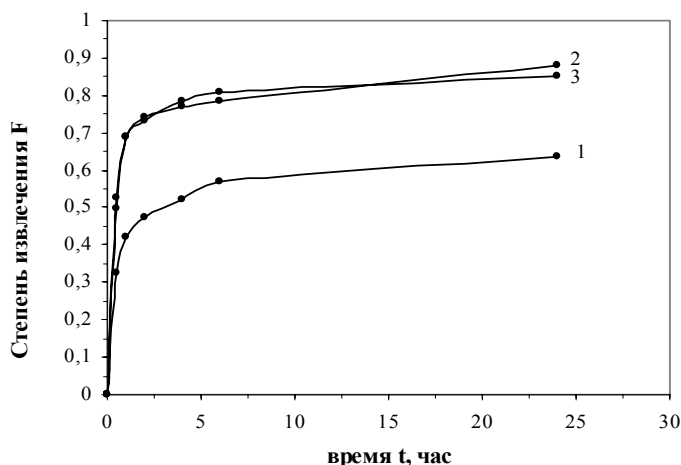


Рис. 10. Зависимость степени извлечения НУ сорбентом АН-3 (1) и АН-3 с иммобилизованными клетками с коррекцией рН (2) и без коррекции рН (3)

Эффект удаления ДД из сточной воды автомойки биосорбентом в сравнении с процессом сорбции очевиден (рис. 8, 10). Коррекция же рН не дала заметного улучшения по степени извлечения НУ из сточной воды автомойки. Остаточная

концентрация НУ значительно превышала ПДК<sub>р.х.</sub> = 0,05 мг/л и составляла 9,0 мг/л (без коррекции рН – 11,0 мг/л).

На графике адекватности степеней удаления НУ из сточной воды автомойки и из модельной водной эмульсии ДД показано, что коэффициенты корреляции для процесса с коррекцией рН и без коррекции (рис. 11) очень высоки, прямые практически совпадают. Уравнения зависимости  $F_t^{\text{общ}}$  сточной воды автомойки от  $F_t^{\text{общ}}$  эмульсии ДД на материале АН-3 имеют следующий вид:

- для процесса биосорбции с коррекцией рН:  $y = 0,9431x + 0,0109$ ;  $r = 0,998$

- для процесса биосорбции без коррекции рН:  $y = 0,9469x + 0,0041$ ;  $r = 0,999$ .

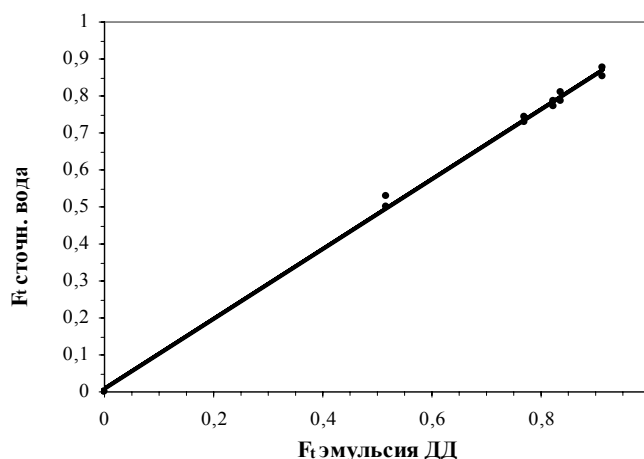


Рис. 11. Зависимость степеней удаления НУ из сточной воды автомойки и из водной эмульсии ДД биосорбентом на основе АН-3

Таким образом, существенного влияния рН среды на процесс биодеструкции практически не выявлено и поэтому в следующих экспериментах было интересно изучить влияние добавления питательных веществ на интенсификацию процесса биодеструкции. В таблице 13 приведены результаты эксперимента по биодеструкции НУ за 24 часа для трех проб, отличающихся количеством вводимых питательных веществ.

Таблица 13. Параметры извлечения НУ из сточной воды автомойки нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками за 24 часа

№ опыта	С <sub>т</sub> , мг/л	рН		СОЕ <sub>сум</sub> , мг/г	F <sub>t</sub>	Количество питательных веществ
		рН <sub>исх</sub>	рН <sub>кон</sub>			
1	12	9,17	7,90	15,50	0,838	Уменьшенное в 2 раза
2	9	9,25	8,10	16,25	0,878	Рекомендуемое
3	5	9,45	8,64	17,25	0,932	Увеличенное в 2 раза

Данные, приведенные в таблице 13, показывают то, что равновесная концентрация НУ в опыте 3, где использовалась добавка из двойного количества питательных веществ, уменьшилась до значения 5 мг/л, тогда как при варианте биодеструкции с коррекцией рН она составляла 9 мг/л, а без коррекции - 11 мг/л. При этом конечное значение рН оказалось равным 8,64, следовательно, можно сказать, что оптимальные значения рН лежат в области 8 ÷ 9, в то время как при рН меньше 8 процесс биодеструкции практически прекращается.

В таблицу 14 сведены все данные, полученные в экспериментах по интенсификации процесса биодеструкции, в т.ч. без добавления питательных веществ и без коррекции рН.

Таблица 14. Параметры извлечения НУ из сточной воды автомойки нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками за 24 часа

C <sub>t</sub> мг/л	рН		СОЕ <sub>сумь</sub> , мг/г	F	Примечание
	рН <sub>исх</sub>	рН <sub>кон</sub>			
15	9,00	7,89	14,75	0,797	Без добавления пит. веществ
11	9,04	7,85	15,75	0,851	Без коррекции рН
9	9,02	8,00	16,25	0,878	С коррекцией рН
5	9,45	8,64	17,25	0,932	С двойной дозой пит. веществ

Полученные экспериментальные данные позволили получить логарифмические зависимости равновесной концентрации НУ от времени контакта с нетканым материалом АН-3 с иммобилизованными клетками в процессе сорбции и биодеструкции:

$\ln C_t = -0,1559 \cdot t + 3,9608$  ( $r=0,95$ ) для процесса сорбции;

$\ln C_t = -0,3715 \cdot t + 3,6808$  ( $r=0,88$ ) для процесса биосорбции без коррекции рН;

$\ln C_t = -0,3764 \cdot t + 3,6509$  ( $r=0,92$ ) для процесса биосорбции с коррекцией рН;

По этим уравнениям можно составить прогноз достижения предельно допустимой концентрации нефтяных углеводородов в сточной воде. Зависимости построены для периодов наиболее интенсивной сорбции и биодеструкции. Решив уравнения, можно сделать вывод о времени, необходимом для достижения уровня ПДК. Так для процесса сорбции оно составляет почти 48 часов, а для процесса биодеструкции с коррекцией рН - 18 часов.

## Заключение

В результате работы был модифицирован и уточнен гравиметрический метод определения концентрации нефтяных углеводородов на примере эмульсии додекана. Метод позволяет учесть количество легколетучих фракций нефтяных углеводородов, потери которых происходят при испарении растворителей.

Проведенные исследования сорбции и биодеструкции неткаными материалами на основе полипропиленового (ПП) и акрилонитрильного волокна (АН-3) с иммобилизованными клетками *Pseudomonas* и *Rhodococcus* подтвердили целесообразность и перспективность использования биологического способа очистки загрязненной нефтепродуктами воды. Кроме того, полученные биосорбенты полностью отвечают одному из основных требований, предъявляемому к иммобилизованным системам в биотехнологических процессах, - многократному использованию (оксидазная активность клеток микроорганизмов сохраняется в течение длительного времени, т.е. клетки не теряют своей жизнеспособности), что подтверждено экспериментально. При использовании материала с иммобилизованными клетками мы имеем саморегенерирующуюся систему для удаления нефтепродуктов, где не происходит накопления сорбированного вещества, т.к. микроорганизмы деструктируют углеводороды как при контакте материала с эмульсией, так и в самом материале, адсорбировавшем НУ, после разделения фаз,



что в дальнейшем исключает необходимость регенерации сорбента (отделение нефтепродуктов) и последующий вывоз и утилизацию отходов. Исследование деструктирующей способности иммобилизованных клеток показало, что степень биоремедиации и удельная скорость биодеструкции зависят от количества субстрата, наличия минеральных элементов и pH среды.

Сделан прогноз по времени достижения ПДК<sub>р.х.</sub> по ДД на примере модели водной эмульсии: при условии коррекции pH время составило бы 1,3 суток для ПП с иммобилизованными клетками, 1 сутки для АН-3 с иммобилизованными клетками. Для реальной пробы сточной воды автомойки, загрязненной НУ, время достижения ПДК<sub>р.х.</sub> по прогнозу составит для сорбции 48 часов, для биодеструкции – 18 часов, что значительно меньше, чем в примерах биоремедиации, описанных в литературе.

### Список литературы

1. Аренс В.Ж. Нефтяные загрязнения: как решить проблему? / В.Ж. Аренс, О.М. Гридин, А.Л. Яншин // Экология и промышленность России. – 1999, №9. – с. 33 – 36.
2. Пономорев В. Г., Иокимис Э. Г., Монгайт И. Л. Очистка сточных вод нефтеперерабатывающих заводов. М.: Химия, 1985. - 256 с.
3. Namoda M.F. Treatment of phenolic wastes in an aerated submerged fixed-film (ASFF) bioreactor/M.F. Namoda, A.H. Al-Haddat, M.f. Abl-El-Bary//J. Biotechnology – 1987. – V.5, N 4. – P. 279-292.
4. Фостер К.Ф. Экологическая биотехнология//К.Ф. Фостер, Д.А. Вейз. – Л.: Химия, 1990. – 282 с.
5. Кузубова Л. И., Морозов С. В. Очистка нефтесодержащих сточных вод. Новосибирск: Химия, 1992. - 72 с.
6. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных и очищенных сточных вод методом колоночной хроматографии с гравиметрическим окончанием. ПНД Ф 14.1:2.116-97. М.; 1997.
7. Бельков В.В. Биоремедиация: принципы, проблемы, подходы // Биотехнология. 1995. № 3 - 4. с. 20 – 27.

#### **Self-regenerating sorbents for water cleaning from oil hydrocabons**

Leykin Y.A., Cherkasova T.A., Smagina N.A.

*D. Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow*

Cleaning of water from oil hydrocarbons by bio-sorbents with immobilized cells of microorganisms has been studied. The results of experiments with the water emulsion of dodecane have demonstrated that bio-sorbents are effective self-regenerating systems for long use. These sorbents provide water cleaning to standard LAC of oil (0.05 mg/l). Self-regeneration sorbents has been tested on real foul water after car wash and it has been shown that LAC value of oil can be achieved after 48 hours for sorption process and after 18 hours for biosorption process.

*Keywords: sorption, self-regeneration, water cleaning, oil hydrocarbons, immobilized cells, biological degradation.*



УДК 621.359.7+536.2

## Теплофизические свойства ионообменных мембран

Решетникова А.К.

*Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж*

Шапошник В.А.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

---

### Аннотация

Предложен метод измерения теплофизических характеристик мембран и измерены коэффициенты теплопроводности и температуропроводности, удельные теплоёмкости серийных отечественных ионообменных гетерогенных мембран марок МК-40 и МА-40. Рассмотрена теория теплопроводности ионообменных мембран. Результаты исследования показали, что ионообменные мембраны являются уникальным материалом, в котором сочетаются свойства теплоизолятора с высокой ионной электропроводностью

---

### Теоретические основы метода

Ионообменные мембраны применяют в процессе электродиализа для опреснения солоноватых вод [1,2], финишной ступени получения ультрачистой воды [3], разделения растворов электролитов и неэлектролитов, смесей ионов [1]. Повышение температуры процесса до  $70^{\circ}\text{C}$  приводит к ускорению массопереноса, однако, при более высоких температурах происходит частичная деструкция ионообменных материалов, которая ограничивает интервал используемых при электродиализе температур. Расчеты по уравнению Аррениуса показали, что увеличение температур обрабатываемых растворов приводит к увеличению массопереноса при электродиализе более чем в три раза. Отметим при этом, что в большинстве случаев нет необходимости использования для увеличения температуры внешних источников тепла, так как при электродиализе имеются внутренний источник теплоты – джоулево тепло, выделяющееся при диссипации электрической энергии [4]. Задачей настоящей работы является измерение теплофизических характеристик ионообменных мембран, которые необходимы для математического моделирования и оптимизации процесса электродиализа.

Температурное поле ионообменных мембран описывается уравнением нестационарной теплопроводности

---

$$\frac{\partial t(x, \tau)}{\partial \tau} = a \frac{\partial^2 t(x, \tau)}{\partial x^2}, \quad (1)$$

в котором  $t$  - температура,  $\tau$  - время,  $x$  - координата по направлению распространения тепла,  $a$  - коэффициент теплопроводности. Начальным условием краевой задачи является равенство температуры по всей толщине мембраны и эталона (2), находящегося в контакте с мембраной, причем начальная температура принимается равной нулю

$$t(x, 0) = t_2(x, 0) = 0 \quad (2)$$

При приведении с контакт поверхности мембраны с нагревателем (рис.1) на их границе выполняется условие

$$t_1(0, \tau) = t(0, \tau) \quad (3)$$

Потоки тепла от мембраны к эталону 2 (рис.1) при плотном их контакте равны и это равенство может быть записано в виде граничного условия IV рода

$$\lambda \frac{\partial t(d, \tau)}{\partial x} = \lambda_2 \frac{\partial t_2(d, \tau)}{\partial x}, \quad (4)$$

где  $\lambda$  и  $\lambda_2$  - коэффициента теплопроводности мембраны и эталона,  $d$  - толщина мембраны. Общее решение краевой задачи (1-4) было найдено А.В. Лыковым [5,6] и имеет вид

$$t = t_1(1 + \alpha) \sum_{n=1}^{\infty} (-\alpha)^{n-1} [1 - \operatorname{erf} z_n] \quad (5)$$

с параметрами решения

$$\alpha = \frac{\lambda \sqrt{a_2} - \lambda_2 \sqrt{a}}{\lambda \sqrt{a_2} + \lambda_2 \sqrt{a}}; \quad z_n = \frac{(2n-1)}{2\sqrt{a\tau}}, \quad (6)$$

Было показано [6], что для малого значения времени можно ограничиться первым членом ряда (5)

$$t = t_1(1 + \alpha) [1 - \operatorname{erf} z]; \quad z = \frac{d}{2\sqrt{a\tau}} \quad (7)$$

### Метод измерения

Для комплексного измерения теплофизических характеристик ионообменных мембран было применено устройство (рис.1), в котором мембраны М располагалась между термостатируемым нагревателем Н и талоном Э.

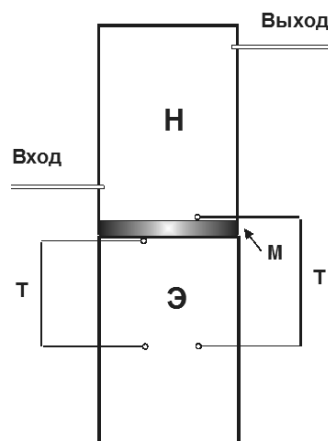


Рис. 1. Установка для измерения теплофизических характеристик мембран. Н – нагреватель, М – мембрана, Э – эталон, Т – термопары.

Стальной нагреватель с помощью ультратермостата нагревали до 40-60 °С. Его помещали на пакет 5 ионообменных мембран. Были проведены измерения комплекса теплофизических характеристик катионообменной мембраны МК-40, приготовленной из композиции 65 % сильнокислотного сульфокатионообменника КУ-2 и полиэтилена высокого давления, и анионообменной мембраны МА-40, приготовленной из 55 % анионообменника ЭДЭ-10П смешанной основности, содержащего 10% триметиламмония, вторичные и третичные аминогруппы, и полиэтилен. Мембраны были изготовлены ОАО «Щекиноазот» прессованием композиций ионообменников и полиэтилена высокого давления с капроном в качестве армирующей ткани. Пакет помещали в цилиндр с эталонным теплоизолятором, в качестве которого использовали парафин, имеющий коэффициент теплопроводности  $2.68 \cdot 10^{-3}$  Дж/(см·с·град), удельную теплоемкость  $2.26$  Дж/(г·град) и коэффициент температуропроводности  $1.5 \cdot 10^{-3}$  см<sup>2</sup>/с. Температуру на границе нагреватель-образец и образец – эталон измеряли дифференциальными медь - константановыми термопарами.

Процедура измерения состояла в следующем. После приведения в соприкосновение нагревателя с мембранами находили отношение времен  $\tau''/\tau'$ , при котором отношение температур на границе мембран и теплоизолятора равно постоянной величине. Мы принимали отношение температур  $t''/t' = 2$

$$\frac{t''}{t'} = \frac{1 - \operatorname{erf} z''}{1 - \operatorname{erf} z'} = 2 \quad (8)$$

Функция ошибок  $\operatorname{erf} z$  табулирована [7]. В работах [5,6] были проведены расчеты зависимости  $z'' = f(\tau''/\tau')$ , которая представлена на рис. 2. Измерив времена  $\tau''$  и  $\tau'$ , соответствующие отношению температур 2, с помощью графика, представленного на рис. 2, находим коэффициент температуропроводности мембран

$$a = \frac{d}{4(z'')^2 \tau''} \quad (9)$$

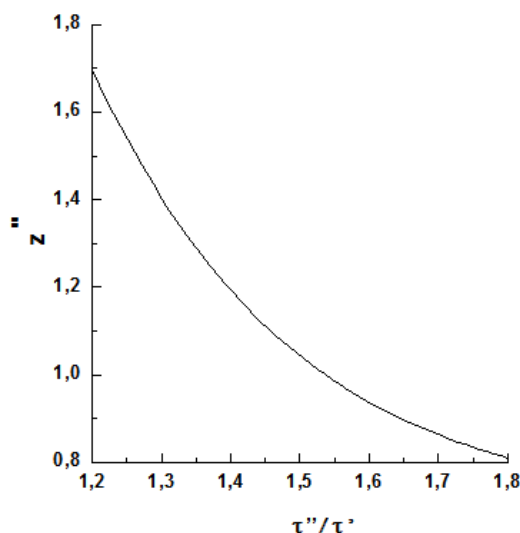


Рис. 2. График зависимости параметра  $z''$  от отношения времен  $\tau''/\tau'$  при отношении температур  $t_2/t_1 = 2$

Для коэффициента теплопроводности из выражения для параметра решения (6) имеем

$$\lambda = \frac{\lambda_2(1+\alpha)}{\sqrt{a_2(1-\alpha)}} \sqrt{a}, \quad (10)$$

где параметр  $\alpha$  определяется из выражения (7)

$$\alpha = \frac{t(d)}{t_1[1 - \operatorname{erf} z]} - 1 \quad (11)$$

По известным величинам коэффициентов теплопроводности ( $\lambda$ ), температуропроводности ( $a$ ) и плотности мембран ( $\gamma$ ) рассчитывали удельную теплоемкость

$$c = \frac{\lambda}{a\gamma} \quad (12)$$

## Результаты и их обсуждение

Табл. 1 содержит результаты измерений теплофизических характеристик ионообменных мембран.

Таблица 1. Теплофизические характеристики мембран МК-40 и МА-40

Характеристика	Марка мембраны	
	МК-40	МА-40
$\lambda, 10^{-3} \text{ Дж}/(\text{см} \cdot \text{с} \cdot \text{град})$	$2.70 \pm 0.16$	$3.56 \pm 0.30$
$a, 10^{-3} \text{ см}^2/\text{с}$	$0.87 \pm 0.08$	$1.26 \pm 0.11$
$c, \text{ Дж}/(\text{г} \cdot \text{град})$	$2.63 \pm 0.25$	$2.59 \pm 0.23$

Величины коэффициентов теплопроводностей и температуропроводностей мембран позволяют их охарактеризовать как теплоизоляторы. Будучи аморфными телами, ионообменные мембраны имеют малые длины свободного пробега фононов, так как их величина ограничена размерами структурных ячеек, приводящей к высокому термическому сопротивлению и малой теплопроводности.

Сравнение коэффициента диффузии ( $D$ ) и коэффициента температуропроводности ( $a$ )

$$Le \equiv \frac{D}{a}, \quad (13)$$

называемого числом Льюиса ( $Le \approx 10^{-4}$ ) показывает, что сопротивление ионообменным массопереносу на четыре порядка больше сопротивления переносу энергии.

Удельная теплоемкость ионообменных мембран в первом приближении может быть рассмотрена как совокупность аддитивных вкладов удельных теплоемкостей материалов композита, из которых они изготовлены

$$c = \sum_i n_i c_i \quad (14)$$

Табл. 2 показывает величины удельной теплоемкости мембран, измеренные по предлагаемому методу, и рассчитанные из вкладов составляющих композита мембраны – воды, полистирольного ионообменника и полиэтилена.

Таблица 2. Составляющие удельной теплоемкости ионообменных мембран

Марка мембраны	Содержание компонентов, доли			Удельная теплоемкость, Дж / (г · град)	
	Вода	Ионообменник	Полиэтилен	Эксперим.	Рассчитано
МК-40	0.40	0.38	0.22	2.63 ± 0.25	2.28
МА-40	0.38	0.35	0.27	2.59 ± 0.23	2.63

Анализ таблицы показывает, что основной вклад в удельную теплоемкость дает вода. Для мембраны МК-40 вклад воды составляет 62.3 %. Вклад ионообменника и полиэтилена втрое меньше вклада воды.

## Выводы

1. Предложен метод измерения теплофизических характеристик ионообменных мембран.
2. Измерены коэффициенты теплопроводности, температуропроводности и удельная теплоемкость ионообменных гетерогенных мембран МК-40 и МА-40.
3. Показано, что ионообменные мембраны являются теплоизоляторами.

## Список литературы

1. Деминерализация методом электродиализа / под ред. Дж. Уилсона. – М.: Госатомиздат, 1963. – 351 с.

---

2. Заболоцкий В.И., Березина Н.П., Никоненко В.В., Шапошник В.А., Цхай А.А. Развитие электродиализа в России // Мембраны. – 1999, № 4. – С. 4 – 27.

3. Шапошник В.А., Решетникова А.К., Золотарева Р.И., Дробышева И.В., Исаев Н.И. Деминерализация воды электродиализом с применением межмембранной засыпки ионообменниками // Журнал прикладной химии. – 1973. – Т. 46, № 12. – С. 2659-2663.

4. Шапошник В.А., Решетникова А.К., Ключников В.Р. Внутренние источники теплоты при электродиализе // Электрохимия. – 1985. – Т. 21, № 12. – С. 1683-1685.

5. Лыков А.В. Явления переноса в капиллярно-пористых телах. – М.: Высшая школа, 1967. – 296 с.

6. Лыков А.В. Теория теплопроводности. – М.: Высшая школа, 1967. – 599 с.

7. Корн Г., Корн Т. Справочник по математике. М.: Наука, 1974. – 831 с.

### **Thermal properties of ion-exchange membranes**

2008 A.K. Reshetnikova<sup>\*</sup>, V.A. Shaposhnik<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Voronezh State Agrarian University, <sup>\*\*</sup> Voronezh State University

The method of thermal properties of membranes measuring was offered and coefficients of thermal conductivities and thermal conduction, specific heat capacities of ion-exchange heterogeneous membranes of marks МК-40 and МА-40 was measured. The theory of a thermal conduction of ion-exchange membranes is viewed. Results of examination have been shown, that ion-exchange membranes are a unique material in which properties of a heat insulator are combined with a high ionic conduction.



УДК 541.183

## Термодесорбционная хромато-масс-спектрометрия стильбенов, иммобилизованных на поверхности аэрогелей оксидов титана, кремния и алюминия

Полунин К.Е., Дзарданов Д.В., Буряк А.К.,  
Ульянов А.В., Полунина И.А.

Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фrumкина (ИФХЭ РАН), Москва

### Аннотация

Методами хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и термодесорбционной хромато-масс-спектрометрии (ТДМС) изучены продукты десорбции стильбеноидов, иммобилизованных на поверхности нанодисперсных аэрогелей оксидов титана, алюминия и кремния. Показано, что изомеры стильбена и метоксистильбен легко десорбируются с поверхности  $\text{TiO}_2$  органическими растворителями. Термодесорбция *транс*-стильбена с  $\text{TiO}_2$  максимальна при  $180^\circ\text{C}$  (энергия активации десорбции 110 кДж/моль), метоксистильбена – при  $200^\circ\text{C}$ . Гидроксистильбен, адсорбированный на  $\text{TiO}_2$ , не десорбируется при нагревании, а при  $400^\circ\text{C}$  подвергается деструкции. Основным продуктом десорбции модельного соединения (*n*-дигидроксибензола) является бензофенон.

Деструкция и фотоокисление *цис*-стильбена на оксидах кремния, алюминия и титана протекает интенсивнее, чем *транс*-изомера. Основными продуктами фотолиза стильбенов на  $\text{TiO}_2$  являются бензофенон и бензойная кислота, на  $\text{SiO}_2$  – фенантрен, на  $\text{Al}_2\text{O}_3$  – фенантрен и бензофенон. Выделение бензофенона с  $\text{TiO}_2$  в интервале  $50\text{--}350^\circ\text{C}$  описывается кривой с тремя максимумами. Выход бензофенона достигает 98% при облучении 1,1-дифенилэтилена, адсорбированного на  $\text{TiO}_2$ . Фотолиз *транс*-4-метоксистильбена и *транс*-4-гидроксистильбена на  $\text{TiO}_2$  приводит к их деструкции и окислению по этиленовой связи с образованием альдегидов

### Введение

Функциональные производные стильбена (1,2-дифенилэтилена) широко распространены в растительном мире и давно используются в традиционной медицине [1-3]. Особенности электронного строения этих соединений, как и других представителей класса арилполиенов, придают их молекулам не только сильную физиологическую активность, но и ценные физико-химические свойства. В частности, эти соединения могут быть фотохромными, электропроводящими, обладать нелинейно-оптическими и диэлектрическими свойствами [4-5]. Благодаря существованию быстрых и обратимых *цис*-*транс*-переходов, индуцированных фотохимическим путем, стильбены относятся к «интеллектуальным» молекулам, которые можно рассматривать как двухбитовый информационный носитель и использовать для производства, приема и обработки информации [6]. Энергия активации процесса изомеризации невелика и составляет 13-17 кДж/моль [4].



Оксиды титана, алюминия и кремния широко используются в качестве носителей, пигментов и наполнителей для композиционных материалов, продуктов электронной и радиотехнической промышленности [7-8]. Важнейшим свойством  $\text{TiO}_2$ , отличающим его от других оксидов, является фотохимическая активность к действию видимого и УФ света, проявляющаяся даже при температуре жидкого азота [8]. Механизм этого явления заключается в разрыве поверхностных титоксановых связей в результате поглощения кванта света ( $\lambda = 300-800$  нм), захвате ионами  $\text{Ti}^{4+}$  свободных электронов и превращении их в ионы  $\text{Ti}^{3+}$ . Освобождающийся при этом кислород окисляет окружающую среду, что позволяет использовать  $\text{TiO}_2$  в качестве катализатора процессов окисления [9]. Хотя на данный момент нельзя провести прямой корреляции между фотоактивностью и свойствами  $\text{TiO}_2$ , известно, что состояние его поверхности, морфология и размер частиц оказывают непосредственное влияние как на процессы адсорбции и десорбции органических соединений, так и на их фотокаталитическое окисление [8].

В связи с развитием фотоники и молекулярной электроники, производства лазерных красителей и преобразователей солнечной энергии, возникает необходимость исследования трансформации биомолекул на поверхности металлов и оксидов под влиянием внешних факторов, что может осложнить эксплуатацию композиционных материалов и биосенсоров на их основе. В настоящее время поведение функциональных производных стильбена (стильбеноидов) в присутствии оксидов титана и алюминия практически не изучено, хотя оба эти компонента часто встречаются в наполненных материалах [7].

В [10-11] при изучении равновесной адсорбции стильбеноидов на оксидах металлов нами было показано, что взаимодействие *транс*- и *цис*-изомеров стильбена с оксидами титана и алюминия протекает частично необратимо и приводит к образованию плотных монослоев из молекул, образующих водородные и координационные связи с поверхностью. Адсорбция гидроксистиленов значительно выше, чем адсорбция метоксистиленов, и в случае  $\text{TiO}_2$  сопровождается образованием окрашенных поверхностных соединений. Целью данного исследования являлось изучение продуктов десорбции стильбеноидов, иммобилизованных на поверхности оксидов кремния, титана и алюминия, а также исследование продуктов их термодеструкции, каталитического и фотохимического превращения на поверхности методами хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и термодесорбционной масс-спектрометрии (ТДМС).

## Экспериментальная часть

Исследовались синтетические гидрокси- и метоксипроизводные 1,2-дифенилэтилена (стильбеноиды) 97-99% степени чистоты от Acrus (Россия) и Sigma (США).

В качестве адсорбентов использовались аэрогели нанодисперсных непористых оксидов титана, алюминия и кремния фирмы Degussa (Германия). Величины удельной поверхности адсорбентов, рассчитанные по БЭТ из изотерм низкотемпературной адсорбции азота, приведены в табл. 1. Перед использованием в эксперименте все адсорбенты высушивались при температуре  $200^\circ\text{C}$  в течение 4 ч.

Адсорбция стильбеноидов проводилась из растворов в диэтиловом эфире ( $c = 1$  мг/мл) при постоянном перемешивании суспензий оксидов в течение 3 ч. Образцы модифицированных адсорбентов высушивались на воздухе при  $25^\circ\text{C}$ . Десорбция

стильбеноидов с поверхности оксидов достигалась путем перемешивания суспензии модифицированного адсорбента в чистом растворителе (эфир, ацетон) при 25°C в течение 3 ч с последующей декантацией раствора. Диэтиловый эфир и ацетон марки «for HPLC» от фирмы Agcus предварительно сушили над металлическим натрием и очищали перегонкой в токе аргона.

Таблица 1. Характеристика адсорбентов фирмы Degussa

Адсорбент	Марка	Размер первичных частиц, нм	$S_{уд}, м^2/г$
Оксид титана $TiO_2$	P-25	20	53
Оксид алюминия $Al_2O_3$	AluC	13	100
Аэросил $SiO_2$	A-300	7	310

Исходные стильбеноиды и модифицированные ими образцы оксидов облучались на воздухе УФ светом ртутно-кварцевой лампы ДРТ 240-1 мощностью 240 кВт/ч в течение 20 ч. Облученность образцов светом с длиной волны 285-305 нм составляла 3 Вт/м<sup>2</sup> на расстоянии 0,5 м до облучаемой поверхности, которая постоянно охлаждалась водой.

Продукты десорбции и термодеструкции стильбеноидов на поверхности оксидов анализировались на хромато-масс-спектрометре JMS-D300 (Jeol) с компьютером JMA-2000 и хроматографом HP 5890 (капиллярная колонка DB-5 размером 30 м × 0.53 мм). В качестве газа-носителя применялся гелий ( $v = 5$  мл/мин). Для оптимизации хроматографического разделения использовали разные скорости программирования температуры от 10 до 25 град/мин.

При термодесорбционных исследованиях адсорбент помещался в кварцевый пиролизер, непосредственно присоединенный к ионному источнику хромато-масс-спектрометра, и нагревался до 450°C с линейной скоростью от 2 до 50°C в минуту. Скорость записи спектров в диапазоне массовых чисел от 10 до 300  $m/z$  либо от 40 до 800  $m/z$  варьировалась от 2 до 10 с (где  $m/z$  – отношение массы иона к его заряду). Продукты пиролиза и десорбции попадали непосредственно в ионный источник прибора, температура которого составляла 150°C, энергия ионизирующих электронов – 70 эВ, ускоряющее напряжение – 3 кВ. Идентификация соединений осуществлялась на основании закономерностей фрагментации органических соединений под электронным ударом и данных библиотеки масс-спектров [12]. Расчеты энергий активации десорбции проводились по методикам, изложенным в [13].

## Результаты и их обсуждение

Адсорбция *транс*-изомеров стильбена из диэтилового эфира на оксидах титана, алюминия и кремния описывается выпуклыми изотермами Ленгмюра (рис. 1). На одну иммобилизованную молекулу стильбена в этих монослоях приходится, соответственно, 6,5, 13,6 и 31,2 нм<sup>2</sup>. Поскольку вертикально ориентированные молекулы стильбеноидов в монослое Ленгмюра-Блоджетт занимают площадку 0,25 нм<sup>2</sup> [14], то по-видимому, молекулы *транс*-стильбена лежат на поверхности исследуемых оксидов.

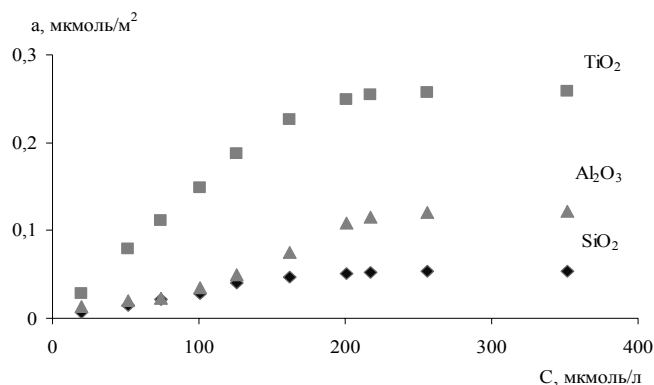


Рис. 1. Изотермы адсорбции *транс*-стильбена из диэтилового эфира на оксидах кремния, титана и алюминия

Адсорбция *цис*-изомеров стильбена несколько меньше, чем *транс*-изомеров. В монослое на оксидах титана, алюминия и кремния его молекулы занимают площадки в 7,0, 17,7 и 40,5 нм<sup>2</sup>, соответственно.

Исследование ИК-спектров оксидов, модифицированных стильбенами, проведенное в [15], показало, что адсорбция *транс*- и *цис*-изомеров стильбена сопровождается в основном образованием водородных связей с поверхностными ОН группами оксидов. Кроме того, на оксидах титана и алюминия возможно образование слабых донорно-акцепторных связей с поверхностными координационно-ненасыщенными ионами металлов и незначительная диссоциативная хемосорбция соединений.

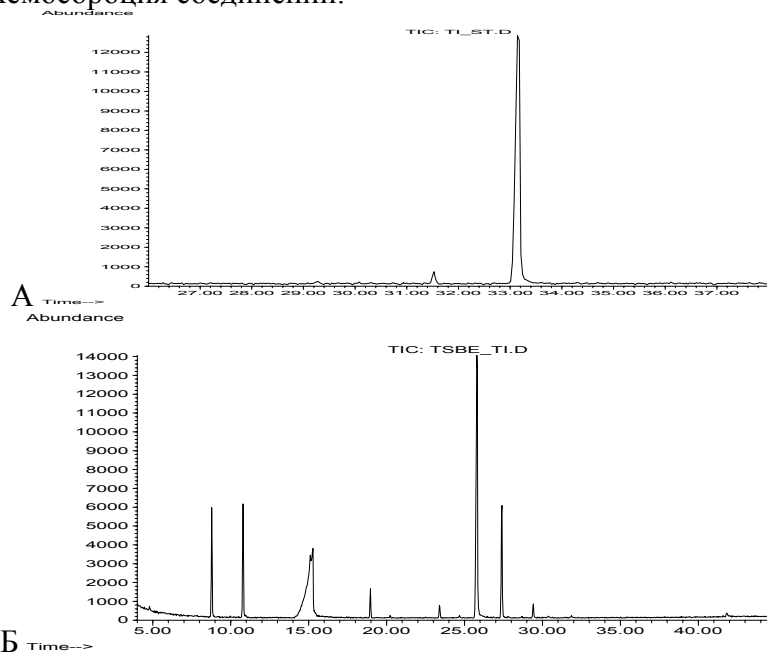


Рис. 2. Хроматограммы продуктов десорбции, смытых ацетоном: а – с поверхности TiO<sub>2</sub>, модифицированного *транс*-стильбеном; б – с поверхности TiO<sub>2</sub>, модифицированного *транс*-стильбеном, после УФ облучения в течение 20 ч.

По данным ИК-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии, основным продуктом десорбции растворителем (эфиром или ацетоном) с модифицированной стильбенами поверхности оксидов являются молекулы адсорбатов. Это иллюстрируют результаты, приведенные на рис. 2 и 3. В данном случае показано,

что основным продуктом десорбции с поверхности  $\text{TiO}_2$  марки P-25 (75% анатаза, 25 % рутила), является *транс*-стильбен с  $M/z$  180. Аналогичный результат был получен при исследовании десорбции стильбена с поверхности другой модификации  $\text{TiO}_2$  – рутила [16].

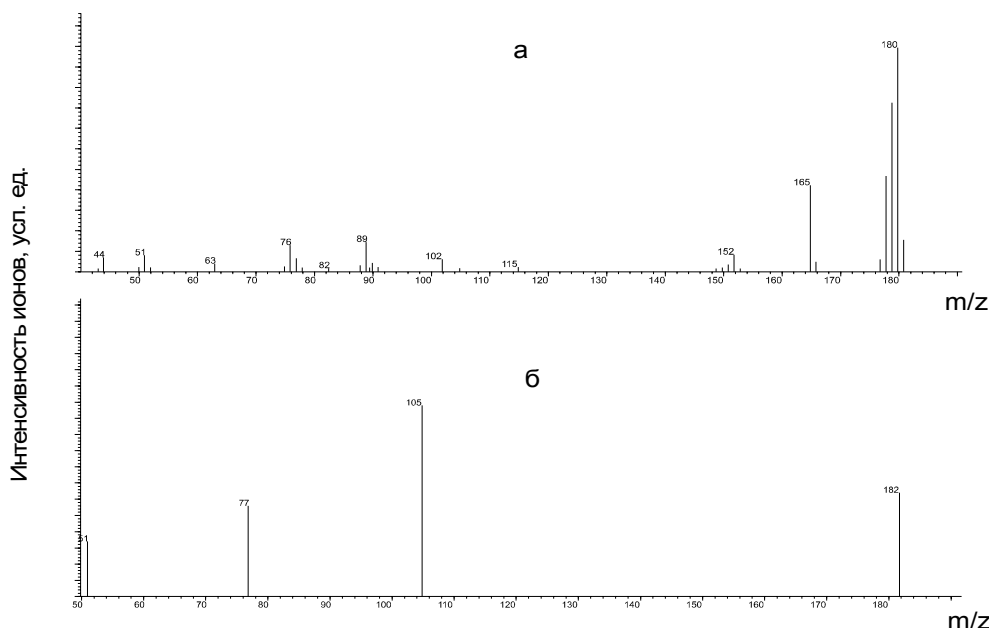


Рис. 3. Масс-спектры: а – *транс*-стильбена, десорбированного с поверхности  $\text{TiO}_2$ ; б – бензофенона, десорбированного с поверхности  $\text{TiO}_2$  после облучения УФ светом в течение 20 ч

При хранении модифицированных стильбенами оксидов на солнечном свете, а также при их УФ облучении наблюдается изменение окраски образцов от белой до желтоватой.

На рис. 4 приведен электронный спектр *транс*-стильбена, до и после его облучения УФ светом с  $\lambda = 250\text{-}280$  нм на воздухе (крив. 1 и 2). В результате фотовозбуждения часть молекул *транс*-стильбена изомеризуется в *цис*-стильбен и окисляется в фенантрен, что заметно по увеличению поглощения при 270 и 250 нм, соответственно.

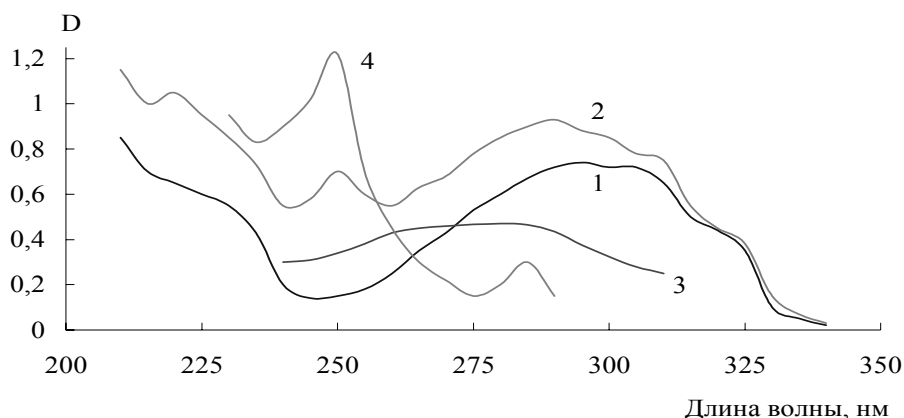


Рис. 4. Электронные спектры поглощения *транс*-стильбена (1), *цис*-стильбена (3), фенантрена (4) и *транс*-стильбена, облученного УФ светом в течение 6 ч. (2). Исследовались растворы стильбенов в *n*-гексане ( $c = 0,4$  ммоль/л)

Продукты трансформации стильбеноидов на поверхности оксидов под действием УФ излучения были исследованы методами ГХ-МС и ТДМС.

Как видно на рис. 2-3, основным продуктом десорбции с поверхности  $\text{TiO}_2$  (P-25), модифицированного *транс*-стильбеном, является бензофенон  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}$  ( $M/z$  184,  $m/z$  105,  $t = 25,8$  мин.) – его выделяется более 40%. Кроме него в составе продуктов фотолиза обнаружено 7% бензальдегида ( $M/z$  106,  $t = 8,8$  мин.), 7% бензилового спирта ( $M/z$  108,  $t = 10,8$  мин.), 34% бензойной кислоты ( $M/z$  105,  $t = 15,2$  мин.), 3% дибензила ( $M/z$  91,  $t = 23,4$  мин.), 8% *цис*-стильбена ( $M/z$  180,  $t = 27,4$  мин.) и незначительное количество других примесей. Те же соединения были обнаружены при облучении стильбена методом ИК-спектроскопии в [15].

Сравнение этих результатов с данными по УФ облучению чистого стильбена, приведенными на рис.4, показывает, что роль  $\text{TiO}_2$  при фотолизе иммобилизованных стильбенов очень велика – он полностью меняет механизм окисления, т.к. фенантрена не обнаружено.

При исследовании в [16] десорбции *транс*-стильбена с поверхности рутила, который обладает значительно меньшей фотоактивностью, чем анатаз [8], количество бензофенона было значительно меньше, а продуктов деструкции и окисления по олефиновой связи идентифицировать не удалось, хотя имелись следы каких-то соединений. Вероятно, анатаз играет роль фотосенсибилизатора, т.к. он фотоактивируется уже видимым светом, в результате чего процессы фотоизомеризации и фотоокисления протекают на анатазе намного быстрее и глубже, чем на рутиле.

На рис. 5-6 приведены результаты исследования термодесорбции *транс*-стильбена, иммобилизованного на поверхности  $\text{TiO}_2$  (P-25), и бензофенона, образовавшегося на его поверхности после УФ облучения, полученные методом ТДМС.

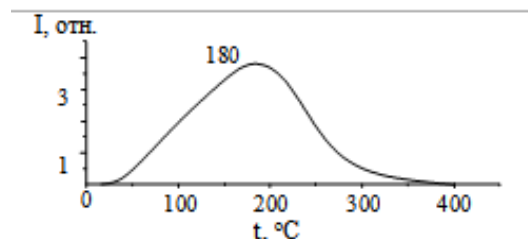


Рис. 5. Масс-термограмма *транс*-стильбена с  $M/z$  180, десорбированного с поверхности  $\text{TiO}_2$ . Скорость программируемого нагрева  $\nu = 20$  град./мин

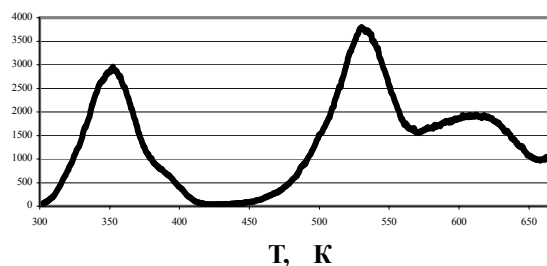


Рис. 6. Масс-термограмма осколочного иона бензофенона с  $m/z$  178, десорбированного с поверхности  $\text{TiO}_2$ . Скорость программируемого нагрева  $\nu = 20$  град./мин

Методом характеристических точек [13] были рассчитаны кинетические параметры процессов термодесорбции. Выделение молекул стильбена с поверхности

TiO<sub>2</sub> описывается почти гауссовой кривой, максимум которой лежит в области 180°С. Энергия активации десорбции стильбена составила E<sub>А</sub> = 110 кДж/моль (порядок реакции n = 1).

Как видно на рис. 6, термодесорбция бензофенона описывается сложной кривой с тремя максимумами при 80, 250 и 350°С. Для десорбции бензофенона при 80°С требуется энергия активации 70 кДж/моль, а при 250°С – 140 кДж/моль. Вероятно, первый десорбционный пик описывает выделение физически адсорбированных молекул бензофенона, большая часть которых смывается с поверхности растворителем, а при 250–350°С происходит десорбция его молекул, координационно и химически связанных с поверхностью.

Таким образом, в результате УФ облучения *транс*-стильбена, адсорбированного на поверхности TiO<sub>2</sub>, наблюдается образование бензофенона – продукта фотокаталитического окисления, а также продуктов фотодеструкции и окисления стильбена по двойной связи этиленового фрагмента (бензальдегид, бензиловый спирт, бензойная кислота). Фотоокисление олефинов с разрывом двойных связей – хорошо известный процесс [17], однако образование бензофенона нигде ранее не отмечалось. Можно предположить, что процесс окисления стильбена начинается с каталитического присоединения протона или кислорода по двойной связи этиленового фрагмента и образования карбокатиона в качестве интермедиата. В результате последующей изомеризации образуется 1,1-дифенилэтилен, окисление которого приводит к появлению бензофенона и формальдегида (рис. 7). Поскольку формальдегид в спектре ТДМС не регистрируется, то скорее всего, он окисляется до муравьиной кислоты и хемосорбируется с образованием формиатов, которые обнаружены спектроскопически. Пиролиз формиатов на TiO<sub>2</sub> приводит к образованию фрагментов, характерных для всех углеводородов – оксидов углерода и воды [18].

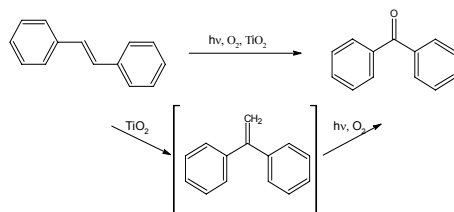


Рис. 7. Схема фотокаталитического окисления *транс*-стильбена

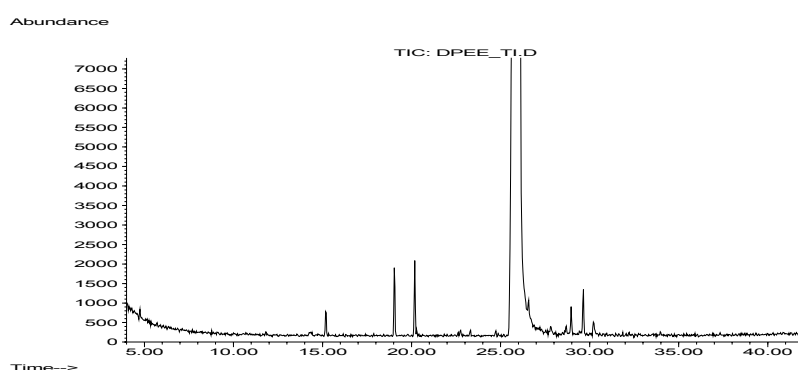


Рис. 8. Хроматограмма продуктов десорбции, смытых ацетоном с поверхности TiO<sub>2</sub>, модифицированного 1,1-дифенилэтиленом, после УФ облучения в течение 20 ч

Подтверждением предложенной схемы могут быть результаты исследования фотоокисления 1,1-дифенилэтилена, адсорбированного на TiO<sub>2</sub> (рис. 8). Оказалось,

что в этом случае выход бензофенона достигает 98%, тогда как при фотоокислении стибьбена – только 40%, т.к. параллельно идут процессы деструкции по двойной связи с образованием спиртов, альдегидов и кислот.

При облучении УФ светом *цис*-стибьбена, адсорбированного на  $\text{TiO}_2$  (рис. 9), выход бензофенона значительно выше (52%), чем у *транс*-изомера (40%), увеличивается выход бензойной кислоты (46% против 34%) при одновременном уменьшении выхода бензальдегида (3% против 7%), выделение стибьбена, бензилового спирта и бибензила не зафиксировано. Таким образом, деструкция и фотоокисление *цис*-изомера протекает глубже, чем *транс*-изомера.

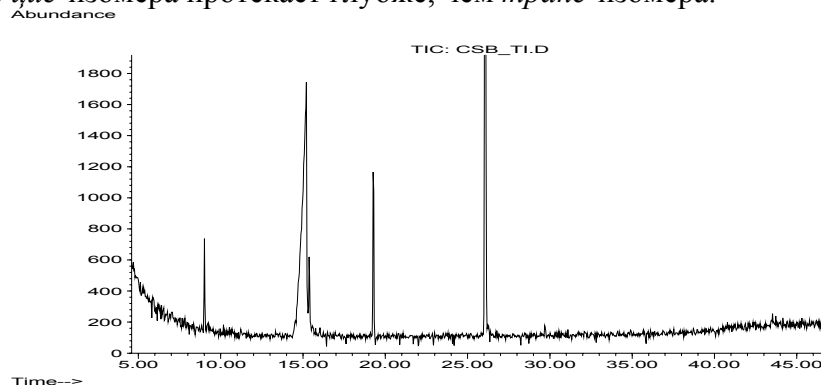


Рис. 9. Хроматограммы продуктов десорбции, смытых ацетоном с поверхности  $\text{TiO}_2$ , модифицированного *цис*-стибьбеном, после УФ облучения в течение 20 ч

Фотохимическое окисление стибьбенов, иммобилизованных на оксидах кремния и алюминия, протекает по другой схеме – вместо бензофенона в больших количествах образуется фенантрен. По-видимому, окисление стибьбена на поверхности идет по той же схеме, что и на воздухе – *транс*-стибьбена превращается в *цис*-изомер, который циклизуется в фенантрен, или димеризуется по олефиновой связи в циклобутановую структуру [4].

Методом хромато-масс-спектрометрии в составе продуктов десорбции с поверхности облученного аэросила  $\text{SiO}_2$ , модифицированного *транс*-стибьбеном (рис. 10), обнаружено 49% фенантрена ( $M/z$  178,  $t = 34,7$  мин.), а также 37% *транс*-стибьбена ( $t = 33,2$  мин.), 10% *цис*-стибьбена ( $t = 29,3$  мин.), 2% бензальдегида, 1% циклобутановых димеров стибьбена и следы других продуктов окисления.

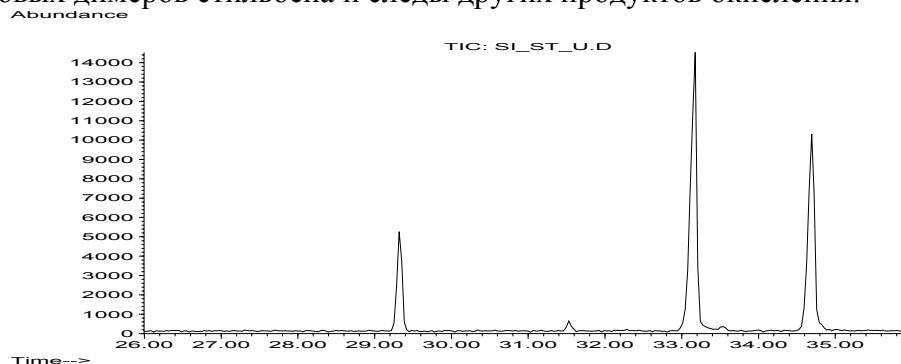


Рис. 10. Хроматограммы продуктов десорбции, смытых ацетоном с поверхности  $\text{SiO}_2$ , модифицированного *транс*-стибьбеном, после УФ облучения в течение 20 ч.

После облучения *цис*-стибьбена на  $\text{SiO}_2$  фенантрена образуется почти в 2 раза больше – 80%. Это подтверждает схему фотоокисления стибьбенов через

образование *цис*-изомера, которого обнаружено 3%. Кроме того, в составе продуктов десорбции идентифицирован *транс*-стильбен (2%), бензальдегид (2%) и следы других продуктов окисления.

С поверхности облученного УФ светом  $Al_2O_3$ , модифицированного *транс*-стильбеном (рис.11), выделяются те же продукты, что с аэросила – 51% фенантрена ( $t = 34,7$  мин.), 23% *транс*-стильбена ( $t = 33,2$  мин.), 4% *цис*-стильбена ( $t = 29,3$  мин.), 13% димеров стильбена ( $t = 51,1$  и  $51,5$  мин.), а также 7% бензофенона ( $t = 31,6$  мин.), как с поверхности  $TiO_2$ .

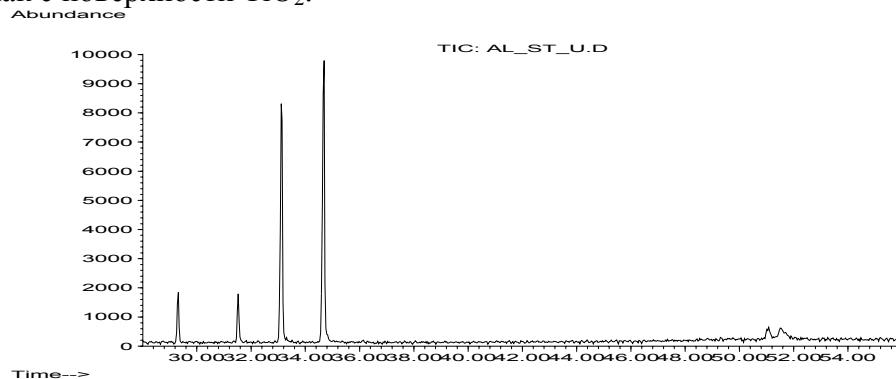


Рис. 11. Хроматограммы продуктов десорбции, смытых ацетоном с поверхности  $Al_2O_3$ , модифицированного *транс*-стильбеном, после УФ облучения в течение 20 ч

В случае облучения *цис*-стильбена на  $Al_2O_3$  доля фенантрена увеличивается на 10%, зато количество бензофенона вырастает почти в 4 раза и составляет 26%. Кроме того, идентифицирован *транс*-стильбен (8%), *цис*-стильбен (5%), следы других продуктов окисления.

Таким образом, если основным продуктом фотоокисления стильбенов на  $TiO_2$  является бензофенон, а на  $SiO_2$  – фенантрен, то на  $Al_2O_3$  образуются оба эти соединения, причем доля бензофенона увеличивается при иммобилизации *цис*-изомера стильбена.

Введение метоксигруппы в *транс*-стильбен приводит к изменению донорно-акцепторных свойств молекулы *транс*-4-метоксистильбена ( $M/z$  210), а также некоторому нарушению ее планарности из-за объемного радикала  $-OCH_3$ . Это отражается на адсорбционных свойствах метоксистильбена и на энергии его связи с поверхностью  $TiO_2$ : наблюдается некоторое увеличение температуры термодесорбции ( $T_{max} = 200^\circ C$ ), по сравнению с *транс*-стильбеном, и невозможность его полного удаления с поверхности растворителем, по данным ИК-спектроскопии.

Методом ГХ-МС обнаружен единственный продукт фотолиза 4-метоксистильбена на поверхности  $TiO_2$  P-25 – *пара*-метоксибензальдегид с  $M/z$  136. Ранее тот же результат был получен при фотолизе метоксистильбена на рутиле [16]. Известно, что метилирование ОН групп фенолов уменьшает их фотохимическую активность [4]. По-видимому, деструкция метоксистильбена протекает по характерному для олефинов механизму – с разрывом этиленовой связи и окислением продуктов деструкции.

Молекула *транс*-4-гидроксистильбена относится как к стильбеноидам, так и фенолам, поэтому может химически взаимодействовать как с основными ОН группами, так и с апротонными центрами на поверхности оксидов. Адсорбция гидроксистильбена на поверхности  $TiO_2$  сопровождается мгновенным изменением окраски с белой на ярко оранжевую и постепенным изменением цвета до



коричневатою. При адсорбции на  $TiO_2$  других стильбеноидов, как и при их адсорбции на оксидах кремния и алюминия, образования окрашенных соединений зафиксировано не было. Оранжевые поверхностные соединения прочно удерживаются на  $TiO_2$  и не смываются растворителями (эфир, ацетон, этилацетат, гексан, этанол), однако их цвет мгновенно исчезает при добавлении воды. Коричневатые поверхностные соединения являются более гидростойкими и свой цвет в воде не меняют.

Изменение цвета стильбенов – результат батохромного смещения максимума их поглощения от 260-300 нм до 400-500 нм (оранжево-коричневые цвета). Как видно на рис.12, поглощение в этой области появляется после их УФ облучения. Причиной изменения окраски, по аналогии с фенолами [17], может быть появление хинонов и удлинение цепи сопряженных двойных связей.

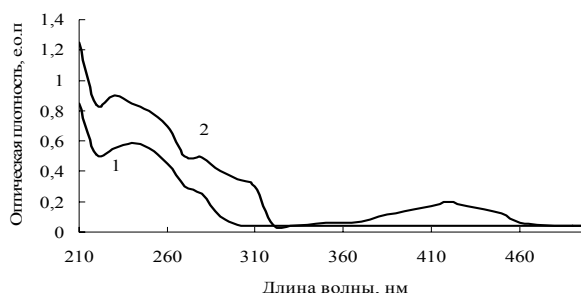


Рис. 12. Электронные спектры поглощения *транс*-диэтилстильбэстрола (дигидроксистильбена) до (1) и после УФ облучения ( $\lambda = 250-280$  нм) (исследовались 0,01% растворы в этаноле)

По данным [19], адсорбция олефинов на оксидах переходных металлов сопровождается образованием донорно-акцепторных и водородных связей, а иногда протекает диссоциативно с образованием поверхностно-связанных соединений. По-видимому, появление оранжевой окраски при адсорбции гидроксистильбенов на  $TiO_2$  можно связать с хемосорбцией их молекул на центрах кислотности Льюиса, т.е. координационно-ненасыщенных ионах титана.

Как было обнаружено методом ИК-спектроскопии в [15], хемосорбция гидроксистильбенов и гидроксibenзолов на  $TiO_2$  приводит к образованию похожих поверхностных соединений. Вероятно, они же будут образовываться и в гомогенной среде при взаимодействии фенолов с солями титана. Как видно на рис. 13, взаимодействие моно-, ди- и трифенолов с оксалатом титана приводит к образованию комплексных соединений, поглощающих в области 400-450 нм.

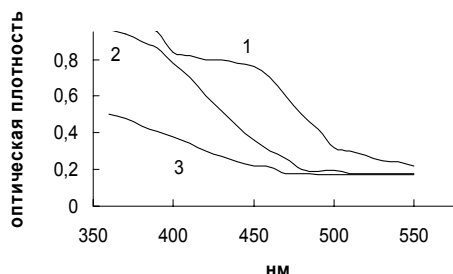


Рис. 13. Электронные спектры поглощения комплексов с оксалатом титана 1,3,5-тригидрокси- (1), 1,3-дигидрокси- (2) и моногидроксибензола (3)

Как отмечалось выше, окрашенные поверхностные соединения гидроксистильбенов прочно удерживаются на  $\text{TiO}_2$ . Анализ методом ГХ-МС бесцветных продуктов десорбции, смытых ацетоном с  $\text{TiO}_2$ , модифицированного гидроксистильбеном, показал присутствие только непрореагировавшего исходного 4-гидроксистильбена с  $M/z$  196 ( $t = 32,8$  мин.).

Окрашенные соединения образуются и прочно удерживаются на  $\text{TiO}_2$  с иммобилизованным гидрохиноном. В бесцветных продуктах десорбции, смытых ацетоном с поверхности (рис. 14), было обнаружено присутствие бензохинона ( $M/z = 108$ ,  $t = 7,33$  мин.) в значительно больших количествах, чем гидрохинона ( $M/z = 110$ ,  $t = 16,6$  мин.).

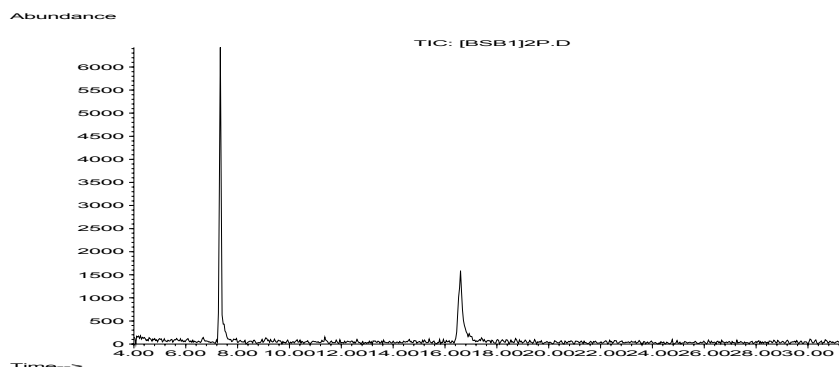


Рис. 14. Хроматограммы продуктов, смытых ацетоном с поверхности  $\text{TiO}_2$ , модифицированного *транс*-4-гидроксистильбеном, после УФ облучения в течение 20 ч

Это возможно в случае окисления гидрохинона в процессе его адсорбции на  $\text{TiO}_2$  без дополнительного УФ облучения. Интересно, что бензохинон был идентифицирован только в продуктах десорбции *пара*-изомера дифенола с  $\text{TiO}_2$ . В продуктах десорбции *мета*- и *орто*- изомеров дифенола, как и в продуктах десорбции фенола и изомеров метоксифенола, бензохинон обнаружен не был, хотя желто-оранжевые поверхностные соединения образовывались и в этих случаях.

Поскольку по данным ИК-спектроскопии, состав адсорбционных слоев гидрохинона и гидроксистильбена на  $\text{TiO}_2$  практически одинаков, то, вероятно, хинон образуется и при адсорбции гидроксистильбена. После УФ облучения этого образца в смытых ацетоном продуктах десорбции (рис.15) обнаруживаются помимо 4-гидроксистильбена, следы 3-гидроксистильбена, бензальдегида и гидроксibenзальдегида.

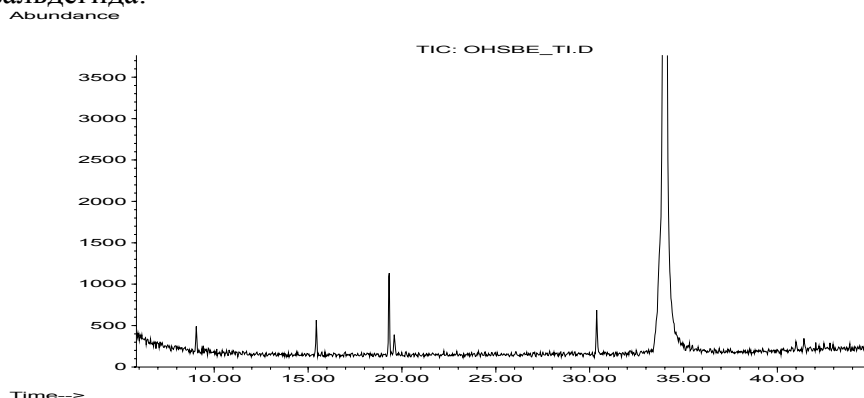


Рис. 15. Хроматограммы продуктов, смытых ацетоном с поверхности  $\text{TiO}_2$ , модифицированного *транс*-4-гидроксистильбеном, после УФ облучения в течение 20 ч

Обнаружить и идентифицировать продукты термодесорбции и термодеструкции гидроксистильбенов в интервале температур 50-350°C не удалось. Это свидетельствует о термостойкости их поверхностных соединений на TiO<sub>2</sub>. При адсорбции *транс*-4-гидроксистильбена на оксидах кремния и алюминия образования окрашенных соединений не отмечалось, но по данным ИК-спектроскопии, адсорбция гидроксистильбенов была частично необратимой.

## Выводы

Фотоокисление *транс*-стильбена на поверхности анатаза протекает значительно интенсивнее, чем на рутиле, и приводит к образованию бензофенона, бензойной кислоты, небольших количеств бензальдегида, бензилового спирта и бибензила.

Деструкция и фотоокисление *цис*-изомера на оксидах титана, кремния и алюминия протекает интенсивнее, чем *транс*-изомера. Энергии активации десорбции *транс*-стильбена с поверхности TiO<sub>2</sub> составляет 110 кДж/моль, порядок реакции  $n = 1$ , температура максимума выделения  $T_{\max} = 180^\circ\text{C}$ .

Термодесорбция бензофенона с TiO<sub>2</sub> описывается сложной кривой с тремя максимумами при 80, 250 и 350°C. Энергия активации десорбции при 80°C составляет 70 кДж/моль (порядок реакции  $n = 1$ ), при 250°C – 140 кДж/моль. Предложен механизм каталитического превращения *транс*-стильбена в бензофенон, предполагающий его перегруппировку в 1,1-дифенилэтилен и последующее окисление в кетон. Выход бензофенона при фотолизе 1,1-дифенилэтилена с TiO<sub>2</sub> достигает 98%.

Фотоокисление стильбена на SiO<sub>2</sub> идет по другому механизму, чем на TiO<sub>2</sub>, и приводит к преимущественному образованию фенантрена (от 49% до 80% для *транс*- и *цис*- изомеров стильбена), а также бензальдегида (2%) и циклобутановых димеров стильбена (1%).

Фотоокисление стильбена на Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> приводит к образованию как фенантрена (от 50 до 60% для разных изомеров стильбена), так и бензофенона (от 7% до 26% для *транс*- и *цис*-стильбена, а также димеров стильбена (13%) и других продуктов окисления.

Адсорбционный монослой *транс*-4-метоксистильбена на TiO<sub>2</sub> разрушается при температуре 200-300°C. Фотолиз адсорбированного *транс*-4-метоксистильбена приводит к его деструкции и выделению при 100-150°C *пара*-метоксистибензальдегида.

Адсорбционный монослой *транс*-4-гидроксистильбена на TiO<sub>2</sub> устойчив при нагревании вплоть до 400°C; при УФ облучении частично разрушается по этиленовой связи с образованием альдегидов.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 06-03-33185.*

## Список литературы

1. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3-х томах М.: Наука, 2001. 764 С.
2. Jang M, Cai L, Udeani G. O., et. al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes // Science. 1997. V. 275. P. 218-220.

3. King R., Bomser J.A., Min D.B. Bioactivity of resveratrol // *Comp. Rev. Food. Sci. and Food Safety*. 2006. V.5. N.3. P.65-70.
4. Waldeck D.H.. Photoisomerization dynamics of stilbenes // *Chem.Rev.* 1991. V. 91. N. 3. P. 415-436.
5. Papper V., Likhtenshtein G.I. Substituted stilbenes: a new view on well-known systems // *J. Photochem. Photobiol. A*. 2001. V.140. P. 39-52.
6. Минкин В.И. Молекулярная электроника на пороге нового тысячелетия // *Рос.хим.журн. (Журн.РХО им. Д.И.Менделеева)*. 2000. Т.48. № 6. С.3-13.
7. Ермилов П.И., Индейкин Е.А., Толмачев И.А. Пигменты и пигментированные материалы. Л.: Химия, 1987. 198 С.
8. Diebold U. The surface science of titanium dioxide // *Surface Sci. Reports*. 2003. V.48. N.5-8. P.53-229.
9. Thompson T.L., Yates J.T. Surface science studies of the photoactivation of TiO<sub>2</sub> – new photochemical processes // *Chem. Rev.* 2006. V.106. P.4428-4453.
10. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Ларин А.В. Сравнительная адсорбция гидроксипроизводных стильбена и бензола на аэрогеле Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т.8 (в печати).
11. Колотилов П.Н., Полунин К.Е., Полунина И.А., Ларин А.В. Равновесная адсорбция стильбеноидов на оксидах металлов // *Защита металлов*. 2008. Т.44 (в печати).
12. Полякова А.А, Хмельницкий Р.А. Масс-спектрометрия в органической химии. Л.: Химия. 1972. 366 С.
13. Хмельницкий Р.А., Лукашенко И.М., Бродский Е.С. Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений. М.: Химия, 1980. 280 С.
14. Whitten D.G., Chen L., Geiger H.C., et al. Self-assembly of aromatic-functionalized amphiphiles // *J. Phys. Chem.B*. 1998. V.102, № 50. P.10098-10111.
15. Полунин К.Е., Дзарданов Д.В., Соколова Н.П. и др. Исследование состава адсорбционных слоев стильбенов на TiO<sub>2</sub> // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т.8. (в печати)
16. Полунина И.А., Полунин К.Е., Буряк А.К., Ульянов А.В., Горбунов А.М. Хромато-масс-спектрометрия продуктов фотолиза стильбеноидов на оксиде титана // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2004. Т.4. Вып.6. С.787-798.
17. Несмеянов А.Н., Несмеянов Н.А. Начала органической химии. Т.2. М.: Химия, 1974. 580 С.
18. Полунин К.Е., Дзарданов Д.В., Буряк А.К., Ульянов А.В., Полунина И.А. Исследование механизма и кинетики пиролиза карбоксилсодержащих соединений, адсорбированных на поверхности нанодисперсной твердой фазы // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т.8. (в печати).
19. Давыдов А.А. ИК-спектроскопия в химии поверхности окислов. Новосибирск: Наука, 1984. 242 С.

### **GC-MS study of thermal desorption of stilbenoids immobilized on the aerogel surfaces of titania, alumina and silica**

Polunin K.E., Dzardanov D.V., Buryak A.K., Ulianov A.V., Polunina I.A.

Desorption products of stilbenoids immobilized on the aerogel surfaces of titania, alumina and silica have been studied by GS-MS and TDMS (thermal desorption mass-

---

spectrometry). It was found that stilbene isomers and a methoxystilbene are lightly desorbed from the surfaces by organic solvents. A thermal desorption of *trans*-stilbene from TiO<sub>2</sub> has maximal value at 180°C (a desorption activation energy equals to 110 kJ/mole); a thermal desorption of methoxystilbene has maximum at 200°C. One can not desorb a hydroxystilbene from TiO<sub>2</sub> with organic solvents or by heating up to 400°C. It was revealed quite a few of benzophenone in the desorption products from TiO<sub>2</sub> the tested *p*-dihydroxyphenol.

The destruction and photooxidation of *cis*-stilbene is greater than *trans*-stilbene on silica, alumina and titania. The main desorption products of stilbenes from TiO<sub>2</sub> are benzophenone and benzoic acid, their desorption product from SiO<sub>2</sub> is phenantrene. Phenantrene and benzophenone are the main desorption products of stilbenes from Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. An evaluation of benzophenone in the region of 100-350°C is described by the curve with three maximums. Under UV exposure of 1,1-diphenylethene adsorbed on TiO<sub>2</sub> benzophenone escapes in 98% yield. Photolysis of *trans*-4-methoxystilbene and *trans*-4-methoxystilbene at a titania surface leads to their destructive oxidation and the formation of aldehydes.



УДК 543:541

## Исследование сорбции дипразина на неионогенных и ионогенных полимерах

Стоянова О.Ф., Шкутина И.В., Меркулова Ю.Д.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

---

### Аннотация

В работе исследованы адсорбционные свойства неионогенного сорбента Стиросорб и аминокарбоксильных ионообменников АНКБ-2, АНКБ-50 при концентрировании дипразина. Рассмотрена сорбция дипразина в зависимости от времени достижения равновесия, концентрации ионов водорода в растворе. Показано, что лучшими сорбционными характеристиками обладает Стиросорб и натрий-основная форма полиамфолитов

---

### Введение

Дипразин (10-(2'-диметиламинопропил) фенотиазина гидрохлорид) имеет выраженную противогистаминную активность. Дипразин обладает седативным действием, усиливает эффект наркотических, снотворных и анальгезирующих средств. При его терапевтическом применении у некоторых больных отмечаются побочные нежелательные эффекты, а в случае передозировки или умышленного принятия в повышенном количестве возможны серьезные отравления и летальный исход [1].

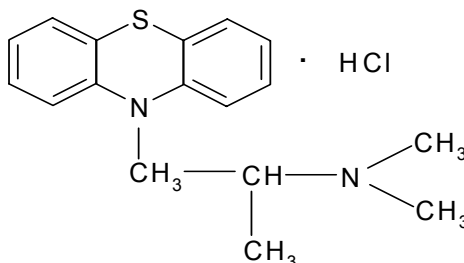
Анализ сильнодействующих лекарственных веществ в биологических жидкостях с использованием физико-химических методов в ряде случаев не может быть осуществлен без предварительного изолирования вещества. В настоящее время наряду с жидкостной экстракцией все большее значение приобретает твердофазная экстракция (сорбционное концентрирование) с применением разнообразных неорганических и органических сорбентов для выделения токсикантов. Твердофазная экстракция характеризуется почти количественным выходом, хорошей воспроизводимостью, меньше зависит от изменений pH, требует небольшого расхода растворителей. Считается, что данный метод изолирования более экологически чистый, чем жидкость-жидкостная экстракция. Изменяя и подбирая условия твердофазной экстракции, можно найти наилучшее решение конкретной аналитической задачи, получив максимально концентрированные и очищенные экстракты. Кроме того, сорбция лежит в основе применения энтеросорбентов – эффективного средства борьбы с интоксикацией организма на начальных стадиях отравления сильнодействующими веществами [2,3].

---

Целью настоящей работы является изучение закономерностей сорбции дипразина на полимерных сорбентах различной природы.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования в работе использовался дипразин фармакопейной чистоты.



Сорбентами выступали неионогенный сорбент Стиросорб ( $S_{уд.} = 440 \text{ м}^2/\text{г}$ ) и аминокарбоксильные полиэлектролиты АНКБ-2, АНКБ-50.

Для подготовки Стиросорба к работе навески его заливали ацетоном, оставляли на 6 часов и далее сорбент отмывали дистиллированной водой. Для удаления неорганических и органических примесей, содержащихся в товарных образцах, ионообменники АНКБ-2, АНКБ-50 подвергались кондиционированию [4]. Полиамфолит в кислотно-хлоридной форме (H-Cl) получали обработкой 6 М раствором хлороводородной кислоты с последующей отмывкой спиртом. Полиамфолит в H-OH форме был получен отмывкой дистиллированной водой до pH 5,52 после предварительной обработки ионообменника 3 М раствором хлороводородной кислоты. Перевод амфотерного ионообменника в натрий-основную (Na-OH) форму осуществляли обработкой 3 М раствором гидроксида натрия и отмывкой спиртом.

Сорбцию дипразина проводили из водных растворов при температуре 293 К. Соотношение раствор / сорбент было постоянным и составляло 20 мл / 0,2 г. Для поддержания определенного значения pH среды использовали ацетатный ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) и боратный ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , HCl) буферы. Определение равновесной концентрации дипразина в водных растворах проводили спектрофотометрическим методом при  $\lambda = 248 \text{ нм}$ , в качестве растворителя использовался 0,1 М HCl. Стандартное отклонение полученных результатов сорбционных опытов не превышало 0,01.

### Обсуждение результатов

Проведенные опыты показали, что время установления сорбционного равновесия для неионогенного сорбента составляет 40 мин, для амфолитов – 1 ч (рис.1). Поскольку Стиросорб имеет большую удельную поверхность, чем амфотерные ионообменники, то это обуславливает его лучшие кинетические характеристики.

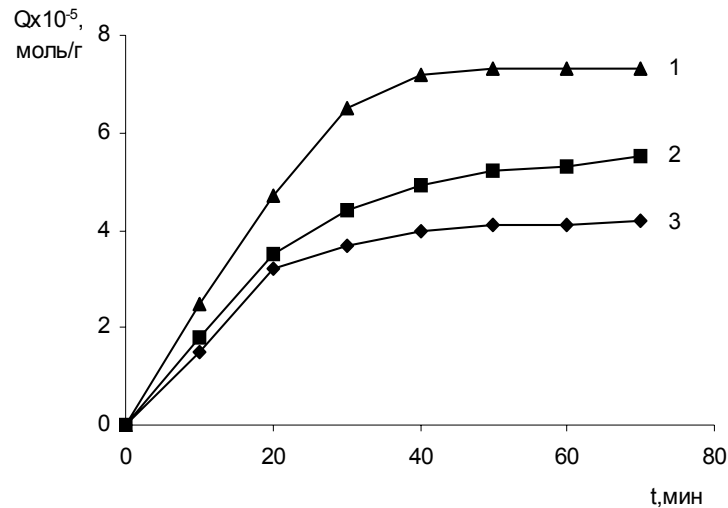


Рис. 1. Кинетические кривые сорбции дипразина на Стиросорбе (1), АНКБ-50 (2) и АНКБ-2 (3).  $Q$  – количество сорбированного дипразина;  $t$  – время проведения процесса, мин

Дипразин является слабым органическим основанием и как большинство гетероциклических соединений может существовать в различных ионных формах в зависимости от pH среды. В кислой среде при  $pH < 3,0$  атом азота в фенотиазиновом цикле протонируется, поэтому дипразин находится в виде двухзарядного катиона, а при pH от 4,0 до 9,0 существует преимущественно в виде монокатиона (рис.2).

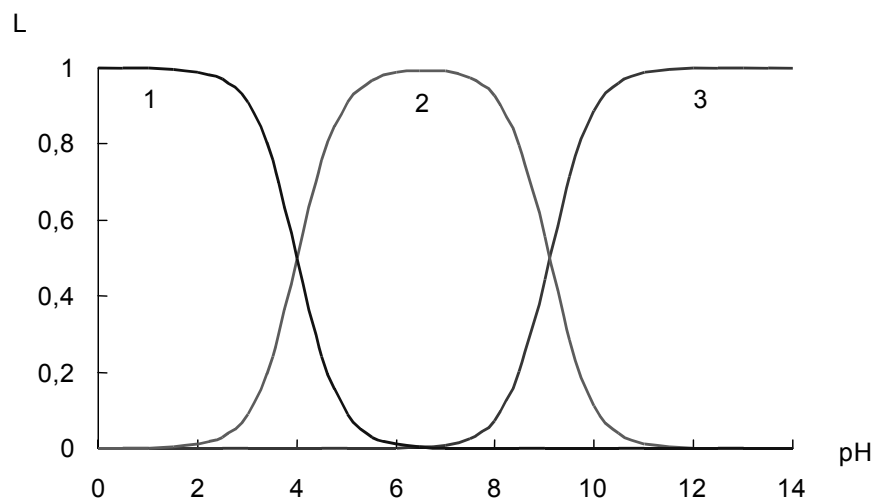


Рис.2. Распределительная диаграмма дипразина.  
1 – дикатион; 2 – монокатион; 3 – непротонированная молекула дипразина

Так как Стиросорб имеет большой гидрофобный радикал, то при сорбции дипразина основными будут являться гидрофобные взаимодействия. Выявлено, что для образца неионогенного характера сорбция практически не зависит от pH среды (рис.3). В работах [5-7] показано, что сорбенты типа “Стиросорб” могут использоваться при концентрировании ряда органических веществ, в том числе и лекарственных средств. Сверхсшитые полимеры стирола в сухом состоянии обладают пониженной плотностью и резко выраженным свойством увеличивать свой объем до набухшего состояния. Поэтому полимер интенсивно поглощает



органические вещества из водных растворов, увеличивая объем и проявляя высокую сорбционную емкость, превышая емкость известных типов органических сорбентов. Высокая удельная поверхность сорбентов “Стиросорб” обуславливает также возможность проявления  $\pi$ - $\pi$  электронного взаимодействия между сорбатом и матрицей сорбента.

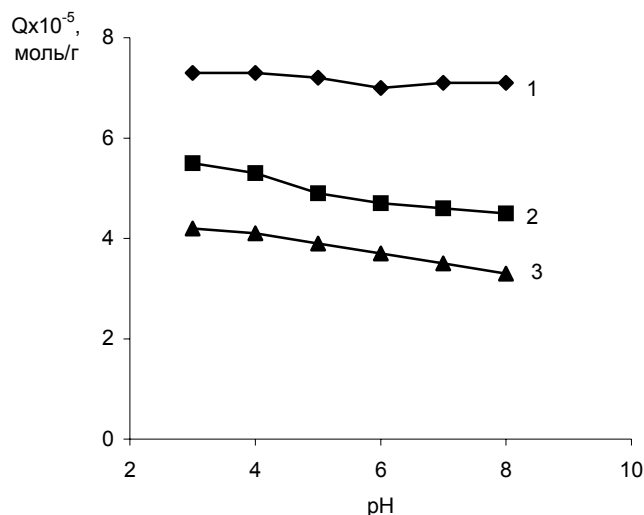


Рис. 3. Зависимость количества сорбированного дипразина на Стиросорбе (1), АНКБ-50 (2) и АНКБ-2 (3) от pH среды

Для аминокарбоксильных полиэлектролитов наибольшее количество вещества сорбируется при pH 2,0 – 4,0, так как ионный обмен вносит определенный вклад в общую энергию взаимодействия сорбент-сорбат (рис.3).

Поскольку ионообменники и сорбат в зависимости от pH среды могут существовать в различных ионных формах, была исследована сорбция дипразина на H-Cl, H-OH и Na-OH формах полиэлектролитов. Было установлено, что количество сорбированного дипразина на Na-OH-форме аминокарбоксильных полиэлектролитов АНКБ-2 и АНКБ-50 превышает данную величину на H-Cl форме в несколько раз (табл.).

Таблица. Сорбционные характеристики исследуемых сорбентов

Сорбент	Ионная форма	Количество сорбированного дипразина, $Q \times 10^{-5}$ , моль/г	Степень извлечения, F, %
Стиросорб	–	7,3	92,2
АНКБ-2	H-Cl	1,3	16,4
	H-OH	2,1	26,5
	Na-OH	4,2	53,1
АНКБ-50	H-Cl	1,8	22,7
	H-OH	2,4	30,3
	Na-OH	5,5	69,5

Это, вероятно, связано с тем, что карбоксильная группа в H-Cl-форме ионита образует димеры, “закрытые” для сорбции, в то время как в Na-OH-форме карбоксильная группа находится в ионизированном состоянии и помимо гидрофобных возможны и электростатические взаимодействия (рис.4,5).

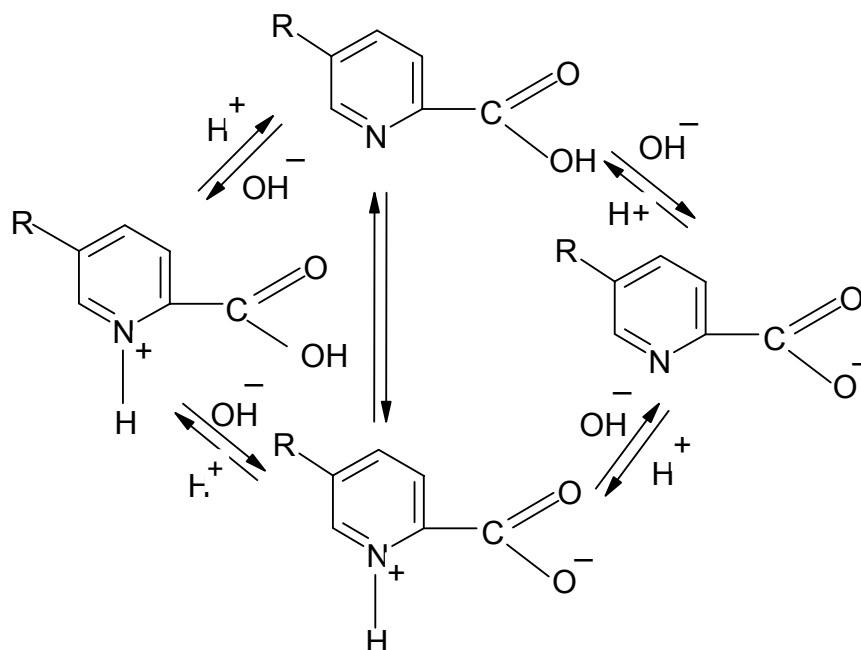
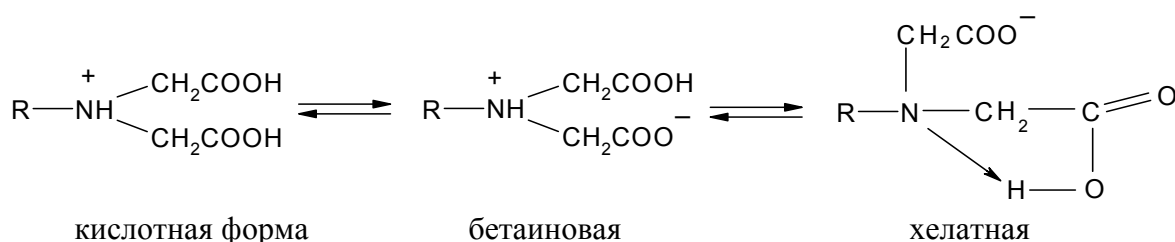


Рис.4. Формы существования полиамфолита АНКБ-2 в растворе в зависимости от кислотности среды



кислотная форма                      бетаиновая                      хелатная  
Рис.5. Формы существования полиамфолита АНКБ-50 в растворе в зависимости от кислотности среды

Достаточно высокая степень извлечения дипразина для Стиросорба и АНКБ-50 (Na-ОН форма) позволяет рекомендовать данные сорбенты для последующего изучения при разработке аналитических методов выделения и концентрирования токсиканта из биологических жидкостей.

### Список литературы

1. Лужников Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – М : Медицина, 1999. – 416 с.
2. Еремин С.К. Анализ наркотических средств: руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих веществ / С.К. Еремин, Б.Н. Изотов, Н.В. Веселовская. – М : Мысль, 1993. – 276 с.
3. P.D. McDonald, E.S.P Bouvier Solid Phase Extraction Applications guide and Bibliography. A Resource for Sample Preparation Methods Development / Waters, Milford, MA, 1995. – 420 p.
4. Селеменев В.Ф. Практикум по ионному обмену / В.Ф. Селеменев [и др.]. – Воронеж : Изд-во Воронеж. госуниверситета, 2004. – с.14-17.

---

5. Динамическое концентрирование органических веществ на неполярных сорбентах / О.А.Филиппов [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т. 58, №5. – С. 454-479.

6. Изучение сорбционной активности адсорбентов в эксперименте / Д.П. Елизаров [и др.] // Токсикологический вестник. – 2003. – №2. – С. 18–21.

7. Шкутина И.В. Сорбционные взаимодействия в системе папаверин – Стиросорб / И.В.Шкутина, О.Ф. Стоянова, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т.6, вып.6. – С.1066-1070.

### **Research of Diprazine Sorption on the Non-Ionogenic and Ionogenic Polymers**

Stoyanova O.F., Shkutina, I.V., Merkulova Yu.D., Selemenov V.F.

*Voronezh State University, Voronezh*

The work investigates the adsorbent properties of the non-ionogenic sorbent “Stirosorb” and the aminocarboxyl exchangers ANKB-2, ANKB-50 under the diprazine concentration. The diprazine sorption was considered on account of the time of balance achievement and pH in the solution. It was pointed out that the best sorption characteristics belong to “Stirosorb” and Na-OH form of exchangers.

*Ключевые слова: дипразин, неионогенный сорбент, Стиросорб, аминокарбоксильный полиэлектролит, сорбционное концентрирование.*



УДК 541.18

## Использование активных углей сорбции ПАВ природного происхождения

Славинская Г.В., Ковалева О.В.

*Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж*

Бычковская Г.И.

*Российский университет кооперации, Москва*

---

### Аннотация

Показана целесообразность применения углей для удаления из воды поверхностно-активных веществ – фульвокислот и гумусовых веществ

---

### Введение

Для создания эффективных методов удаления гумусовых веществ из природных вод необходима информация о химическом составе примесей в воде исходной и обессоленной. Анализ последней предполагает выявление тех компонентов органической природы, которые на действующих установках деионизации не улавливаются в процессе обработки воды.

Такие данные практически отсутствуют в литературе: основные брутто-показатели качества - перманганатная окисляемость (ПО), бихроматная окисляемость (ХПК), содержание общего органического углерода (ООУ).

*Органические вещества в природных водах.* Нами проведен анализ воды 46 источников в разное время года. Результаты исследования некоторых из них в табл. 1.

Из анализа полученных результатов следует:

- в природных водах доминируют гуминовые и фульвокислоты; фульвокислот в 10.-30 раз больше, чем гуминовых; - в воде открытых водоемов веществ органического характера на порядок больше, чем в воде из артезианских скважин; фульвокислоты содержатся в артезианских водах даже при низкой окисляемости и в отсутствие гуминовых кислот;

- после кислотного гидролиза сухого остатка воды (при 120 °С в запаянных ампулах в течение 24 ч) определяется много аминокислот, что является результатом разрушения гумусовых веществ, которые содержат аминокислоты в качестве боковых цепочек.

---

Таким образом, в природных водах присутствуют как электролиты (например, ГК, ФК, органические кислоты), так и неэлектролиты (сахара, эфиры и т.д.). Из этого следует, что методы удаления из воды гумусовых кислот и других органических примесей должны выбираться в каждом конкретном случае с учетом характера присутствующих в ней веществ.

Таблица 1. Содержание органических веществ в природных водах

Город. Источник.	ПО, мг О <sub>2</sub> / Дм <sup>3</sup>	ГК, мкг/ дм <sup>3</sup>	ФК, мкг/ дм <sup>3</sup>	Ами- ны, мкг N/ дм <sup>3</sup>	Аминокислоты, Мкг-экв N/дм <sup>3</sup>		Саха- ра, мкг/ дм <sup>3</sup>	Эфи- ры, мкг- экв/дм <sup>3</sup>	Карбон. кис- лоты, мкг- экв/дм <sup>3</sup>
					Свобо- дные	В гид- роли- затах			
Запорожье	9,3	450	13500	12	4	83	-	142	16
Москва	9,0	440	13400	-	5-6	123	-	112	17
Таллин	4,8	260	5700	-	10	55	-	102	21
Воронеж	1,2- 2,2	12- 46	1100- 2400	0,5	7-22	55-146	700	85-95	8-13
Р. Усманка	4-13	200- 500	9600- 16400	3-4	25-40	170- 295	330- 680	85	30
С.-Петербург	6-10	340- 540	9800- 10000	-	6-11	40-120	260- 780	100	20
Киев	1,0	0	550	-	5,7	67,5	380	85	16,2
Рязань, артез.	0,9	0	1070	-	-	-	-	-	13
Р. Ока	7,0	214	6600	-	50	234	760	-	19
Красноярск	2,2	57	2275	-	27	112	287	-	20,2
Р. Вятка	5-16	800	26000	-	18-35	130	1250	20-40	20-30
Питкяранта	9-13	-	12000	-	19	140	1600	32	10
Зеленоград	0,9	-	4750	-	25	96	680	15	-
Новгород	15	800	4000	-	4	140	2000	-	80-100

Традиционное использование активных углей для очистки природных вод от окрашенных веществ имеет место и в настоящее время. О масштабах использования АУ, например, в Японии, говорит тот факт, что в установках очистки воды (по данным за 1991 г) загружено в сумме 21000 тонн АУ [1]. Процессам применения АУ посвящено много подробных статей и монографий [2-9]. Обзор применения активных углей при очистке природных вод питьевого назначения представлен авторами [10]. В соответствии с теорией, более интенсивно поглощаются активным углем гуминовые кислоты с низкой молекулярной массой и небольшим содержанием гидрофильных функциональных групп [11-12]. Мнения о перспективности использования активных углей (АУ) для удаления ГК и ФК неоднозначны. Так, в [13-14] в результате проведенных исследований установлено, что ГАУ (гранулированные АУ) обладают широким адсорбционным спектром действия и в течение длительного времени способны поглощать 25-30 % природных органических примесей, в том числе и высокомолекулярные гуминовые кислоты. Отмечается, что синтетические загрязнения при этом сорбируются несколько хуже. В то же время авторы [15] установили, что испытанные ими АУ хорошо поглощают фенол, но совсем не сорбируют гуминовые кислоты.

Для выяснения влияния ряда активных углей на содержание органических примесей гумусового и негумусового характера проведено данное исследование.

Для предварительной оценки органоемкости активных углей (табл. 2) проводили эксперименты в динамических условиях. При этом исходили из того, что в таком режиме проявятся не только равновесные, но и кинетические характеристики образцов АУ.

Таблица 2. Характеристика активных углей [1, 6, 16]

Показатель	АГ-2	АГ-3	АГ-5	АР-3	АР-5	СКТ
$V_{\Sigma}, \text{см}^3/\text{г}$	0,60	0,8	0,8-0,9	0,70	0,7	0,98
$V_{\text{ми}}, \text{см}^3/\text{г}$	0,30	0,18	-	0,33	-	0,51
$V_{\text{п}}, \text{см}^3/\text{г}$	0,05	-	-	0,07	-	0,20
$V_{\text{ма}}, \text{см}^3/\text{г}$	0,25	-	-	0,30	-	0,27
$S_{\text{п}}, \text{м}^2/\text{г}$	33	-	-	48	-	108
Уд. поверхность, $\text{м}^2/\text{м}^3$	-	3111	4714	-	-	-

Здесь  $V_{\Sigma}$  - общий объем пор,  $V_{\text{ми}}$  - объем микропор,  $V_{\text{п}}$  - объем переходных пор,  $V_{\text{ма}}$  - объем макропор,  $\text{см}^3/\text{г}$ ;  $S_{\text{п}}$  - удельная поверхность переходных пор,  $\text{м}^2/\text{г}$ .

Перманганатная окисляемость (ПО) артезианской воды после обработки активными углями ( $V_{\text{АУ}}=200 \text{ см}^3$ ; высота слоя  $h=100 \text{ см}$ ; скорость потока  $u=5 \text{ м/ч}$ ) указана в табл. 3.

Из данных табл. 2 следует, что заметный эффект очистки артезианской воды обеспечивают угли АГ-2 и АР-3, несмотря на самый низкий суммарный объем пор: через них пропущен больший объем воды до проскока 20 % примесей в фильтрат.

Таблица 3. Сорбция органических примесей артезианской воды активными углями

Марка Угля	ПО ( $\pm 0,15$ ), $\text{мг O}_2/\text{дм}^3$		Сорбция, %	Пропущено воды $V, \text{дм}^3/\text{дм}^3$	Емкость поглощения, $\text{мг O}_2/\text{г}$
	Вода	Фильтрат			
АГ-2	1,68	0,56	66,6	210	0,24
АГ-3	1,76	0,84	52,6	60	0,06
АГ-4М	2,32	0,95	59,4	30	0,04
АГ-5	1,76	1,04	40,9	70	0,05
АР-3	1,46	1,08	25,2	100	0,27
АР-5	1,68	0,95	41,6	100	0,14
СКТ	1,66	1,10	33,0	60	0,04

При сорбции гумата натрия невской воды из модельного раствора ( $\text{СГК}=14,2 \text{ мг/дм}^3$ ) ряд сорбента имеет вид: АГ-2 > КАД > АГ-3 > БАУ > АР-5 > АР-3 (рис. 4.1, где  $D$  - оптическая плотность раствора,  $t$  - время контакта фаз).

Несовпадение этого ряда с данными табл. 3 говорит о том, что испытанные образцы отличаются сорбцией как к собственно ГК, так и к другим органическим веществам, присутствующим в воде. Очевидно, уголь АГ-2 сочетает высокую органоемкость как к гумусовым, так к другим примесям природной воды с хорошими кинетическими свойствами.

Результаты фильтрации речной воды в паводковый период через слой угля АГ-2 ( $h=40 \text{ см}$ ,  $u=3 \text{ м/ч}$ ) оценивали определением ПО и величины химического поглощения кислорода - ХПК, (бихроматная окисляемость). Принято считать, что первый показатель характеризует количество легко окисляющихся веществ, второй - всех примесей, в том числе и трудно окисляющихся. Усредненные данные анализа фильтрата в табл. 4.

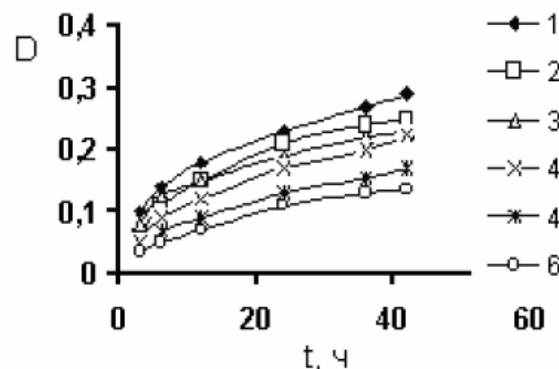


Рис. 1. Кинетические кривые сорбции гуминовых кислот активными углями: 1 – АГ-2; 2 – КАД; 3 – АГ-3; 4 – БАУ; 5 – АР-5; 6 – АР-3

Таблица 4. Адсорбция органических веществ активным углем АГ-2 из речной воды

Река	V, дм <sup>3</sup> /дм <sup>3</sup>	ПО, мг О <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>		Эффект. очистки, %	ХПК, мг О <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>		Эффект. очистки, %
		Вода	Фильтрат		Вода	Фильтрат	
Воронеж	540	7,3	6,5	11,0	16,2	9,7	40,3
Воронеж	110	7,3	5,2	28,8	16,2	10,0	38,2
Нева	116	7,6	1,7	77,5	23,0	4,1	82,4

На примере очистки воды рек разных регионов показано (табл. 4), что легко окисляющиеся вещества в этих водах обладают разной способностью к поглощению активным углем. При одинаковой исходной величине ПО высокий эффект очистки невской воды дает основание для вывода о том, что содержащиеся в ней примеси скорее всего представлены неэлектролитами, так как электролиты всегда хуже взаимодействуют с АУ в силу гидратированности ионов. Возможно, что органические вещества воды р. Воронеж являются или сильно ионизированными соединениями, или имеют более высокую молекулярную массу, чем и объясняется низкий эффект действия АУ.

В связи с высоким значением ХПК невской воды исследовали возможность ее более глубокой очистки повторной фильтрацией через слой свежего угля АГ-2. Оказалось, что величина ПО не изменилась, а значение ХПК уменьшилось на 50 %. То есть в первой колонке легко окисляющиеся примеси, которых в исходной воде много, составляли трудно окисляющимся веществам (в том числе гуминовым и фульвокислотам) заметную конкуренцию. Их поглощение вторым слоем АУ-2 стало возможным в результате хроматографического разделения примесей в первой колонке.

Качество невской воды исходной и пропущенной через АУ оценивали по поглощению света в УФ-области спектра в интервале длин волн 220-300 нм. Электронные спектры поглощения воды и фильтрата представляют собой плавно понижающиеся кривые (рис. 2). Интенсивность поглощения резко снижается после контакта воды с АУ как в первом, так и в сотом попущенном объеме воды.

Таким образом, эксперимент с контролем по легко определяемым показателям ПО и ХПК фильтрата позволяет делать весьма важные выводы о характере удаляемых сорбентом веществ. Можно считать уголь АГ-2 более

перспективным для кондиционирования невской воды и мало подходящим для очистки воды р. Воронеж.

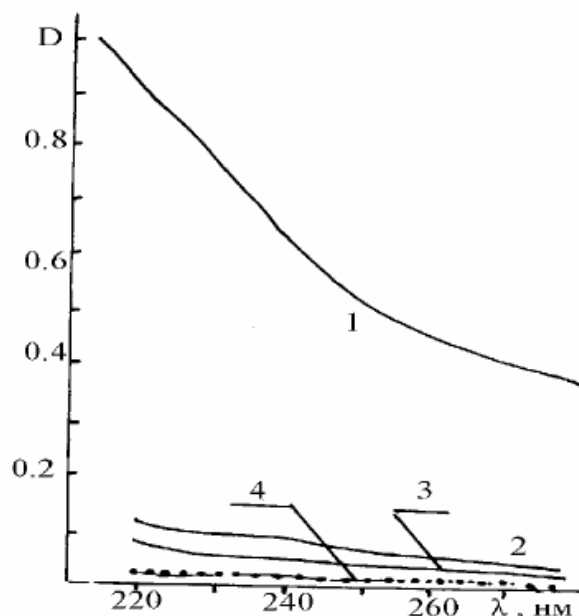


Рис. 2. Электронные спектры поглощения невской воды (1), первого (4), тридцатого (3) и сотого (2) объемов фильтрата через уголь АГ-2

Следует отметить, что эффективность действия АУ в отношении примесей речной воды зависит от времени года, так как качественный и количественный состав “органики” меняется, особенно в периоды весеннего и осеннего паводков (рис. 3). При эксплуатации установок обессоливания воды необходимо иметь в виду возможное уменьшение органоемкости активных углей вследствие сезонных колебаний качества воды открытых водоемов, поэтому при разработке процесса очистки целесообразно исходить из максимального содержания примесей органического характера в воде. Степень зависимости эффективности сорбции органических веществ от времени контакта фаз определена не только в кинетическом опыте в статическом режиме (рис. 4.1), но и в динамических условиях при фильтрации воды р. Воронеж через уголь марки АГ-2 ( $v=100 \text{ см}^3$ ,  $h=50 \text{ см}$ ) при разной скорости фильтрации воды (рис. 4)

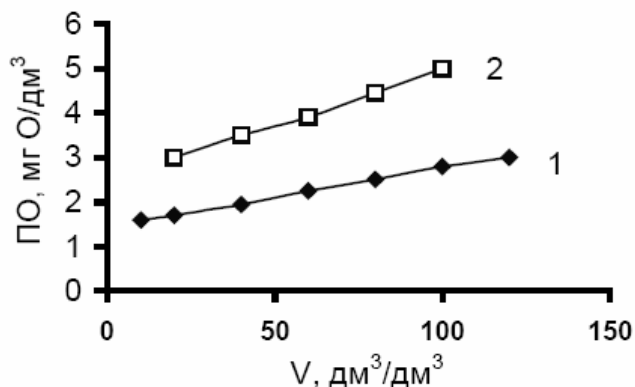


Рис. 3. Изменение перманганатной окисляемости невской воды (ПО  $9,4 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$ ) при фильтрации через уголь АГ-2 в летний (1) и зимний (2) периоды



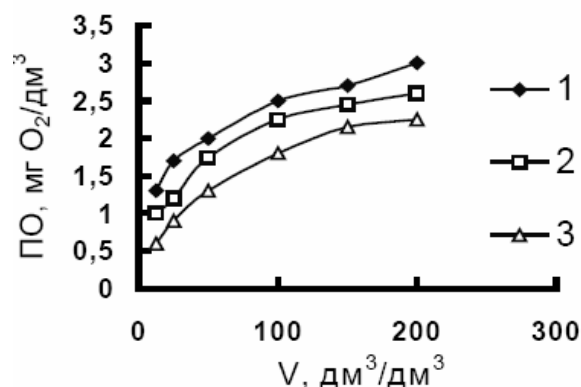


Рис. 4. Перманганатная окисляемость воды в зависимости от скорости фильтрации через активный уголь АГ-2: 1 - 10; 2 - 5; 3 - 3 м/ч

Результаты анализа средних проб фильтрата сведены в табл. 5.

Таблица 5. Эффективность очистки воды\* активным углем АГ-2 при разной скорости потока

ц, м/ч	$V, \text{дм}^3/\text{дм}^3$	ПО, мг $\text{O}_2/\text{дм}^3$	Эффект. очистки, %	ХПК, мг $\text{O}_2/\text{дм}^3$	Эффект. очистки, %
3	200	1,7	63,2	14,1	38,9
5	180	2,2	52,2	15,2	33,2
10	180	2,6	43,5	19,4	14,9

\* ПО - 4,6 мг  $\text{O}_2/\text{дм}^3$ ; ХПК - 22,8 мг  $\text{O}_2/\text{дм}^3$

Для уточнения оптимальных условий адсорбции исследована зависимость поглощения примесей речной воды углем АГ-2 от его дисперсности (табл. 6).

Таблица 6. Эффективность очистки воды р. Воронеж\* активным углем АГ-2 разного зернения

АГ-2 разного зернения					
Размеры гранул, мм	ПО, мг $\text{O}_2/\text{дм}^3$	Эффект. очистки, %	ХПК, мг $\text{O}_2/\text{дм}^3$	Эффект. очистки, %	$V, \text{дм}^3/\text{дм}^3$
2,0-2,5	2,0	60	6,1	63	480
1,0-1,5	1,6	68	6,0	64	480
0,5-1,0	1,1	78	5,3	68	480
< 0,25	0,8	84	3,7	77	1300

\* ПО - 5,0 мг  $\text{O}_2/\text{дм}^3$ ; ХПК - 16,4 мг  $\text{O}_2/\text{дм}^3$

Очевидно преимущество сорбции органических примесей более мелкими фракциями угля. В случае легко окисляющихся компонентов (по ПО) в крайних позициях размера зерен оно составляет 24 %. В отношении трудно окисляющихся веществ разница в сорбции меньше - 14 %. По гидродинамическим причинам самая мелкая, хотя и самая эффективная фракция, очевидно, не может быть использована в фильтрах. Оптимальный размер частиц в двух средних фракциях: 0,5-1,5 мм.

Влияние размера частиц АУ на адсорбцию оценено также на примере поглощения АУ гумата натрия невоской воды из модельного раствора ( $C_0=15,0 \text{ мг}/\text{дм}^3$ ) в статических условиях (рис. 5) за 1 ч.

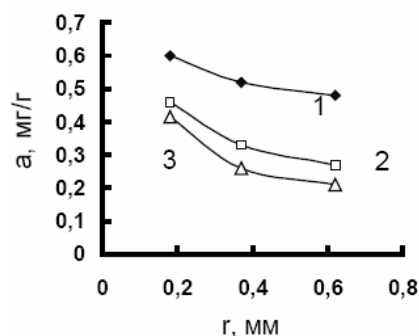


Рис. 5. Адсорбция гумата натрия активными углями в зависимости от размера зерен: 1 - БАУ; 2 - КАД; 3 – АГН

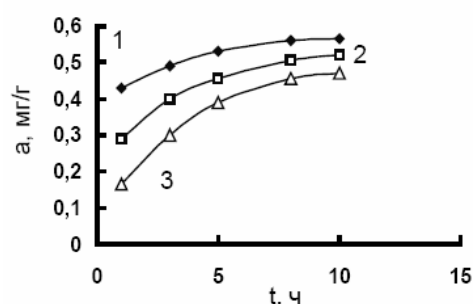


Рис. 6. Кинетические кривые адсорбции гумата натрия углем БАУ разного зёрнения: 1 - 0,18; 2 - 0,37; 3 - 0,63 мм

Кроме того, методом ряда навесок получены кинетические кривые адсорбции гумата натрия на активном угле БАУ разного зёрнения (рис. 6).

Судя по рис. 6, влияние степени дисперсности частиц АУ наиболее заметно сказывается в начальный момент адсорбции. При увеличении степени заполнения гуматом натрия АУ преимущество мелких фракций поглотителя нивелируется.

Таким образом, известная тенденция роста скорости адсорбции с увеличением площади поверхности твердой фазы отмечена как в отношении всей суммы примесей речной воды (табл. 6), так и при адсорбции собственно гумата натрия активными углями (рис. 5, 6). При этом увеличивается не только эффективность действия АУ, но и возрастает объем очищенной воды.

Все вышеописанные эксперименты проведены при температуре 18,20 °С. Однако температура обрабатываемой воды может колебаться в обе стороны в зависимости от технологии ее обработки, характера водоисточника (открытый водоем или артезианская скважина), времени года. В связи с этим представлялась полезной информация о влиянии температуры на сорбционный процесс, так как этот параметр можно регулировать в производственных условиях. Зависимость адсорбции исследовали в статических условиях при температуре 4,6; 20,22 и 48,50 °С. Активный уголь СКТ (фракция 1,0-1,5 мм) в течение двух часов при постоянном перемешивании выдерживали в растворах гумата натрия с концентрацией 0,33 и 6,30 мг/дм<sup>3</sup>. Кривые зависимости поглощения последним активным углем показаны на рис. 7.

Видно, что снижение температуры от 20 до 0 °С мало влияет на величину адсорбции, а повышение  $T$  до 45 °С – уменьшает поглощение сорбтива. Данная

закономерность характерна для систем, в которых доминирует молекулярный механизм поглощения сорбтива [231, 233]. Обычно он имеет место при взаимодействии неэлектролитов с поверхностью АУ. Следовательно, если электролиты перевести в неионизированное состояние, то можно ожидать увеличения сродства удаляемого вещества к адсорбенту.

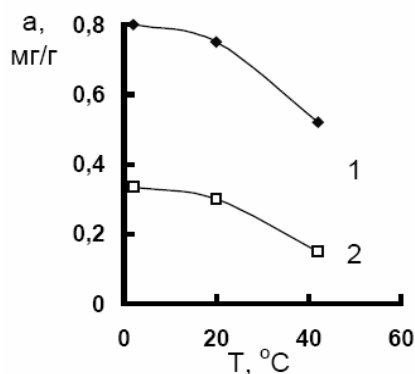


Рис.7. Зависимость адсорбции гумата натрия активным углем СКТ-ВТУ-2 от температуры воды из растворов с концентрацией: 6,3 (1) и 0,3 (2) мг/дм<sup>3</sup>

Влияние рН на адсорбцию примесей исследовали в динамических условиях, пропуская речную воду с рН от 2 до 9 через загрузку активного угля АГ-2 ( $v=100$  см<sup>3</sup>,  $h=40$  см,  $u=3$  м/ч). Усредненные значения ПО фильтрата при разных значениях рН исходной воды показаны на рис. 8.

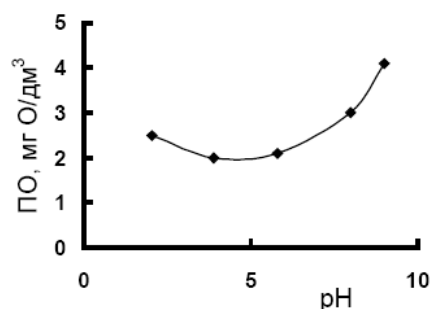


Рис. 8. Зависимость перманганатной окисляемости фильтрата от рН речной воды при фильтрации через уголь АГ-2

Проскок примесей в фильтрат минимален в интервале рН  $\sim 4,6$ . Отметим, что окисляемость фильтрата в щелочной области рН почти в два раза выше, чем в слабокислой среде. Видно, что перевод гумусовых кислот в форму аниона более существенно уменьшает органоемкость АУ. Кроме того, динамический опыт показал, что от значения рН среды зависит не только качество, но и количество обработанной воды: в кислой среде ее объем равен 800-900, при рН  $\sim 9$  - всего 160 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>.

В соответствии с теорией, более интенсивно активными углями поглощаются гуминовые кислоты с низкой молекулярной массой и небольшим содержанием гидрофильных функциональных групп [41]. Вышесказанное наводит на мысль, что анионы гумусовых кислот, вероятно, более гидратированы, чем катионы. Максимальная поглощательная способность АУ проявилась при рН  $\sim 4$ . Отметим, что рН изоэлектрической точки гуминовых веществ лежит в этой области (3,8.4.5) [17].

Следовательно, гумусовые кислоты лучше адсорбируются активным углем в состоянии цвиттер-иона.

Из этого обстоятельства следует важный практический вывод: если активный уголь предназначен для удаления гумусовых веществ, в процессе предварительной коагуляции сырой воды осветленная вода не должна защелачиваться. Можно обоснованно прогнозировать низкую адсорбционную емкость активного угля, если вода обрабатывалась известкованием или умягчалась Na-катионированием. Такой же результат применения АУ можно ожидать и в случае природных вод бикарбонатного типа, рН которых достигает значений 8,0.8,5.

Очевидно, благоприятные условия для очистки воды от гумусовых образований активными углями обеспечиваются коагуляцией примесей сульфатом алюминия, когда рН осветленной воды понижается до 4,0.5,0.

Таким образом, проведенная серия экспериментов показала, что применение активных углей при подготовке воды не обеспечивает глубокой очистки от органических веществ гумусовой природы. Сорбируемость ГК и ФК увеличивается при понижении температуры воды и ее рН, а также при увеличении степени дисперсности АУ и уменьшении скорости потока. Так как органическая компонента примесей природных вод складывается из веществ разных классов, необходимо выбирать марку АУ только после экспериментальной проверки его пригодности для очистки воды конкретного источника.

### Список литературы

1. Suzuk Masayuki // *Kodao Yosui=Ind. Water*. 1991. № 393. S. 45.
2. Когановский А.М. Адсорбция и ионный обмен в процессах водоподготовки и очистки сточных вод / А.М. Когановский. Киев: Наукова думка, 1983. 240 с.
3. Когановский А.М., Клименко Н.А. Физико-химические основы извлечения поверхностно-активных веществ из водных растворов и сточных вод / А.М. Когановский, Н.А. Клименко. Киев: Наукова думка, 1978. 174 с.
4. Кинле Х. Активные угли и их промышленное применение / Х. Кинле, Э. Бадер. Л.: Химия, 1984. 216 с.
5. Когановский А.М. Адсорбция растворенных веществ / А.М. Когановский, Т.М. Левченко, В.А. Кириченко. Киев: Наукова думка, 1977. 224 с.
6. Адсорбция органических веществ из воды / А.М. Когановский, Н.А. Клименко, Т.М. Левченко и др. Л.: Химия, 1990. 256 с.
7. Смирнов А.Д. Сорбционная очистка воды / А.Д. Смирнов. Л.: Химия, 1982. 168 с.
8. Sander Richard. Effekt of prechlorination on activated carbon adsorption / Richard Sander // *J. Environ. Patol., Toxikol. and Oncol*. 1987. №. 7-8. P. 339.
9. Randtke S. Organic contaminant removal by coagulation and related process combinatios / S. Randtke // *J. Amer. Water Works Assoc*. 1988. Vol. 80, № 5. P. 40-49.
10. Тимошенко М.Н. Применение активных углей в технологии очистки воды и сточных вод / М.Н. Тимошенко, Н.А. Клименко // *Химия и технология воды* . 1990. Т. 12, № 8. С. 727-738.

- 
11. Matsui Yoshihiko // Mizu kankyo gakkaiishi = J. Jap. Soc. Water Environ. 1993. Vol. 16, № 7. P. 497.
  12. Caizo P.R. Design and operational experiences with activated carbon adsorbers: treatment of delaware river water / P.R. Caizo, I.H. Suffet, P. James // Proc. 41st. Innd. Waste Conf. - West Lafayette, 1982. № 7/8. P. 289-317.
  13. Matsui Yoshihiko, Kamei Tasuku // Mizu kankyo gakkaiishi = J. Jap. Soc. Water Environ. 1993. Vol. 16, № 7. C. 497-506.
  14. Stevens A.A. Removal of higher molecular weight organic compounds by the granular activated carbon adsorption unit process // J. Environ. Pathol., Toxicol. and Oncol. 1987. Vol. 7, № 7-8. P. 363 - 372.
  15. Meghea Aurelia. Adsorptia impurificat orilor organici din apele de alimentare / Aurelia Meghea // Hidrotehnica. 1987. Vol. 32, № 12. P. 462-464.
  16. Очистка и использование сточных вод в промышленном водоснабжении // А.М. Когановский, Н.А. Клименко, Т.М. Левченко и др. М.: Химия, 1983. 288 с.
  17. Шкроб М.С. Водоподготовка / М.С. Шкроб, В.Ф. Вихрев. Л.: Энергия. 1966. 416 с.122.

**The utilization of active carbons for the sorption of natural surface active substances**

Slavinskaya G.V., Kovaleva O.V.

*Voronezh State architectural university, Voronezh  
Russian university of cooperation, Moscow*

The feasibility of active carbons utilization for the removal of the surface active substances (fulvic acids and humic substances) is shown.



УДК 541.1:544.7

## Электронная проводимость и потенциал модифицированной дисперсной медью сульфокатионообменной мембраны МК-40

Золотухина Е.В., Чайка М.Ю., Кравченко Т.А., Новикова В.В., Булавина Е.В., Вдовина С.Н.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

### Аннотация

Обнаружено перколяционное изменение электронной проводимости при осаждении дисперсной меди в сульфокатионообменную мембрану МК-40. Порог перколяции наблюдается, когда содержание металла достигает 8.2 мг-экв/см<sup>3</sup>, и обусловлен образованием электропроводящей структуры частиц металла в ионопроводящей матрице. Введение металлического компонента в ионообменную мембрану в количестве меньшем 8.2 мг-экв/см<sup>3</sup> приводит к изменению величины ее мембранного потенциала от -0.130...-0.014 В до -0.091...-0.009 В в 0.001...0.1 М растворах сульфата меди (II) вследствие ограничения ионного обмена, вызванного в основном блокированием ионогенных центров мембраны частицами меди. При возникновении электронной проводимости потенциал приближается к потенциалу немодифицированной металлом ионообменной мембраны. Этот эффект вызван сокращением числа блокированных ионогенных центров вследствие перекристаллизации и роста частиц меди. В целом потенциал металлосодержащей мембраны по абсолютным значениям остается высоким, что свидетельствует о сохранении способности композита к эквивалентному ионному обмену

### Введение

Композиты металл-ионообменник (в виде пленок, волокон, мембран, гранул) представляют собой наноструктурированные гетерогенные системы, в которых частицы металла распределены по объему полимерной матрицы. Благодаря активности дисперсного металла и способности матрицы к ионному обмену эти материалы использованы при создании катализаторов химических и электрохимических реакций, электродных датчиков, фильтров для комплексной очистки воды и т.д. [1-8]. Электронная проводимость таких композитов, отвечающая за их электрохимическую и электрокаталитическую активность, обеспечивается наличием электрического контакта между частицами металла. Электрический контакт в электронпроводящих полимерных матрицах реализуется за счет наличия сопряженных связей и делокализованных электронов. В матрицах, не обладающих способностью к переносу электронов, возникновение электронной проводимости зависит от расстояния между частицами металла и является функцией количества внедренного металла [9-11].

Возникновение электронной проводимости у зернистого композита металл (медь, серебро)-стирол-дивинилбензолный сульфокатионообменник КУ-23 происходит при концентрациях серебра 2 мг-экв/см<sup>3</sup> и меди 6 мг-экв/см<sup>3</sup>, достигаемых многократным осаждением металла в ионообменную матрицу [12, 13]. В то же время, как показали исследования [14-17], допирование сорбентов (КУ-23, КУ-2, силикагель) дисперсным металлом (медь, серебро) влияет на их сорбционные свойства. Ограничение обмена с раствором приводит к снижению величины константы равновесия обмена и потенциала Доннана, рассчитанных по изменению состава раствора в процессе обмена  $H^+ - Cu^{2+}$ . Создание композитов металл-ионообменник на основе мембран позволяет экспериментально определить концентрационную составляющую потенциала Доннана по величине мембранного потенциала.

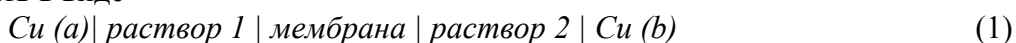
Цель настоящей работы состояла в создании композита на основе сульфокатионообменной мембраны МК-40 путем химического осаждения меди, определении электронной проводимости и оценке влияния металлического компонента на потенциал ионообменной мембраны.

### Методы исследования

Синтез композитов металл-ионообменник на основе сульфокатионообменной мембраны МК-40 осуществляли методом химического осаждения. Для этого предварительно кондиционированную по методике [18] мембрану в  $H^+$ -форме приводили в контакт с 6% раствором сульфата меди (II) и после промывки от избыточного электролита приводили в контакт с 6% раствором дитионита натрия в 2.5 % гидроксиде натрия в статических условиях в течение 24 ч. Далее мембрану промывали предварительно обессоленной и обескислороженной водой, 6% серной кислотой и вновь водой. Количество металла в мембране увеличивали путем повторного проведения циклов ионообменное насыщение – восстановление металла. Таким образом достигали содержания меди в мембране 1.6...9.6 мг-экв/см<sup>3</sup>.

Измерения электронной проводимости модифицированной медью ионообменной мембраны проводили при комнатной температуре с использованием прижимных контактов в виде полированных медных дисков по методике [19]. Синтезированные образцы высушивали под вакуумом до остаточного давления  $1.3 \cdot 10^{-2}$  мм рт. ст. Поверхность и срез образцов изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM 6380 LV (Япония) при увеличении  $10000^x$  и ускоряющем напряжении 20 кВ.

Потенциал ионообменной мембраны с осажденной в нее медью измеряли способом, предложенным для оценки доннановской разности потенциалов [20], адаптировав его применительно к исследуемой системе. Мембрану в  $H^+$ -форме предварительно приводили в равновесие с обескислороженными аргоном растворами сульфата меди (II) (0.001...0.1 М) в течение трех суток для установления ионообменного равновесия и завершения процессов перекристаллизации металлических частиц. Далее измеряли потенциал мембраны. Устройство ячейки для измерения мембранного потенциала, использованной в данной работе приведено на рис.1. В качестве измерительных использовали медные электроды. Электрохимическую цепь для измерения потенциала мембраны в этом случае можно записать в виде



Раствор 1 - исследуемый раствор сульфата меди (II), раствор 2 - насыщенный раствор сульфата меди (II).

Для компенсации разности потенциалов между электродами (a) и (b) составляли вторую электрохимическую цепь

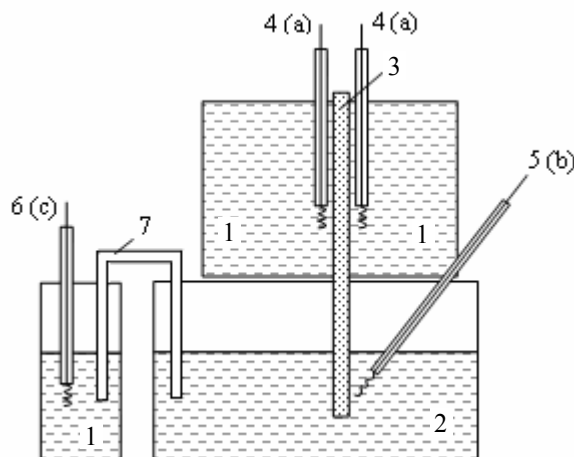
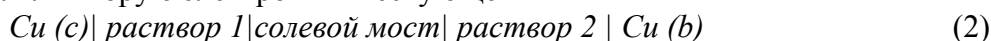
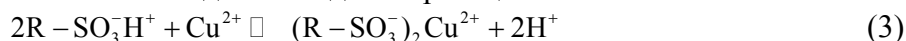


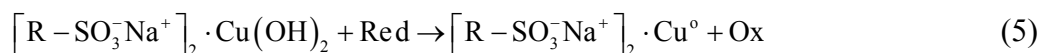
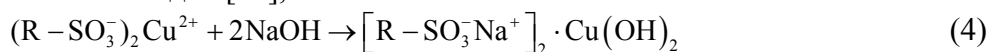
Рис.1. Экспериментальная установка для измерения потенциала ионообменной мембраны в растворах сульфата меди (II): 1 – равновесный раствор  $CuSO_4$ ; 2 – насыщенный раствор  $CuSO_4$ ; 3 – мембрана МК-40 или композит на ее основе; 4, 5, 6 – медные электроды; 7 – агар-агаровый мост

## Результаты и их обсуждение

Химическое осаждение меди в ионообменную мембрану вели чередованием циклов ионообменное насыщение-восстановление. Ионообменное насыщение мембраны ионами меди  $Cu^{2+}$  идет по реакции



При последующем пропускании щелочного раствора восстановителя Red происходят два процесса: осаждение металла в виде труднорастворимого гидроксида и редокс-превращение, в ходе которого из гидроксида образуется высокодисперсный металлический осадок [21],



Цикл насыщения ионами  $Cu^{2+}$  (3) с последующим осаждением (4), (5) повторяли несколько раз для постепенного увеличения количества меди в фазе ионообменной мембраны.

Осаждение металла начинается на поверхности мембраны и при последующих циклах фронт дисперсной меди постепенно продвигается от границы мембрана/раствор в объем ионообменной матрицы. Такое заполнение мембраны металлом обусловлено стерическими и электростатическими ограничениями, возникающими при диффузии коионов восстановителя  $S_2O_4^{2-}$  в гелевой сульфокатионообменной матрице, которая составляет основу мембраны МК-40.

Анализ вольтамперных характеристик показал, что при измерении сопротивления мембраны, допированной медью, наблюдается отклонение от



линейной зависимости (рис.2). Как известно [22, 23], указанный факт свидетельствует о переносе электронов через изолирующие прослойки по туннельному механизму.

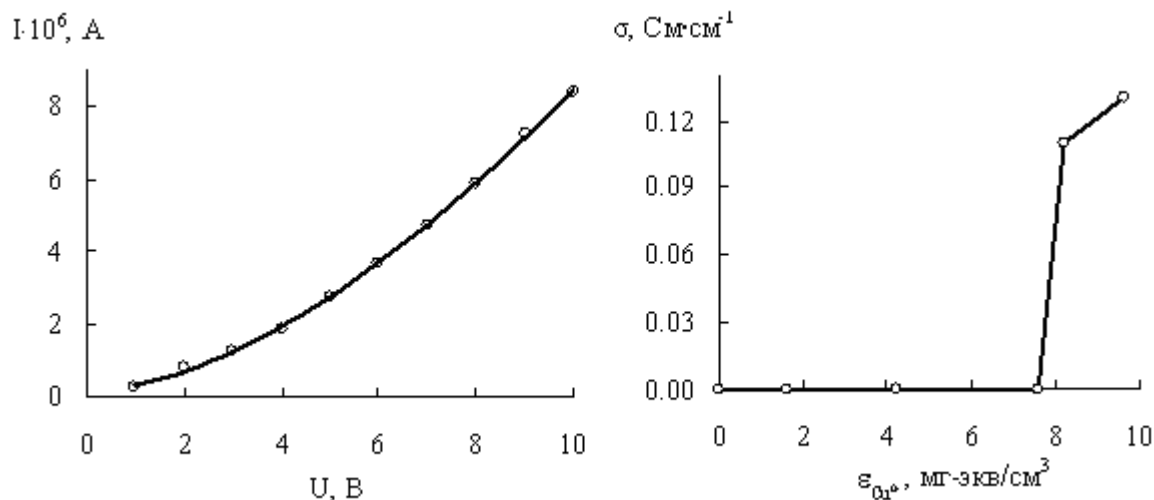


Рис.2. Вольтамперная зависимость ток I- напряжение U для композита дисперсная медь–ионообменная мембрана МК-40 с емкостью по меди  $\epsilon_{Cu^0} = 1.6$  мг-экв/см<sup>3</sup>.

Рис.3. Удельная проводимость  $\sigma$  композита Cu<sup>0</sup>-МК-40 в зависимости от количества внедренного металла  $\epsilon_{Cu^0}$

Зависимость удельной проводимости модифицированной дисперсной медью ионообменной мембраны МК-40 от количества осажденного металла представлена на рис.3. Сопротивление образцов рассчитывали как коэффициент линейного уравнения регрессии зависимости тока от напряжения. Как видно, образцы с содержанием меди менее 8.2 мг-экв/см<sup>3</sup> оказываются практически непроводящими, что свидетельствует о разобщенности металлических частиц и отсутствии заметного электронного обмена между ними. Резкое увеличение удельной проводимости при достижении содержания меди 8.2 мг-экв/см<sup>3</sup> соответствует формированию сопряженной металлической системы - единого перколяционного кластера проводящих частиц [23].

Данные сканирующей электронной микроскопии показывают (рис.4а), что в мембране присутствуют как отдельные частицы меди размером от 10 до 100 нм, так и их скопления (ансамбли). Рентгенографическим анализом обнаружено уширение пиков по грани 111 кристаллической меди, соответствующее среднему размеру частиц 50 нм. Повторное осаждение меди приводит не только к увеличению количества частиц металла на поверхности мембраны (рис.4б-д), но и к восстановлению меди в объеме мембраны. Объемное заполнение мембраны медью происходит на 4 и 5 циклах осаждения металла  $\epsilon_{Cu^0} = 8.2-9.6$  мг-экв/см<sup>3</sup> (рис.4е). Видно, что в объеме мембраны образуются довольно крупные кристаллы меди, что обусловлено условиями изготовления мембраны, в частности, использованием капрона в качестве армирующего волокна. Таким образом, возникновение порога перколяции электронной проводимости соответствует образованию частиц металла в объеме мембраны, следовательно, именно эти частицы отвечают за перенос электронов между внешними границами мембраны.

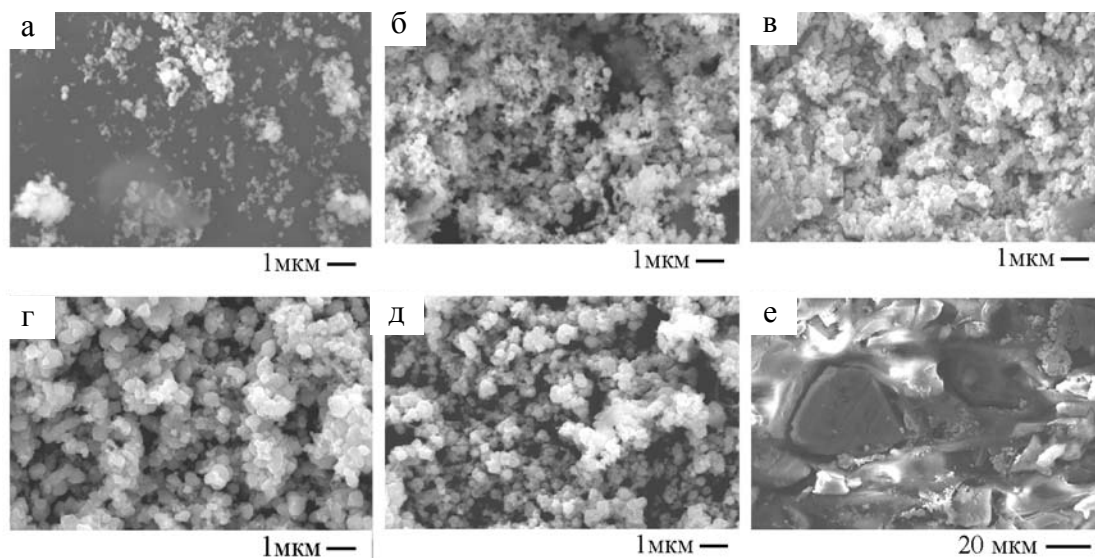


Рис. 4. Электронные микрофотографии поверхности и объема композита дисперсная медь – ионообменная мембрана МК-40 при различном содержании меди  $\epsilon_{Cu^0}$ , мг-экв/см<sup>3</sup>: а – 1.6 ; б – 4.2; в – 7.6; г – 8.2; д – 9.6; е – объем образца д

Поскольку восстановление ионов меди происходит вблизи ионогенных центров катионообменной матрицы, увеличение количества металла при повторном осаждении может существенно сказаться на ее ионообменных свойствах. Известно, что образующиеся частицы металла блокируют (экранируют) ионогенные центры, подход ионов к ним затрудняется [14, 16]; за счет наличия в объеме матрицы кристаллов меди происходит сокращение ее порового пространства, сорбционная способность металлнаполненных композитов может снижаться в сравнении с ионообменником [15]; в присутствии примесного растворенного кислорода дисперсная медь растворяется [15, 24], ионы меди занимают ионогенные центры матрицы, противоионы водорода расходуются на восстановление кислорода.

Каждый из перечисленных факторов способен оказать влияние на степень ионного обмена. Так, для зернистых медьсодержащих композитов на основе сульфокатионообменников КУ-23 и КУ-2 ограничение ионного обмена достигало 30% и приводило к уменьшению величины константы равновесия обмена и концентрационной составляющей потенциала Доннана [16, 17]. В настоящей работе влияние дисперсной меди на ионообменные свойства мембраны оценивали, сопоставляя экспериментальные значения мембранных потенциалов модифицированной и немодифицированной медью мембраны. Мембранный потенциал определяли как разность напряжений электрохимических цепей (1) и (2). Напряжение цепи (1) складывается из скачков потенциала на каждой межфазной границе:

$$E_{(1)} = \Delta_{p_1}^{Cu} \varphi + \Delta_{\bar{p}_1}^{p_1} \varphi + \Delta_{\bar{p}_2}^{p_2} \varphi + \Delta_{p_2}^{p_2} \varphi + \Delta_{Cu}^{p_2} \varphi \quad (6)$$

Здесь  $\Delta_{p_1}^{Cu} \varphi$  и  $\Delta_{Cu}^{p_2} \varphi$  - скачки потенциала  $Cu^{2+}/Cu$  на границах медный электрод/раствор 1 и раствор 2 /медный электрод соответственно;  $\Delta_{\bar{p}_1}^{p_1} \varphi$  - доннановская разность потенциалов на границе раствор 1 /мембрана

$$\Delta_{\bar{p}_1}^{p_1} \varphi = E_D = \frac{RT}{2F} 2.3 \lg \frac{k_{Cu^{2+}} \cdot a_{Cu^{2+}(1)}}{\bar{a}_{Cu^{2+}(1)}}, \quad (7)$$

$k_{Cu^{2+}}$  – коэффициент распределения ионов меди между фазами;  $\Delta_{\bar{p}_2} \varphi$  – диффузионный потенциал, возникающий за счет разной активности ионов меди на границах 1 и 2 в мембране он близок к нулю, как следует из обоснования [20];  $\Delta_{p_2} \varphi$  – доннановская разность потенциалов, возникающая на границе мембрана/раствор 2. Принимается, что вклад  $\Delta_{p_2} \varphi$  в измеряемое напряжение пренебрежимо мал вследствие высокой концентрации противоионов меди в мембране и растворе 2.

Таким образом, напряжение цепи (1) обусловлено в основном разностью потенциалов на границе раствор 1/мембрана  $\Delta_{p_1} \varphi$  и разностью потенциалов двух медных электродов в растворах собственных ионов 1 и 2 ( $\Delta_{p_1}^{Cu} \varphi$  и  $\Delta_{Cu}^{p_2} \varphi$ ). Напряжение цепи (2) определяется соотношением

$$E_{(2)} = \Delta_{p_1}^{Cu} \varphi + \Delta_{p_2} \varphi + \Delta_{Cu}^{p_2} \varphi. \quad (8)$$

Так как при измерении напряжения цепи (2) использовали солевой мост с KCl, то вкладом диффузионного потенциала можно пренебречь [25]. С учетом этого исследуемый мембранный потенциал оценивали по разности напряжений цепей (1) и (2)

$$E_M = E_{(1)} - E_{(2)}. \quad (6)$$

Поскольку мембрана предварительно приведена в равновесие с одинаковым с обеих сторон раствором сульфата меди, то экспериментальная величина  $E_M$  характеризует концентрационную составляющую потенциала Доннана  $\Delta E_D$  на границе раствор 1/мембрана

$$E_M = \Delta E_D = b \lg \frac{a_{Cu^{2+}}}{\bar{a}_{Cu^{2+}}}, \quad b = 0.03 \text{ В} \quad (7)$$

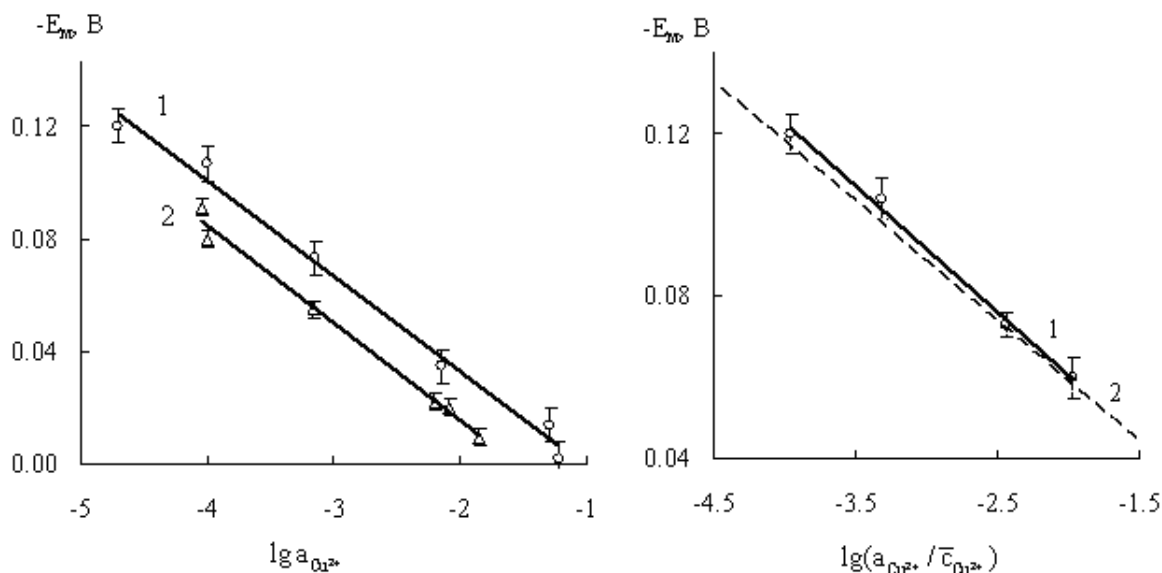


Рис.5. Потенциал сульфокатионообменной мембраны МК-40 (1) и композита  $Cu^0$ -МК-40 (2) в зависимости от равновесной активности ионов меди (II) в растворе. Емкость по меди составляет 1.6 мг-экв/см<sup>3</sup>.

Рис.6. Потенциал сульфокатионообменной мембраны МК-40 (1) и концентрационная составляющая потенциала Доннана (2), найденная по данным табл. 1

Потенциал мембраны  $E_M$  закономерно растет по абсолютной величине при переходе от концентрированных растворов сульфата меди к разбавленным (рис.5, кривая 1). Это обусловлено возрастанием градиента концентраций ионов в растворе и мембране. Введение в мембрану металла (кривая 2) приводит к изменению потенциала мембраны от  $-0.130 \dots -0.014$  В до  $-0.091 \dots -0.009$  В в исследуемом интервале концентраций сульфата меди (II)  $0.001 \dots 0.1$  М. Оценка концентрационной составляющей потенциала Доннана по равновесным концентрациям ионов меди в растворе и мембране в области разбавленных растворов (табл.1) показала, что экспериментальные значения мембранного потенциала близки к рассчитанным (рис.6). Наклон кривой 1 составляет  $0.031$  В, что согласуется с теоретическим наклоном в уравнении (7).

Как следует из уравнения (7), при одной и той же равновесной концентрации ионов меди в растворе различие в потенциалах модифицированной медью и немодифицированной мембраны определяется содержанием противоионов меди. Следовательно, наличие металлических центров в мембране приводит к уменьшению концентрации сорбируемых ионов меди. Измерение концентрации ионов меди и водорода в растворе после контакта с ионообменной мембраной показало, что они обмениваются в строго эквивалентных количествах (табл.1), то есть  $c_{H^+} = 2 \Delta c_{Cu^{2+}}$ . В таком случае можно полагать, что сокращение порового пространства частицами металла и ионизация меди под воздействием примесного кислорода, в ходе которой потребляются противоионы водорода, не оказывают существенного влияния на ионообменные свойства мембраны. Основной причиной ограничения обмена на металлизированной мембране следует полагать блокирование ионогенных центров мембраны образовавшимися частицами металла.

Таблица 1. Равновесные концентрации ионов меди (II) и водорода в растворе и мембране МК-40

$\varepsilon_{Cu^0}$ , МГ-ЭКВ/СМ <sup>3</sup>	$c_0$ , М	$c_{Cu^{2+}}$ , М	$\Delta c_{Cu^{2+}}$ , М	$c_{H^+}$ , М	$\bar{c}_{Cu^{2+}}$ , ММОЛЬ/СМ <sup>3</sup>
0	0.0011	0.0001±0.0000	0.0012	0.002	0.202
	0.0016	0.0001±0.0000	0.0015	—	0.260
	0.0054	0.0009±0.0001	0.0045	0.009	1.125
	0.0108	0.0067±0.0005	0.0041	—	0.745
	0.0141	0.0071±0.0003	0.0070	0.015	1.039
	0.0174	0.0078±0.0005	0.0096	—	1.646
1.6	0.0012	0.0002±0.0000	0.0010	0.002	0.200
	0.0016	0.0004±0.0001	0.0012	0.002	0.206
	0.0110	0.0080±0.0005	0.0030	0.006	0.519
	0.0172	0.0085±0.0002	0.0086	0.020	1.431
9.6	0.0013	0.0001±0.0000	0.0012	0.003	0.223
	0.0054	0.0011±0.0001	0.0043	0.009	1.075
	0.0108	0.0066±0.0002	0.0040	0.008	0.630
	0.1163	0.1080±0.0004	0.0080	0.018	1.245

Обозначения:  $\varepsilon_{Cu^0}$  - содержание нульвалентной меди в мембране,  $c_0$  - исходная концентрация ионов меди (II) в растворе,  $c_{Cu^{2+}}$  - равновесная концентрация ионов меди в растворе,  $\Delta c_{Cu^{2+}}$  - убыль ионов меди в растворе вследствие ионного обмена,

$c_{H^+}$  - равновесная концентрация ионов водорода,  $\bar{c}_{Cu^{2+}}$  - концентрация противоионов меди.

При повторном осаждении меди потенциалы модифицированной медью и немодифицированной мембраны еще более различаются (рис.7). Однако после третьего цикла осаждения меди мембранный потенциал вновь возрастает по абсолютной величине и приближается к потенциалу мембраны без меди. При этом, как следует из рис.3, материал становится электропроводящим. Можно полагать, что причиной роста потенциала является перекристаллизация мелких частиц меди в более крупные [26]. В ходе этого процесса из-за растворения мелких частиц меди уменьшается число заблокированных ионогенных центров матрицы.

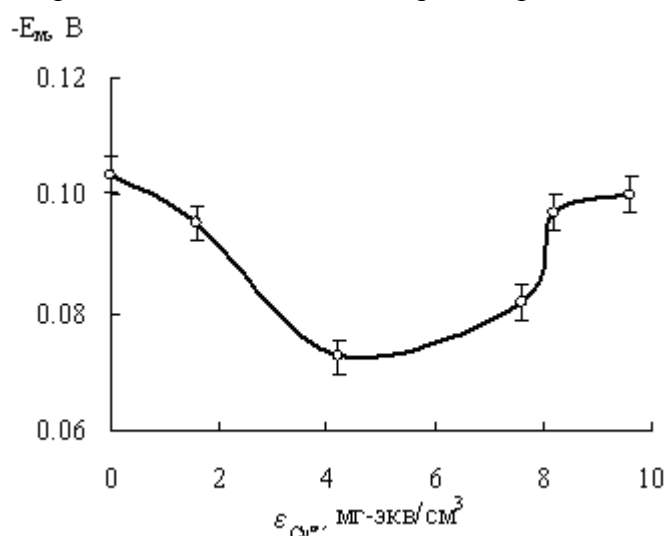


Рис.7. Зависимость мембранного потенциала от содержания меди  $\varepsilon_{Cu^{2+}}$  в МК-40. Раствор 0.001 М сульфата меди (II)

## Заключение

Химическим осаждением меди в сульфокатионообменную мембрану МК-40 синтезированы композиты металл-ионообменник. Согласно результатам сканирующей электронной микроскопии на поверхности мембраны частицы металла находятся в нанодисперсном состоянии. В ходе синтеза частицы металла осаждаются вблизи ионогенных центров мембраны и частично экранируют их, ограничивая тем самым ионный обмен с раствором. Вследствие этого уменьшается величина концентрационной составляющей потенциала Доннана для модифицированной медью мембраны. При содержании меди в композите 8.2 мг-экв/см<sup>3</sup> наблюдается перколяционное изменение электронной проводимости. Эффект перколяции электронной проводимости обусловлен объединением частиц металла в проводящую сетку, что придает ионопроводящей мембране электронпроводящие свойства. Достижение порога перколяции электронной проводимости сопровождается увеличением величины концентрационной составляющей потенциала Доннана. Причиной этого, по-видимому, является перекристаллизация меди, в ходе которой за счет растворения мелких частиц меди ионогенные центры матрицы освобождаются.

*Работа выполнена при финансировании Российского фонда фундаментальных исследований (грант 08-03-00194).*

### Список литературы

1. Терещенко Г.Ф., Орехова Н.В., Ермилова М.М. Металлсодержащие мембранные реакторы // Мембраны. 2007. № 1 (33). С. 4-20.
2. Березина Н.П., Кубайси А.А.-Р., Стенина И.А., Смолка Р.В., Тимофеев С.В. Протон-электронная проводимость и структура композитных мембран МФ-4СК, модифицированных полианилином или платиной // Мембраны. 2006. № 4(32). С. 48-55.
3. Альтшулер Г.Н., Сапожникова Л.А. Синтез ультрадисперсных переходных металлов в иммобилизованных микрореакторах // Журн. структурной химии. 2004. Т.45. С.178-180.
4. Подловченко Б.И., Андреев В.Н. Электрокатализ на модифицированных полимерами электродах // Успехи химии. 2002. Т. 71. С. 950-965.
5. Сакаи Тэцуо, Такэнака Кэйясу, Торигаи Эйти. Ионообменные металлсодержащие мембраны. Патент 60-135434, Япония. Когё Гидзюцу Инте Заявл. 23.12.83, Оpubл. 18.07.85.
6. Кулапин А.И., Михайлова А.М., Матерова Е.А. Селективные твердоконтактные электроды для определения ионогенных поверхностно-активных веществ // Электрохимия. 1998. Т.34. С. 421-426.
7. Wang Q., Yu H., Zhong L., Liu J., Sun J., Shen J. Incorporation of Silver Ions into Ultrathin Titanium Phosphate Films: In Situ Reduction to Prepare Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity // Chem. Mater. 2006. 18 (7). P. 1988-1994.
8. Пименов А.В., Митилинеос А.Г., Шмидт Дж. Л. Способ обеззараживания питьевой воды (варианты) // Пат. 2172720 РФ. МПК<sup>7</sup> C02F1/50, C02F103:04. ООО "Аквафор". Заявл. 19.04.2000 № 2000110095/12. Оpubл. 27.08.2001.
9. Трахтенберг Л.И., Герасимов Г.Н., Григорьев Е.И. Нанокластеры металлов и полупроводников в полимерных матрицах: синтез, структура и физико-химические свойства // Журн. физ. химии. 1999. Т. 73. С. 264-276.
10. Багратишвили Г.Д., Баджадзе Ж.И., Деметрашвили Д.Е. Электропроводность серебряных ионообменных форм цеолитов типа X и систем серебро/цеолит // Кинетика и катализ. 1975. Т. 12. С. 1341-1344.
11. Пул Ч., Оуэнс Ф. Нанотехнологии. М.: Техносфера, 2006. 2-е изд, доп. 336 с.
12. Кравченко Т.А., Чайка М.Ю., Полянский Л.Н., Конев Д.В., Крысанов В.А. Электроосаждение меди в ионообменник // Электрохимия. 2006. Т.42. С. 725-733.
13. Чайка М. Ю., Кравченко Т. А., Конев Д. В., Крысанов В. А., Агапов Б. Л. Эффекты перколяции при электроосаждении меди в ионообменнике // Электрохимия. 2008. Т. 82, № 7. В печати.
14. Белякова Л.Д., Коломиец Л.Н., Ларионов О.Г., Буланова А.В., Мякишева Е.А., Ревина А.А. Исследование поверхностных свойств силикагеля, модифицированного наночастицами серебра, методом газовой хроматографии // Сорбц. и хроматографич. проц. 2007. Т.7. С. 98-105.
15. Кравченко Т.А., Золотухина Е.В., Крысанов В.А. Особенности обмена  $H^+$ - $Cu^{2+}$  на электрокатионообменнике с ультрадисперсной медью // Журн. физ. химии. 2002. Т.76. С. 1812-1817.

16. Золотухина Е.В., Кравченко Т.А. Равновесие обмена  $H^+$ - $Cu^{2+}$  на макро- и микропористых сульфокатионообменниках и  $Cu^0$ -электроноинообменниках на их основе // Сорбц. и хроматографич. проц. 2007. Т. 7. С. 499-507.
17. Кравченко Т.А., Золотухина Е.В., Крысанов В.А. Роль потенциала Доннана в формировании электродного потенциала металлсодержащих электроноинообменников // Журн. физ. химии. 2004. Т.78. С. 1512-1518.
18. Глазкова И.Н., Глухова Л.П. Методы исследования физико-химических свойств ионитовых мембран / под. ред. Ласкорина Б.Н., Смирновой Н.М. М.: ЦНИИАтоминформ, 1981. 96 с.
19. Пак В.Н., Соломатина О.Ю., Буркат Т.М., Тихомирова И.Ю. Формирование структуры и электрическая проводимость наноразмерного оксида никеля в пористом стекле // Журн. прикл. химии. 2004. Т. 77. С. 1-3.
20. Бобрешова О.В., Кулинцов П.И., Новикова Л.И. Способ определения доннановского потенциала // Пат. 2250456. РФ. МПК G 01 N 27-42. Заявл. 18.08.2003. № 2003125467/28, опублик. 20.04.2005. Бюл. № 11.
21. Кравченко Т.А., Соцкая Н.В., Конев Д.В., Пешков С.В. Кинетика химического осаждения ультрадисперсной меди в сульфокатионообменник // Журн. физ. химии. 2004. Т. 78. С. 1858-1863.
22. Гуль В. Е., Шенфиль Л. З. Электропроводящие полимерные композиции. М.: Химия, 1984. 240 с.
23. Высоцкий В. В., Ролдугин В. И. Механизмы проводимости и пробы металлонаполненных полимерных пленок. // Коллоидный журнал. 1991. Т. 61. С. 190-197.
24. Gräf Ch., Heim U., Schwitzgebel G. Potentiometrical investigations of nanocrystalline copper // Solid state ionic. 2000. V. 131. P. 165-169.
25. Феттер К. Электрохимическая кинетика. М.: Химия, 1967. С.83. 856 с.
26. Золотухина Е.В., Полянский Л.Н., Пешков С.В., Кравченко Т.А., Крысанов В.А. Устойчивость ультрадисперсной меди в сульфокатионообменной матрице // Журн. физ. химии. 2008. Т. 82. С. 525-530.

**The electron conductivity and the potential of the copper modified sulfocation-exchange membrane MC-40**

Zolotukhina E.V., Chayka M.Yu., Kravchenko T.A., Novikova V.V.,  
Bulavina E.V., Vdovina S.N.  
Voronezh State University

The composite of copper-ion-exchange membrane MC-40 was produced by the repeating chemical deposition of copper into ion-exchange matrix. The jump of electron conductivity of this material was found. It was shown that the value of membrane potential of composite (special measured as a concentration component of Donnan's potential at the only one composite/solution interface) is bigger than potential of membrane without metal. When the jump of electron conductivity was realized the membrane potential of composite was increased to the potential of ion-exchange matrix MC-40.

*Ключевые слова: модифицированная мембрана, нанокристаллическая медь, порог перколяции электронной проводимости, мембранный потенциал, потенциал Доннана*



УДК 543.544

## Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ

Чечета О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

### Аннотация

В результате данной работы предложена методика идентификации растительных масел и масляных экстрактов с помощью тонкослойной хроматографии по количеству хроматографических зон с определенными значениями величин подвижности. Кроме того, по виду хроматографического профиля, установлено, что для производства изучаемых масляных экстрактов использовано рафинированное подсолнечное масло. Данный подход к стандартизации качества масел может быть использован при разработке нормативной документации на растительные масла и масляные экстракты

### Введение

Жиры и жирные растительные масла имеют широкое распространение, как в растительных, так и в животных организмах. Они представляют собой смеси, состоящие из различных сложных эфиров глицерина с кислотами жирного ряда и содержат различные сопутствующие вещества [1].

В настоящее время анализ растительных масел (РМ) и масляных экстрактов (МЭ) осуществляется в соответствии с существующей нормативной документацией (НД): фармакопейными статьями, ГОСТами и Государственными фармакопеями (ГФ). Контролируются такие показатели качества как вкус, цвет, запах, прозрачность, наличие осадка, значения кислотного, перекисного, йодного и эфирного чисел, числа омыления и показатель преломления. Чистоту масел устанавливают по наличию мыла, воска, парафина и смоляных кислот, а также содержанию влаги и летучих веществ [2]. В литературе [3,4] рекомендуется оценивать качество РМ с применением спектрофотометрии (СФ) в УФ- и видимой областях спектра. В последнее время для стандартизации РМ и МЭ рекомендовано проводить определение биологически активных веществ (БАВ), которые обеспечивают их фармакологическую активность [5]. Идентификацию масел длительное время осуществляют по жирно-кислотному составу методом ГЖХ [6,7]. Кроме того, все чаще появляются публикации, по анализу РМ с применением ВЭЖХ для изучения качественного и количественного триглицеридного состава [8-12]. Европейская Фармакопея [13] предлагает простой, доступный и экспрессный способ идентификации РМ методом ТСХ, который позволяет однозначно определить вид масла. В предлагаемой методике используют последовательное элюирование в двух подвижных фазах:



диэтиловый эфир и метилхлорид: уксусная кислота: ацетон (20:40:50). На рисунке 1 представлен типичный вид хроматограммы наиболее распространенных РМ, применяемых в пищевой и фармацевтической промышленности. При анализе отечественной литературы подобных работ обнаружено не было.

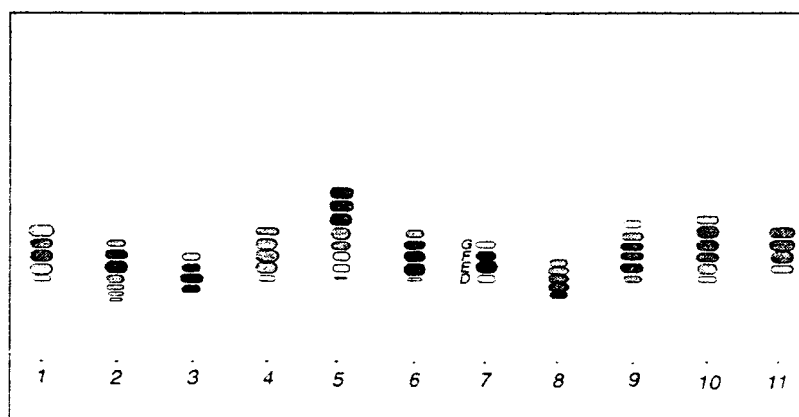


Рис. 1. Типичный вид хроматограммы для идентификации жирных растительных масел [13].

- |                     |                     |                                          |                        |
|---------------------|---------------------|------------------------------------------|------------------------|
| 1. Кукурузное масло | 4. Сезамовое масло  | 7. Оливковое масло                       | 10. Соевое масло       |
| 2. Арахисовое масло | 5. Льняное масло    | 8. Рапсовое масло                        | 11. Подсолнечное масло |
| 3. Масло какао      | 6. Миндальное масло | 9. Рапсовое масло (без эруковой кислоты) |                        |

Целью данной работы явилась идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ.

Объектами исследования были выбраны жирные РМ и МЭ, наиболее широко представленные на фармацевтическом рынке нашей страны: масло плодов облепихи, масло плодов шиповника, масло виноградной косточки и масляные экстракты: цветков ромашки, цветков календулы, листьев крапивы, травы череды и травы тысячелистника.

## Эксперимент

На первом этапе работы осуществляли подбор детектирующего реагента. Фосфорномолибденовая кислота (ФМК) является неспецифическим проявителем, позволяющим обнаружить все разделяемые компоненты. Зоны веществ имеют высокую контрастность по сравнению с общим фоном пластинки, и длительное время сохраняют свою интенсивность. При использовании в качестве проявителя 5 % спиртового раствора ФМК (№ 1), который рекомендуется в литературе в качестве проявителя веществ различной природы [14], хроматографические зоны имели нечеткую форму. При увеличении концентрации до 10 % (№ 2), качество хроматографической картины было лучше, так как зоны получались более яркие и четкие. Этот же проявитель предлагает использовать Европейская Фармакопея [13]. Дальнейшее увеличение содержания ФМК в спиртовом растворе нецелесообразно, ввиду ее малой растворимости. Поэтому реагент № 2 был выбран для обработки пластин после хроматографического разделения.

Наибольшее влияние на поведение веществ в тонком слое сорбента оказывает растворитель, поэтому на следующем этапе была проведена работа по подбору элюентов. Элюенты готовили смешением компонентов в указанных соотношениях

(табл. 1) непосредственно перед использованием. В таблице 1 приведены элюенты, которые были подобраны нами для разделения РМ.

Установлено, что на разделение хроматографических зон влияет не только величина полярности элюента [15.16] (табл. 1), но и качественный и количественный состав подвижной фазы, так как в системах с одинаковыми значениями полярности (№ 3 и № 8) (табл. 1) наблюдаются разные хроматографические картины. В системах № 1, 6-8 разделения хроматографических зон масел не происходит, а наблюдается только одно вытянутое по оси ординат пятно. В системах № 2-5 хроматографические зоны масел разделяются. Выявлено, что наилучшее разделение и качество зон получается в элюирующей системе № 4, значение полярности которой составляет 0,13 (табл. 1).

Таблица 1. Значение полярности изученных элюирующих систем

№ системы п/п	Состав системы	Соотношение компонентов	Значение полярности
1	н-Гексан	-	0
2	Гексан: этанол	10:0,1	0,05
3	Гексан: этанол	10:0,2	0,1
4	Гексан: этанол	10:0,25	0,13
5	Гексан: этанол	10:0,3	0,15
6	Гексан: хлороформ	10:0,2	0,08
7	Гексан: ацетон	10:0,2	0,11
8	Гексан: бензол	29:1	0,1

Таким образом, при приготовлении элюента следует учитывать, что на качество разделения хроматографических зон оказывает влияние не только соотношение растворителей, но и качественный состав подвижной фазы. Немаловажным фактом является то, что использованные в работе растворители (хлороформ, гексан и этанол) относятся ко II и III классам токсичности соответственно в отличие от метилхлорида, предлагаемого Европейской ГФ [13], который принадлежит к особо опасному I классу токсичности.

Навеску масла 0,3 г (т.н.) растворяли в 3 мл хлороформа марки х.ч. Получали раствор с содержанием масла 0,1 г/мл, который наносили на линию старта хроматографической пластинки марки «Sorbfil» или «Плазмохром» размером 10×15 см с полимерной подложкой. Растворы должны быть свежеприготовленные. Установлено, что оптимальный объем наносимой пробы для растворов масел с такой концентрацией составляет 3 мкл.

Пластинку сушили на воздухе, а затем помещали в хроматографическую камеру, насыщенную парами элюента. Хроматографирование осуществляли восходящим способом. После достижения растворителем линии фронта, пластинку вынимали и высушивали на воздухе, а затем детектировали 10 % спиртовым раствором ФМК. Хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на желто-зеленом фоне после термостатирования при  $t^{\circ} = 100 - 120^{\circ} \text{C}$ .

#### Обсуждение результатов

При исследовании растворов РМ и МЭ в хлороформе методом ТСХ было замечено, что хроматографический профиль различных масел отличается друг от друга. Хроматограммы РМ и МЭ представлены на рис. 2.

Как видно из рис. 2, на хроматограммах МЭ обнаруживается семь хроматографических зон, которые являются общими для всех МЭ, со значениями

величин  $R_f = 0,1 \pm 0,005; 0,16 \pm 0,003; 0,22 \pm 0,02; 0,27 \pm 0,03; 0,44 \pm 0,02; 0,51 \pm 0,01; 0,98 \pm 0,01$ . На хроматограмме проявляется пятно на линии старта в месте нанесения пробы. Для масла шиповника наблюдалось шесть хроматографических зон со значениями  $R_f = 0,05 \pm 0,007; 0,14 \pm 0,02; 0,23 \pm 0,02; 0,31 \pm 0,01; 0,38 \pm 0,02; 0,98 \pm 0,01$ . При анализе облепихового масла проявлялось семь зон с величинами  $R_f = 0,08 \pm 0,006; 0,16 \pm 0,02; 0,21 \pm 0,02; 0,25 \pm 0,02; 0,37 \pm 0,02; 0,42 \pm 0,01; 0,98 \pm 0,01$ , которые являются характерными в данной элюирующей системе для данного вида масла. В связи с этим мы предполагаем, что хроматографический профиль растворов РМ и МЭ можно использовать для идентификации масел по количеству зон с определенными значениями величин относительной подвижности компонентов ( $R_f$ ).

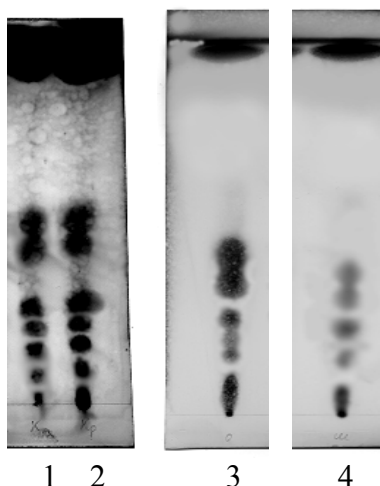


Рис. 2. Хроматографический профиль изучаемых РМ и МЭ (1 – МЭ цветков календулы; 2 – МЭ цветков ромашки; 3 – РМ облепихи; 4 – РМ шиповника)

В использованной элюирующей системе наблюдается удовлетворительное разделение хроматографических зон, так как значение селективности сорбции ( $L = K_n/K_{n+1}$ ), т.е. отношение коэффициентов распределения ( $K$ ) двух веществ больше единицы (табл. 2). Чем больше величина  $L$ , тем лучше будет разделение [17,18].

Таблица 2. Величины  $R_f$ ,  $K$ , и  $L$  по данным ТСХ для элюирующей системы № 4 на примере МЭ цветков календулы

№*	$R_f$	$K$	$L$
1	$0,1 \pm 0,005$	9	1,71
2	$0,16 \pm 0,003$	5,25	
3	$0,22 \pm 0,02$	3,55	1,48
4	$0,27 \pm 0,03$	2,7	1,32
5	$0,44 \pm 0,02$	1,27	2,13
6	$0,51 \pm 0,01$	0,96	1,32
7	$0,98 \pm 0,01$	0,02	48

\*- № зоны на хроматограмме (рис. 2).

Установлено, что все изучаемые МЭ (рис. 3) имели одинаковый хроматографический профиль, что может быть связано с применением одного вида масла – экстрагента при их получении.

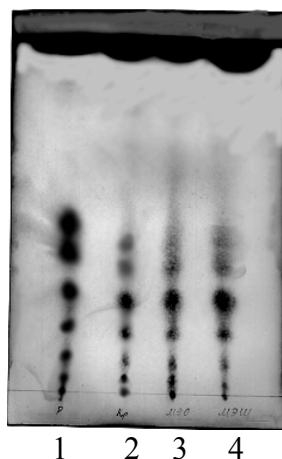


Рис. 3. Хроматографический профиль изучаемых МЭ (1 – МЭ цветков ромашки; 2 – МЭ листьев крапивы; 3 – МЭ цветков календулы; 4 – МЭ травы тысячелистника)

Учитывая, что для производства МЭ в промышленных условиях чаще всего в качестве экстрагентов используются рафинированные подсолнечное, соевое и оливковое масла [19-21], возникает необходимость провести анализ данных масел с целью установления вида масла, использованного для получения изучаемых МЭ. В описанных выше условиях получены хроматограммы масел – экстрагентов (рис. 4). Результаты определения величины  $R_f$  представлены в таблице 3.

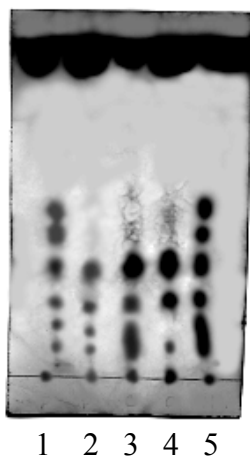


Рис. 4. Хроматографический профиль РМ, наиболее часто используемых при производстве МЭ (1 – МЭ цветков ромашки; 2 – рафинированное подсолнечное масло; 3 – рафинированное соевое масло; 4 – рафинированное оливковое масло; 5 - нерафинированное подсолнечное масло)

Для треков рафинированного соевого и нерафинированного подсолнечного масел (рис. 4, точки 3 и 4) характерны хроматографические зоны, имеющие вытянутую по оси ординат форму. При уменьшении объема наносимой пробы до 2 мкл, снижалась интенсивность окраски пятна, однако вид данной зоны не изменялся.

Установлено, что при производстве изучаемых МЭ было использовано рафинированное подсолнечное масло. Однако, зон со значениями  $R_f = 0,44 \pm 0,02$  и  $0,51 \pm 0,01$  (табл. 3) не обнаружено ни в одном из рафинированных масел (в соевом и оливковом маслах обнаруживаются лишь слабые следы), что может быть связано с разрушением

некоторых липофильных веществ в процессе рафинации [22,23], которые появляются вновь в МЭ, по-видимому, из растительного сырья, использованного при их производстве.

Таблица 3. Значение величин  $R_f$  для масел-экстрагентов, используемых в процессе производства МЭ в элюирующей системе № 4

Значение величины $R_f$	Нерафинированное подсолнечное масло					
	1	2	3	4	5	6
	0,14± 0,03	0,24± 0,02	0,36± 0,02	0,42± 0,02	0,52±0,02	0,98± 0,01
	Рафинированное подсолнечное масло					
	0,1± 0,005	0,16± 0,003	0,22± 0,02	0,27± 0,03	-	0,98± 0,01
	Рафинированное соевое масло					
	0,12± 0,03	0,22± 0,02	0,35± 0,02	-	-	0,98± 0,01
	Рафинированное оливковое масло					
	0,1± 0,005	0,22± 0,02	0,33± 0,02	-	-	0,98±0,01

### Заключение

Таким образом, разработана методика идентификации растительных масел и масляных экстрактов с помощью ТСХ по количеству хроматографических зон с определенными значениями величин подвижности. Кроме того, по виду хроматографического профиля, установлено, что для производства изучаемых МЭ использовано рафинированное подсолнечное масло. Данный подход к стандартизации качества масел может быть использован при разработке НД на РМ и МЭ. Предложенный метод не требует длительной пробоподготовки и дорогостоящего оборудования.

### Список литературы

1. Котова Э. Э. К вопросу о стандартизации некоторых жирных растительных масел и препаратов на их основе. // Научно – практический журнал «Фармакон», 2004г, №2, с. 3-9.
2. Государственная фармакопея СССР, 10-е изд., М.: Медицина, 1968 г.
3. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей.
4. Глуценко Н.Н, Т.А. Лобаева, Т.А. Байтукалов и др. Анализ показателей качества фитопрепаратов на основе жирных растительных масел // «Фармация», 2005г., №3, с. 7 – 9.
5. Рудаков О. Б. , Пономарев А. Н., Полянский К. К., Любарь А. В. Жиры. Химический состав и экспертиза качества // М.: ДелиПринт, 2005 г., 351 с.
6. Рудаков О.Б., Полянский К.К. Хроматографическая идентификация растительных масел. // Хранение и переработка сельхозсырья, № 10, 2001 г., с. 37 – 40.

7. Карпенко В.А., Саушкина А.С., Гаврилин М.В. Разработка норм качества масла касторового. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Пятигорск, 2006 г., с. 214 - 216.
8. Рудаков О.Б., Полянский К.К. Развитие метода интерпретации хроматограмм животных жиров. // «Хранение и переработка сельхозсырья», № 10, 2001 г., с. 40 – 42.
9. Дейнека В. И., Дейнека Л. А., Габрук Н. Г. и др., Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ. // Журн. Аналитической химии, М.: Наука, 2003г., Том 58, № 12, с. 1294 – 1299.
10. Беляев Д.С., Фан Винь Тхинь, Хорохордина Е.А. и др., Экспресс-анализ триглицеридов и биологически активных компонентов растительных масел методом микроколоночной ВЭЖХ с УФ-детектором. // Тез.докл. 3-ей Всеросс. Научно-методической конф. «Фармообразование – 2007», Воронеж, 2007г., с. 66 – 68.
11. Дейнека В.И., Рудаков О.Б. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации и обнаружения фальсификации масел. // Масла и жиры, № 9, 2005г.
12. Денисов В.И., Дейнека Л.А., Анализ растительных масел методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналит. Химии, 2004г., Т.59, №9, с. 993-997.
13. European Pharmacopoeia, 2<sup>th</sup> ed., - Strasbourg: Council of Europe, 1997, p. 49.
14. Кирхнер Ю., Тонкослойная хроматография // М.: Мир, 1981г., с. 402 – 407.
15. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др., Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. // Воронеж: Изд-во «Водолей», 2004 г., 528 с.
16. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В., Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. // Саратов: Изд-во Сарат. Ун-та, 2002 г., 102 с.
17. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. // Том 1, М. : Мир, 1999г., 405 с.
18. Демченко Ю.Т., Белякова А.В., Вайнштейн В.А. и др. Двухфазная экстракция БАВ из лекарственного растительного сырья с использованием масел, твердых жиров и синтетических эмульгентов. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Пятигорск, 2006 г., с. 83 - 87.
19. Шиков А. Н., Макаров В. Г., Рыженков В. Е., Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства // М.: Издат. дом «Русский врач», 2004г., с. 100 – 112.
20. Погорелов В. И., Верещагина В. В., Гранкина И. В. Способы получения масляных и спиртовых извлечений из цветков бархатцев. // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции», Вып. 62 , Пятигорск, 2007 г., с. 206-207.
21. Луговой А. В., Чертков Н. И., Сергеев А. Г., Миронова А. Н., Хранение растительных масел и жиров // М.: Агропромиздат, 1989г., с. 19 – 23.
22. Сизова Н. В., Андреева Н. Ю. Определение витамина Е в растительных маслах методом микрокалориметрии // Хим.-фарм. журн., Том 41, №6, 2007, с. 49 - 52.

**Identification of vegetable oils and oil extracts a method of a thin layer chromatography**

Checheta O.V., Safonova E. F., Slivkin A. I.

*The Voronezh state university.*

As a result of the given work the technique of identification of vegetable oils and oil extracts by means of a thin layer chromatography is offered by quantity chromatography zones with the certain values of sizes of mobility. Besides by the form of chromatography a structure, it is established, that for manufacture of studied oil extracts the refined sunflower oil is used. The given approach to standardization of quality of oils can be used by development of the normative documentation on vegetable oils and oil extracts.

*Ключевые слова: тонкослойная хроматография, растительные масла, хроматографический профиль*



УДК 547.28:541.183.2

## Динамика сорбции и десорбции этанала анионитом РА 511

Воронюк И.В., Елисеева Т.В., Пешкова Е.А., Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

### Аннотация

Исследована динамика сорбции и десорбции этанала на анионообменнике РА-511, содержащем функциональные аминогруппы различной основности. Установлена возможность частичной регенерации сорбента, поглощающего альдегид по механизму хемосорбции. Регенерация проводится раствором соляной кислоты, вызывающей гидролиз иминов, образовавшихся в фазе смолы на стадии сорбции.

### Введение

Анионообменные полимерные сорбенты традиционно используются для выделения из растворов минеральных ионов или органических электролитов. Механизм сорбции таких веществ обусловлен, в основном, ионным обменом. В настоящей работе исследованы особенности сорбции и десорбции на анионите РА 511 таких неионизированных органических веществ, как карбонильные соединения. Поглощение данного класса органических соединений не может происходить за счет обменного механизма, а доля необменной сорбции сравнительно мала. Ранее было установлено [1], что извлечение альдегидов происходит по механизму хемосорбции.

### Эксперимент

При исследовании динамики сорбции этанала (уксусного альдегида) применяли стеклянные колонки диаметром 0,83 см с неподвижным слоем анионообменника (раствор пропускать сверху вниз) [2, 3]. В работе использовали анионит РА 511 в ОН-форме (табл. 1).

Объем загрузки смолы составил 10 мл, масса в пересчете на абсолютно сухую смолу – 4,97 г. Концентрация исходного водно-спиртового раствора этанала – 1,1 ммоль/л.

Через колонку пропускали раствор со скоростью 1,1 мл/мин, отбирая фракции фильтрата по 100,0 см<sup>3</sup>. Процесс продолжали до тех пор, пока концентрация этанала в фильтрате не оставалась постоянной. По полученным данным строили выходную кривую сорбции в координатах  $F - V/V_0$ , где  $F$  – степень насыщения смолы,  $V$  – объем раствора, пропущенный через колонку, л;  $V_0$  – объем загрузки смолы, л.



Таблица 1. Физико-химические характеристики анионообменника PyreResin PA 511

Название	Матрица	Функциональные группы	Полная обменная емкость по минеральным ионам, ммоль/г <sub>сух</sub>	Влагосодержание, %
PA 511	полиакриловая	≡N, =NH, -NH <sub>2</sub>	7,12	48,52

С целью определения возможности многократного применения анионита для сорбции этанала изучена возможность регенерации 0,1 М раствором соляной кислоты со скоростью 1,1 мл/мин.

Определение этанала проводили методом фотометрии на основе реакции с пирогаллолом в сернокислой среде [4].

### Обсуждение результатов

Получены выходные кривые сорбции для этанала (рис.1, 3). Сорбционный фронт альдегида представляет традиционную форму «волны».

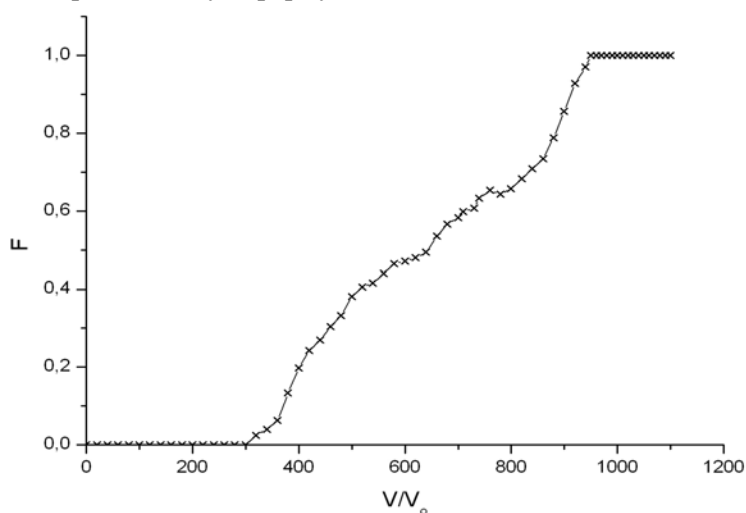


Рис. 1. Кривая сорбции этанала (1 цикл)

По виду выходной кривой в первом приближении можно дать оценку стадии механизма кинетики, контролирующей сорбционный процесс. Гелевая кинетика реализуется при достаточно высоких концентрациях сорбируемого вещества в растворе (более 0,1 моль/л) [5]. Концентрация этанала в исходном растворе не превышает  $1,1 \times 10^{-3}$  моль/л, поэтому внутридиффузионный характер кинетики сорбции является маловероятным. Размытые начальные участки выходных кривых сорбции и обострённые конечные участки свидетельствуют о доминировании внешнедиффузионного этапа в массопереносе альдегида. Внешнедиффузионный характер лимитирования кинетики сорбции подтверждается также зависимостью скорости сорбционного процесса от концентрации сорбтива, скорости пропускания жидкой фазы и отсутствием эффекта «диффузионной памяти» в опыте с прерыванием фаз в работе [6].

Однако нельзя исключать вероятность лимитирования процесса сорбции обычно самой быстрой стадией – химической реакцией между аминогруппами смолы и альдегидом.

Выявить характер лимитирующего этапа при хемосорбции довольно сложно, так как параметры, отличающие внешнедиффузионный характер от внутридиффузионного, не работают при сравнении пленочной и химической кинетики.

Для выяснения возможности повторного использования анионита проводили регенерацию образца раствором соляной кислоты (рис. 2).

Степень извлечения этанала составила 36%. Это может быть объяснено с учетом механизма поглощения этанала [1]. Образовавшиеся в ходе сорбции имины при действии соляной кислоты легко гидролизуются с образованием альдегидов, а енамины не разрушаются в кислой среде. Степень извлечения этанала при втором цикле регенерации составила 42 %.

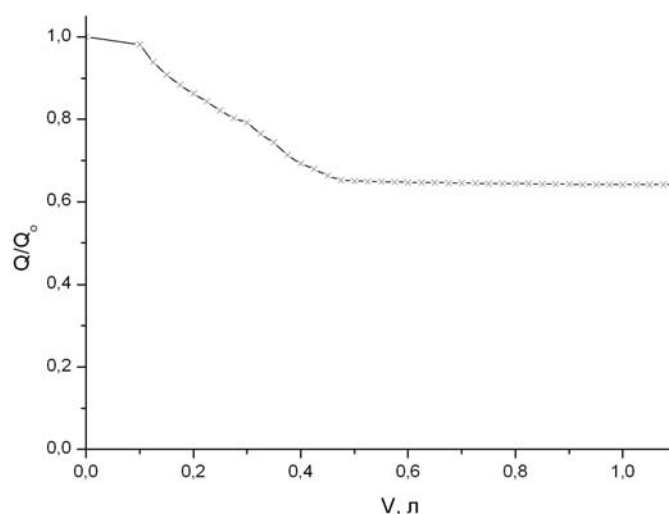


Рис. 2. Кривая десорбции этанала 0,1 М раствором HCl (1 цикл)

Повторный процесс сорбции на анионите протекает также эффективно с учетом пропущенного объема модельного раствора (рис.3.). Вид кривой не изменяется.

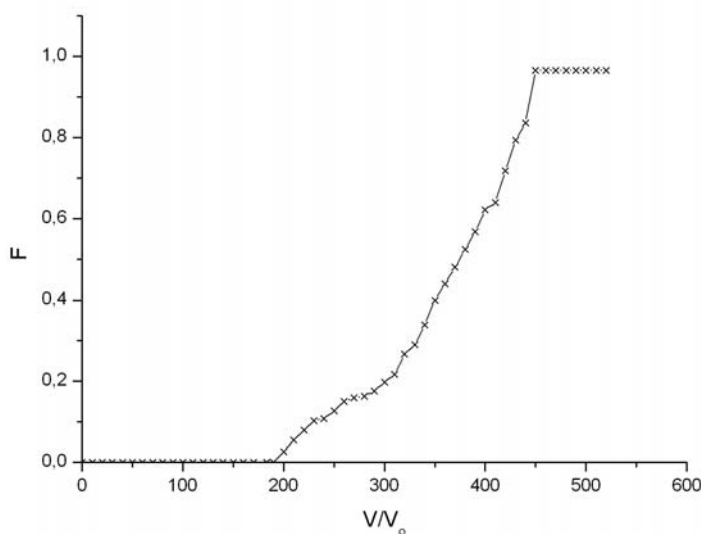


Рис. 3. Кривая сорбции этанала (2 цикл)

Полная емкость по этанолу во втором цикле уменьшается (табл. 2), что связано с неполной регенерацией анионита.

Таблица 2. Полные емкости по этанолу, определенные в динамических условиях

	Q, ммоль/г <sub>сух</sub>
1 цикл	0,44
2 цикл	0,27

\*концентрация модельного раствора альдегида 1,1 ммоль/л.

## Заключение

Таким образом, в ходе работы установлена эффективность сорбции этанола в динамических условиях. Рассмотрена возможность регенерации ионита и его повторного применения для извлечения альдегида из водно-спиртового раствора.

## Список литературы

1. Безруков Н.Е. Сорбция ацетальдегида анионитами / Н.Е. Безруков [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2003. – Т. 3, вып. 3. – С. 299-302.
2. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. – М.: Химия, 1976. – 208 с.
3. Мархол М. Ионообменники в аналитической химии : в 2 ч. / М. Мархол. – М. : Мир, 1985. – Ч. 1. – 264 с.
4. ГОСТ 5363 – 93, С. 25-27.
5. Самсонов Г.В. Ионный обмен. Сорбция органических веществ / Г.В. Самсонов, Е.Б. Тростянская, Г.Э. Елькин; АН СССР. Ин-т высокомолекулярных соединений. — Л.: Наука, 1969. — 335 с.
6. Необменное поглощение альдегидов анионитами / Е.Г. Буховец [и др.] // I Всероссийская конференция "Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах" ФАГРАН-2002, Воронеж, 11-15 нояб. 2002 г.: Материалы конф. — Б.м., 2002. — С. 427-428.

### **Dynamics of ethanale sorption and desorption by the anion-exchange resin-PA 511**

Voronyuk I.V., Eliseeva T.V., Peshkova E.A., Selemenev V.F.  
*Voronezh State university, Voronezh*

Dynamics of ethanale sorption and desorption by the anion-exchange resin PA 511 is studied. The possibility of sorbent partial regeneration is revealed. Regeneration is carried out by hydrochloric acid sol solution that leads to hydrolysis of imines that are formed in the resin phase during the stage of sorption.

*Ключевые слова: этаналь, сорбция, десорбция, ионообменник.*



543.544.5.

## Определение качественного состава коньячных изделий методом ВЭЖХ

Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ульянова Е.В.

*Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва*

### Аннотация

С использованием полученной ранее базы данных по индексам удерживания и ультрафиолетовым спектрам различных фенольных соединений проведено исследование и сравнение качественного состава разных сортов французских, грузинских, молдавского, украинского и российских коньяков. Определено соотношение сиреневого альдегида к ванилину во всех сортах коньяков. Обнаружены случаи фальсификации некоторых сортов

### Введение

В последние десятилетия в геометрической прогрессии увеличивается количество публикаций [1-8], посвященных исследованию природных антиоксидантов, в частности антиоксидантов фенольной и полифенольной природы. Этому способствуют уникальные свойства этих соединений, снижающих последствия стрессовых ситуаций современного мира и ухудшения экологической обстановки для организма человека.

Особенность и сложность исследования полифенольных антиоксидантов заключается в огромном многообразии их активных природных форм. Для успешного их детектирования, например, методом LC-MS, необходимо создание огромной базы данных по молекулярным массам бесчисленного количества природных производных фенольных соединений или, как вариант, детектирование соединений более доступным методом ВЭЖХ-ДАД и создание базы данных по индексам удерживания и спектральным соотношениям при разных длинах волн. В работе [9] нами было проведено исследование и показана возможность создания и применения подобной базы данных для анализа сложных смесей фенольных и полифенольных соединений (на примере экстрактов различных сортов хмеля) в условиях градиентного режима элюирования методом ВЭЖХ.

Известно [10], что коньяк имеет сложный физико-химический состав, причем в число основных его компонентов входит значительное количество фенольных и полифенольных соединений, которые обладают высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью. Для получения высококачественного коньяка из коньячного спирта, который представляет собой бесцветную жидкость с острым вкусом и запахом ацетальдегида и сивушных масел, его необходимо выдерживать в

течение многих лет в дубовых бочках. В процессе такой выдержки коньячный спирт приобретает ароматические и вкусовые достоинства, присущие высококачественному коньяку. В зависимости от продолжительности и способов выдержки коньячных спиртов коньяки классифицируют на ординарные, марочные и коллекционные. Согласно законодательству Международной Организации Виноделия и Виноградарства о контролируемых наименованиях по происхождению коньяком называют крепкие спиртные напитки из спирта, получаемого перегонкой виноградных вин, изготавливаемых в департаменте Шаранта во Франции. Напиток, получаемый по аналогичной технологии в России, для экспорта должен называться «бренди». Производством коньяка во Франции занимаются около 200 фирм и производителей. Наиболее крупными из них являются «Энесси», «Мартель», «Камю», «Курвуазье». По французским законам качество коньяка определяется возрастом самого молодого коньяка, использованного в купаже. Другие компоненты могут быть намного старше. Возраст конечного продукта определяется средним арифметическим из возрастов и количеств составляющих купажа. Первые образцы коньяков в России были получены в Грузии в середине 19 века. Во времена СССР вырабатывалось около 90 наименований коньяков. В настоящее время крупнейшими коньячными предприятиями в РФ являются Дербентский и Кизлярский коньячные заводы (Дагестан).

Одним из самых распространенных способов фальсификации коньяка является сокращение сроков выдержки до года и менее. Также распространена замена выдержанных марочных коньяков на ординарные. Подобные замены может выявить опытный эксперт-дегустатор или/и их можно обнаружить инструментальными методами. Возраст коньяков рекомендуется устанавливать по индексу возраста, соотношению сиреневого альдегида и ванилина, содержанию эфиров высших кислот. За индекс возраста принята интенсивность сиреневого альдегида, накопленного при выдержке коньячных спиртов. Чем длительнее выдержка, тем выше этот показатель. Для ординарных коньяков (бренди) область значений индекса возраста от 0 до 1, а для марочных и коллекционных – до 9. Соотношение сиреневый альдегид / ванилин складывается в процессе гидролиза и окисления экстрагированного из бочек лигнина. Его величина в натуральном коньяке (бренди) колеблется в пределах 2 – 4, т.е. в значительной степени преобладает сиреневый альдегид. Фальсификация ароматизацией ванилином (нарушающая эту пропорцию) выявляется с помощью ГХ-МС и ВЭЖХ [11].

В настоящей работе было интересно исследовать качественное содержание фенольных соединений и в частности соотношение сиреневого альдегида к ванилину в разных сортах отечественных и французских коньяков с использованием разработанного нами ранее способа идентификации с помощью индексов удерживания (ИУ) [9]. При исследовании коньяков были подобраны другие условия разделения в ступенчатом градиенте, чем использованные нами ранее для составления базы данных. Таким образом, коньячные изделия были выбраны в качестве модельных объектов для определения возможности вычисления их компонентов с использованием полученной нами ранее базы данных по ИУ и спектральным характеристикам фенольных соединений.

## **Эксперимент**

### *Материалы*

Для работы в качестве стандартных соединений были взяты представители разных групп фенольных соединений: простых производных бензола (Sigma), гидроксibenзойных и гидроксикоричных фенолокислот и альдегидов (препаративно выделенные и очищенные из растительного сырья в Грузинском сельскохозяйственном институте).

Для расчета значений индексов удерживания в качестве стандартов использовали гомологи- алкиларилкетоны – от ацетофенона до гептафенона (Тетра-Элсико, Россия).

В работе были использованы коньяки следующих сортов: Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний), Московский (Россия, 4-летний), Кутузов (Россия, 8-летний), Арна (Армения, 3-летний), Солнечный (Молдавия, 5-летний), Варцихе (Грузия, 7-летний), Греми (Грузия, 9-летний), Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний), Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний), Remy Martin Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний).

#### *Методы исследования*

В работе использовали жидкостный хроматограф Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, США) с градиентным насосом Agilent 1100 Series Quaternary Pump с инжектором Agilent 1100 Series Manual Injector с петлей-дозатором объемом 20 мкл, воздушным термостатом Agilent 1100 Series Thermostatted Column Compartment, с диодно-матричным детектором Agilent 1100 Series Diode Array and Multiple Wavelength Detectors и программным обеспечением обработки хроматографических данных Chemstation A.08.03 (Agilent Technologies, США). Хроматографические разделения проводили на колонке (100×2.1) мм с сорбентом Hypersil ODS (3 мкм) с использованием предколонки (20×2.1) мм с сорбентом Hypersil C18 (5 мкм). Пробу вводили стеклянным микрошприцем для ВЭЖХ Microliter Hamilton (Reno, США) объемом 10 мкл. В качестве подвижной фазы применяли элюенты: А – вода, В – ацетонитрил (AcCN), с добавлением в них до pH 3 фосфорной кислоты, режим элюирования градиентный: 0-2 мин – 5% AcCN, 2-25 мин – 5-100% AcCN, 25-32 мин – 100-5% AcCN, 32-37 мин – 5% AcCN, скорость элюента 300 мкл/мин. Колонку термостатировали при 25° С. Длина волны детектирования: 230 нм.

### **Обсуждение результатов**

В выбранных условиях хроматографического разделения были получены хроматограммы разных сортов коньяков. Для наглядности представлены хроматограммы в области времен выхода фенольных соединений, входящих в состав коньяков (рис.1– 10).

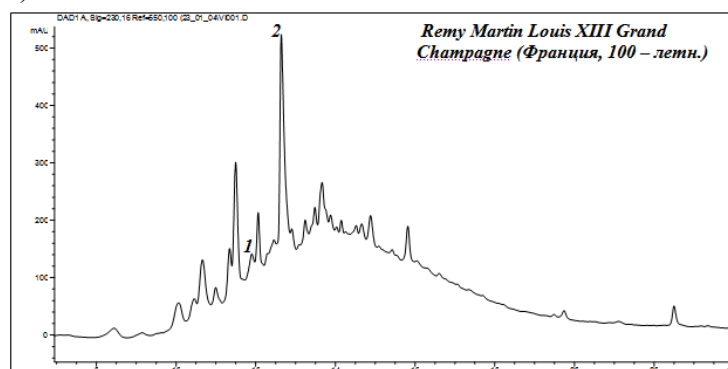


Рис. 1. Хроматограмма французского коньяка Remy Martin Louis XIII Grand Champagne

(1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

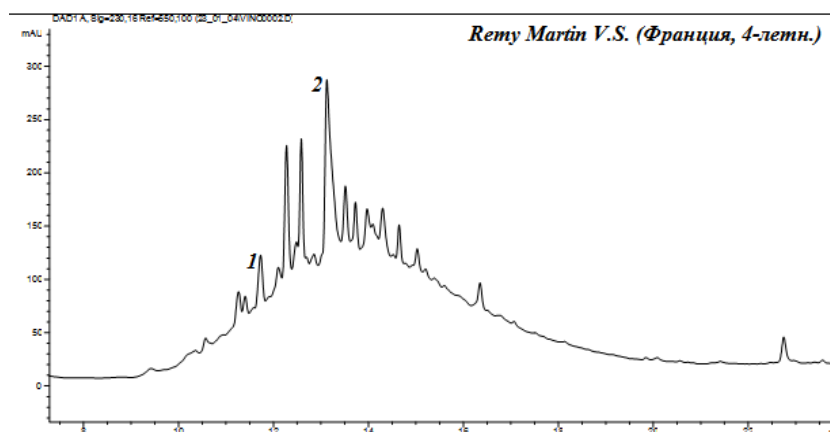


Рис. 2. Хроматограмма французского коньяка Remy Martin V.S. (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида)

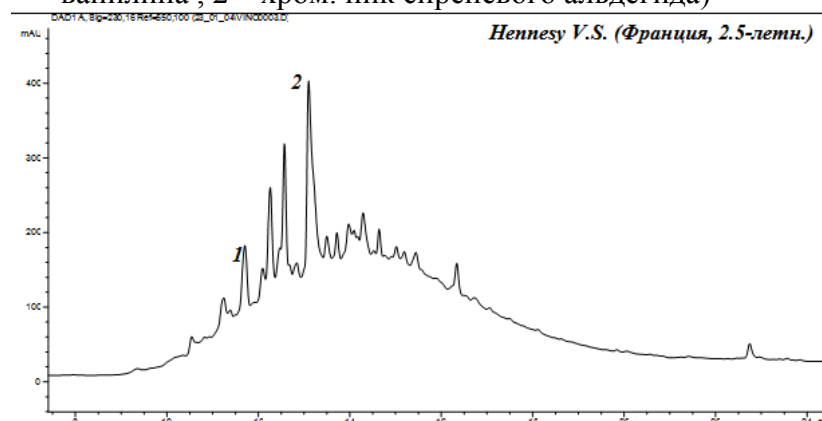


Рис. 3. Хроматограмма французского коньяка Hennessy V.S. (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

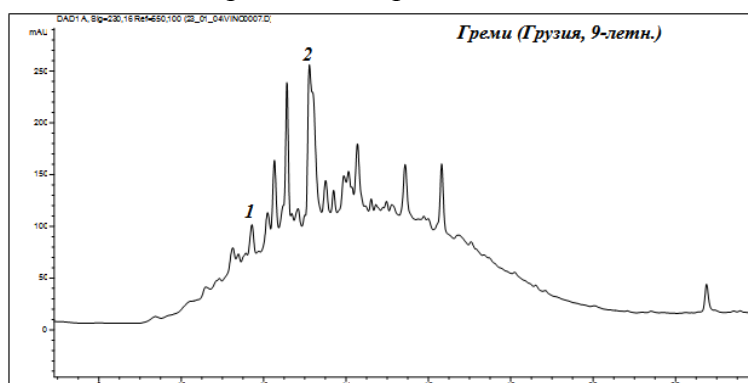


Рис. 4. Хроматограмма грузинского коньяка Греми (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

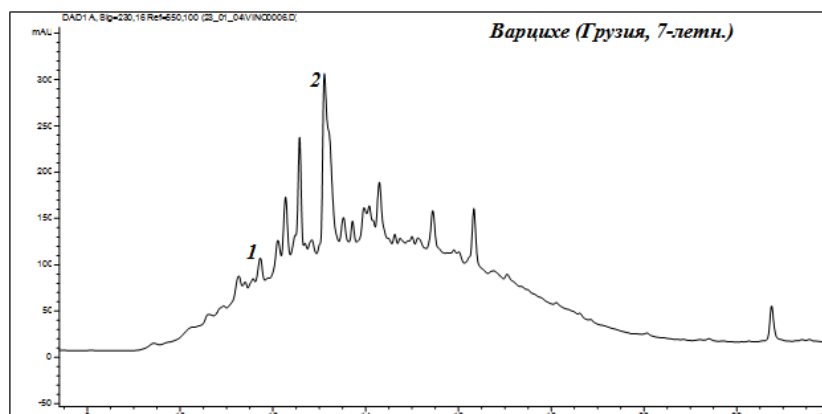


Рис. 5. Хроматограмма грузинского коньяка Варцихе (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида

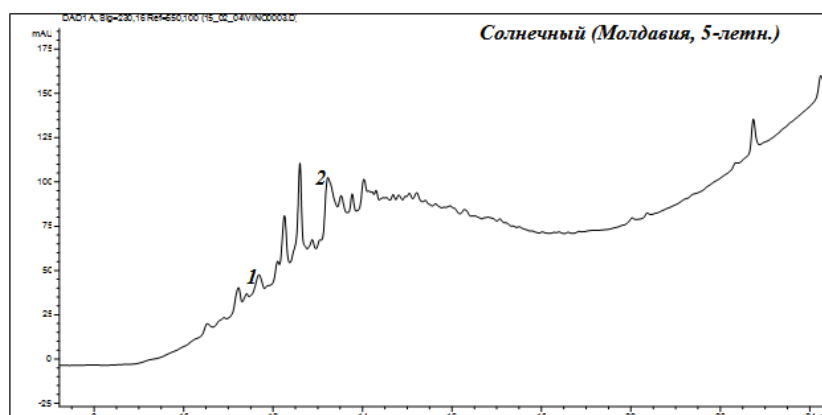


Рис. 6. Хроматограмма молдавского коньяка Солнечный (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида

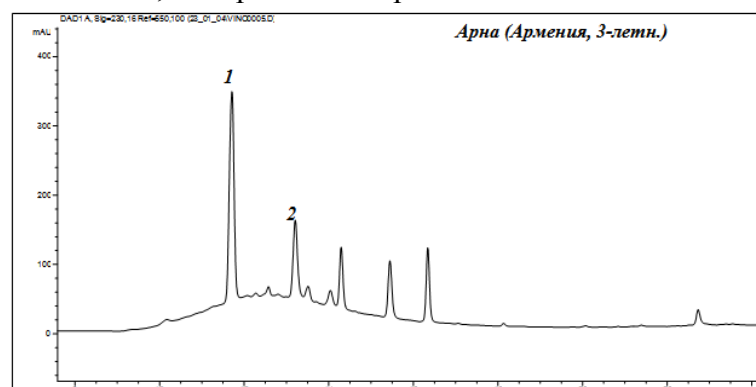


Рис. 7. Хроматограмма армянского коньяка Арна (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида



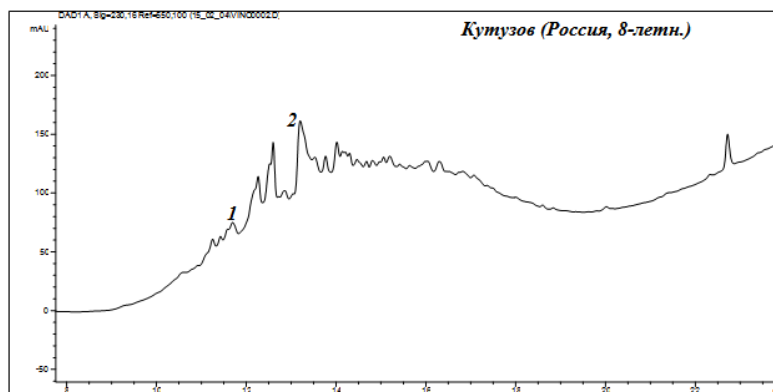


Рис. 8. Хроматограмма российского коньяка Кутузов (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида.



Рис. 9. Хроматограмма российского коньяка Московский (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида.

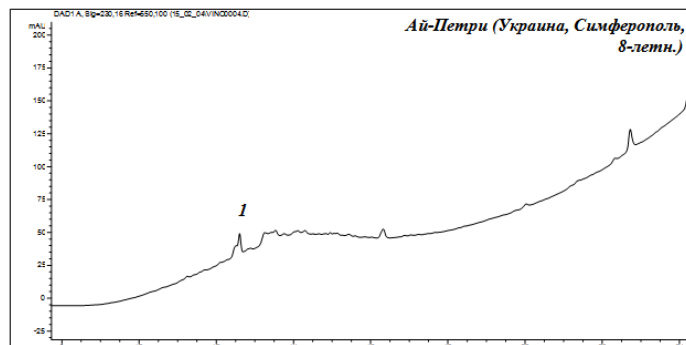


Рис. 10. Хроматограмма украинского коньяка Ай-Петри (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида.

Согласно разработанным способам вычисления [9], для ряда фенольных соединений были рассчитаны индексы удерживания (табл. 1). Результаты вычисления индексов удерживания соединений, обнаруженных в разных сортах коньяков, представлены в табл. 2. Сравнение индексов удерживания (табл. 1 и 2) и ультрафиолетовых спектров (табл. 3) фенольных соединений с аналогичными данными для соединений, входящих в состав разных сортов коньяков, показало присутствие во всех исследуемых сортах ванилина (за исключением сорта Ай-Петри), сиреневого альдегида, галловой кислоты. Возможность определения других хроматографических пиков фенольных соединений в разных сортах коньяков была ограничена имеющимся в наличие набором индивидуальных фенольных соединений в качестве образцов сравнения.

Таблица 1. Индексы удерживания (ИУ) ряда фенольных соединений

Фенольные соединения	ИУ	Фенольные соединения	ИУ
Ванилиновая кислота	636	Пропилгалат	762
Кофейная кислота	656	Пирогаллол	785
Сиреневая кислота	658	Кониферилловый спирт	791
Фенол	659	Морин	793
Катехин	660	Галловая кислота	803
Ванилин	696	Протокатеховая кислота	804
Рутин	704	Протокатеховый альдегид	805
Ацетованилон	705	Лютеолин	812
Резвератрол	715	Коричная кислота	826
Цис-феруловая кислота	718	Пеларгонидин	843
Транс-феруловая кислота	726	Нарингин	850
Сиреневый альдегид	733	Коричный спирт	853
Бензойная кислота	745	о-ксилол	860

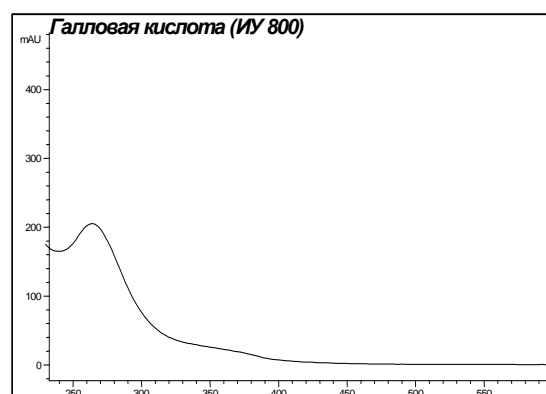
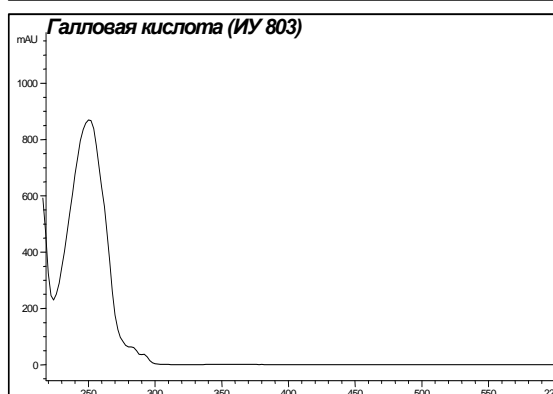
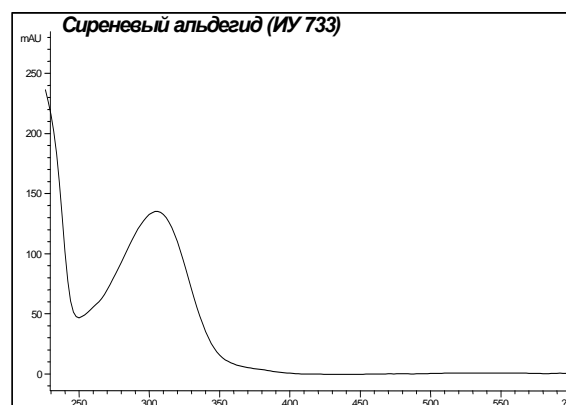
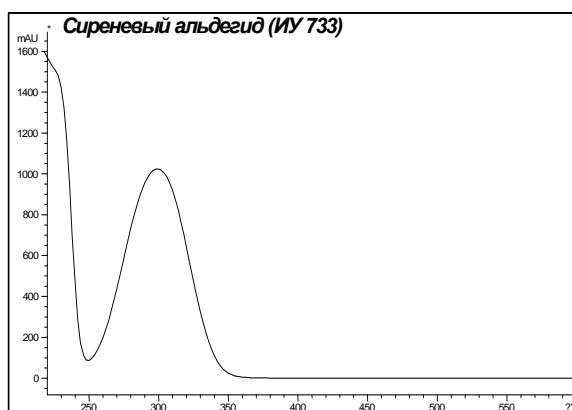
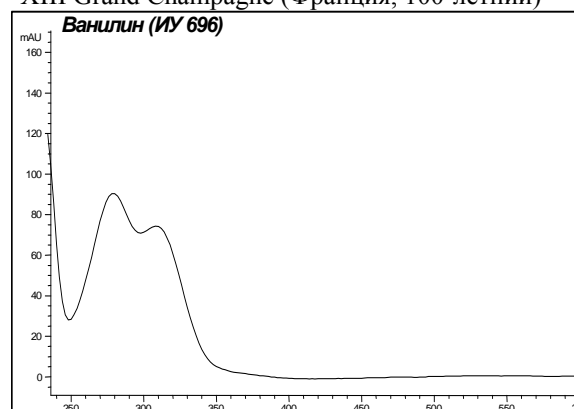
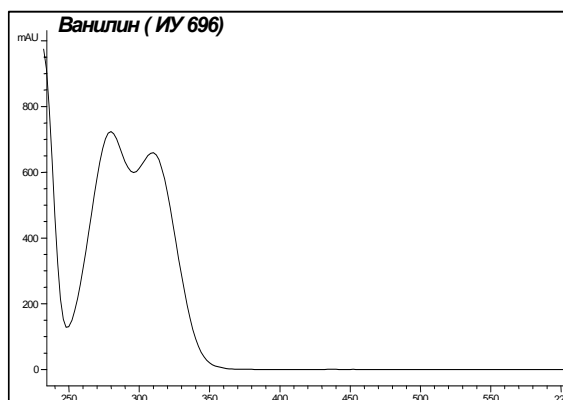
Таблица 2. Индексы удерживания соединений, обнаруженных в разных сортах коньяков

Remy Martin Louis XIII Grand Cham pagne (Фран ция, 100- летн.)	Rem у Mart п V.S. (Фра нция, 4- летн ий)	Hen esy V.S. (Фра нция, 2.5- летни й)	Греми (Грузия, 9- летний)	Варц ихе (Груз ия, 7- летни й)	Солнеч ный (Молда вия, 5- летний )	Арна (Арме ния, 3- летний )	Куруз ов (Росс ия, 8- летни й)	Москов ский (Россия , 4- летний)	Ай-Петри (Украина, Симферо ль, 8- летний)
<b>ИНДЕКСЫ УДЕРЖИВАНИЯ</b>									
625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
646	642	-	-	-	646	633	-	-	-
654	650	650	650	650	-	-	650	-	-
667	-	-	667	667	663	-	-	-	-
679	679	675	675	675	675	-	679	679	679
688	683	-	692	692	683	-	683	-	-
696	696	696	696	696	696	696	696	696	-
713	713	713	713	713	713	-	-	-	708
729	721	721	721	721	721	-	721	-	-
733	733	733	733	733	733	733	733	733	733
-	746	742	742	742	746	-	746	-	-
758	754	754	754	758	758	758	758	763	763
771	771	771	771	771	771	771	771	771	775
779	779	779	779	779	783	-	783	779	-
790	792	792	792	792	792	792	792	792	796
800	803	803	803	803	803	803	803	803	803
810	810	-	-	-	-	-	810	-	-
817	814	814	814	814	817	-	817	-	-
825	828	832	828	828	821	-	828	828	-
-	-	836	836	836	836	-	836	-	-
845	845	845	845	845	845	849	845	845	845
862	853	867	867	871	871	-	867	-	853
871	885	885	885	885	885	885	885	885	885
900	-	905	905	910	915	-	910	-	-
937	926	926	921	926	926	-	926	-	-
959	948	948	-	-	948	-	942	-	-
1070	-	982	982	982	976	982	976	-	-
1083	1096	1096	1012	1018	1012	-	1012	-	-
1180	1110	1110	1103	1110	1103	1110	1103	1103	1103

1285	1301	1301	1301	1309	1309	1301	1301	1301	1301
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Таблица 3. Сравнение УФ-спектров и ИУ для индивидуальных фенольных соединений и соединений, обнаруженных в коньяках, на примере сорта Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний)

УФ – спектры и ИУ индивидуальных фенольных соединений



На основании полученных данных было сделано следующее заключение. Наилучшим качеством обладал Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний) – соотношение составило 3.4. Неплохими по выдержке являлись грузинские коньяки Греми (Грузия, 9-летний) и Варцихе (Грузия, 7-летний) и молдавский Солнечный (Молдавия, 5-летний). Гораздо худшими оказались российские Московский (Россия, 4-летний) и Кутузов (Россия, 8-летний) и французские Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний) и Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний). Причем неважное качество последних, вероятно, в данном случае связано с их фальсификацией, а не с

недостатками самих коньяков. В случае Арна (Армения, 3-летний) и Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний) обнаружены явные случаи фальсификации.

Таблица 4. Сравнение соотношения сиреневого альдегида и ванилина в разных сортах коньячных изделий

Названия сортов коньячных изделий	Соотношения площадей пиков сиреневого альдегида/ ванилина (в %)	Названия сортов коньячных изделий	Соотношения площадей пиков сиреневого альдегида/ ванилина (в %)
Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний)	6179 / 1826 = 3.4	Солнечный (Молдавия, 5-летний)	1122 / 529 = 2.1
Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний)	2033 / 1625 = 1.3	Арна (Армения, 3-летний)	783 / 4422 = 0.2
Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний)	2859 / 2399 = 1.2	Кутузов (Россия, 8-летний)	1819 / 1014 = 1.8
Греми (Грузия, 9-летний)	2320 / 1006 = 2.3	Московский (Россия, 4-летний)	1913 / 1166 = 1.6
Варцихе (Грузия, 7-летний)	2488 / 1079 = 2.3	Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний)	706 / *

\* - В данном сорте коньяка не представлялось возможным вычислить соотношение сиреневого альдегида к ванилину, поскольку не был обнаружен хроматографический пик ванилина.

## Заключение

Показана возможность применения полученной нами ранее базы данных по индексам удерживания и спектральным характеристикам фенольных соединений для качественного определения фенольных соединений в коньячных изделиях.

Проведено сравнение разных сортов французских, грузинских, украинского и российских коньяков. Определено соотношение сиреневого альдегида к ванилину и на основании этого выявлены явные случаи фальсификации некоторых сортов.

## Список литературы

1. Morrisey P.A., O'Brien K.M. Dietary antioxidants in Health and Disease. Int. Dairy Journal. 1998. V.8. P.463-472.
2. Saija A., Scalese M., Lanza M., Marzullo D., Ronina F., Castelli F. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. Free Rad. Biology & Medicine. 1995. V.19. N.4. P.481-486.

3. Shui G., Leong L.P. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by HPLC. *J. Chromatogr. A*. 2002. V.977. N.1. P.89-96.
4. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganda G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*. 1996. V.20. N.7. P.933-956.
5. Perez-Magarino S., Revilla I., Gonzalez-SanJose M.L., Beltran S. Various applications of LC-MS to the analysis of phenolic compounds. *J. Chromatogr. A*. 1999. V.847. P.75-81.
6. Canali,R., Ambra,R., Stelitano,C., Mattivi,F., Scaccini,C., Virgili,F. A novel model to study the biological effects of red wine at the molecular level. *British Journal of Nutrition*. 2007. V. 97. N. 6 . P. 1053-1058.
7. Shui G., Leong L.P. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2004. V. 1022. N. 1-2. P. 67-75.
8. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных соединений фенольной и полифенольной природы в различных объектах методами хроматографии. *Успехи химии*. 2007. Т. 76. N. 1. С. 88–100.
9. Зенкевич И.Г., Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Индексы удерживания как наиболее воспроизводимые хроматографические параметры для характеристики фенольных соединений в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Журн. аналит. химии*. 2005. Т. 60. N. 7. С. 734-746.
10. Скурихин. И.М. Химия коньячного производства. 1968. Пищевая промышленность. Москва. С. 383.
11. Экспертиза напитков. Под общ. ред. проф. Поздняковского. В.М. 1999. Изд. Новосибирского университета. Новосибирск. С. 385.

### **The investigation of qualytative composition of cognacs by HPLC**

Kochetova M.V.<sup>1</sup>, Larionov O.G.<sup>1</sup>, Ulyanova E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow

The investigation of qualytative composition of different kinds of French cognacs and Georgian, Moldovian, Ukrainian and Russian brandies has been developed using obtained earlier database of retention indexes and ultraviolet spectra of phenolic compounds. The ratio of vaniline to syringic aldehyde has been obtained for all investigated kinds of cognacs and brandies. It has been found out a number of cases of falsification of some kinds of cognacs and brandies.

*Ключевые слова: коньячные изделия, ВЭЖХ, сиреневый альдегид, ванилин.*



УДК 544.723, 543.544

## **Адсорбция среднемолекулярных пептидов на силикагеле**

Крюкова Е.Г.

*ОАО «Авангард», Санкт-Петербург*

Меленевская Е.Ю

*Институт Высокмолекулярных соединений РАН, Институт Высокмолекулярных соединений РАН*

Новиков А.В., Подосенова Н.Г.

*Институт Аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург*

Шаронова Л.В.

*Физико-технический институт им. А.Ф.Иоффе РАН, Санкт-Петербург*

---

### **Аннотация**

Представлены спектры оптического поглощения и масс-спектры растворов среднемолекулярных пептидов (СМП) ишемического происхождения до и после их контакта с силикагелями, модифицированными фуллереном C<sub>60</sub>. На основании спектров оптического поглощения выявлено влияние молекул фуллерена и метода их введения в структуру силикагеля на его адсорбционные свойства по отношению к СМП. Из анализа масс-спектров установлено, что при адсорбции из раствора удаляются фракции СМП с массами 900-1000Да. Анализ оптических и масс-спектров десорбированных с силикагеля СМП выявил необратимое связывание части СМП, при этом масс-спектр СМП содержит только одну группу пиков в области масс менее 200Да. Сделан вывод, что присутствие фуллерена в структуре силикагеля приводит к образованию новых активных центров адсорбции СМП, которые обладают реакционной способностью и необратимо связывают СМП с адсорбентом

---

### **Введение**

Получение новых органических и неорганических фуллеренсодержащих нанокмозитов с использованием уникальных свойств фуллерена вызывает значительный интерес ученых и специалистов разных областей, так как открывает ряд перспектив при решении задач оптики, фотоэлектрохимии и др. Предметом наших исследований на протяжении последних 10 лет было изучение адсорбции атерогенных компонент плазмы крови [1-3] силикагелями, модифицированными молекулами фуллерена C<sub>60</sub>. Была выявлена высокая специфичность такого адсорбента по отношению к атерогенным липопротеидам низкой плотности, что

---

позволило рекомендовать его как средство профилактики и лечения атеросклероза методом эфферентной терапии. В настоящее время продолжены подобные исследования адсорбционных свойств силикагеля в присутствии молекул фуллерена по отношению к среднемолекулярным пептидам (СМП) плазмы крови, выделяемым организмом при острых ишемических состояниях миокарда.

Среднемолекулярные пептиды, являясь продуктами распада белков, действуют как вторичные эндотоксины, вызывают угнетение и расстройство различных физиологических процессов. С целью использовать принцип эфферентной терапии при лечении данной патологии был получен адсорбент путем введения молекул фуллерена в силикагель «твердофазным» методом [4]. Этот метод принципиально отличается от использованного нами ранее [1] при получении адсорбента, селективного по отношению к атерогенным липопротеидам низкой плотности. Первые экспериментальные результаты исследования адсорбционных свойств нового адсорбента по отношению к СМП плазмы крови ишемического происхождения были описаны в [5]. Высокая емкость адсорбента позволила рекомендовать его как средство удаления этих токсинов из организма больного разной степени ишемии методом эфферентной терапии. В данной работе представлены экспериментальные результаты, характеризующие адсорбционные свойства силикагеля по отношению к СМП, молекулярно-массовое распределение СМП и изменение состава СМП в процессе адсорбции и десорбции с адсорбента в зависимости от метода введения фуллерена в его структуру. Эти исследования направлены на изучение механизма формирования специфических адсорбционных свойств силикагеля в присутствии фуллерена, определения значения молекул фуллерена при образовании активных центров адсорбции по отношению к СМП ишемического происхождения

### **Материалы и методы исследования**

В работе использован аморфный силикагель КСК, диаметр пор 100 нм, удельная поверхность 150 м<sup>2</sup>/г, общий объем пор 0.89 см<sup>3</sup>/г. Использовался фуллерен фирмы «Фуллереновые технологии», классификация С<sub>60</sub> - 99.5 % по массе.

Были использованы следующие два метода введения фуллерена в структуру силикагеля. Метод «твердофазного» введения фуллерена в силикагель (образец 104) включал процедуру растирания силикагеля в присутствии молекул С<sub>60</sub> на магнитной мешалке в цельнопаянной колбе, вакуумирование до остаточного давления 10<sup>-6</sup> мм рт.ст. и прогрев при температурах в области 150 – 200<sup>0</sup>С в течение 5 – 7 ч. Метод «жидкофазного» введения фуллерена в пористую структуру силикагеля (образец 103) был ранее разработан нами и описан в [1]. Он включал пропитку зерен силикагеля раствором фуллерена в орто-дихлорбензоле (одхб) (массовая концентрация 1%), испарение растворителя в вакуумной камере при 50<sup>0</sup>С с последующим длительным промыванием водой и этиловым спиртом, сушку в термостате при 150<sup>0</sup>С. Методы введения фуллерена в силикагель, принятые в работе, не используют никаких химических компонент для прививки и закрепления их в силикагеле. Главное отличие этих методов состоит в режимах процесса приготовления, которые обеспечивают различное взаимодействие фуллерена с поверхностью силикагеля. При «твердофазном» методе механическое растирание фуллерена в условиях вакуума сопровождается ковалентным взаимодействием молекул фуллерена с силикагелем и обеспечивает прочное связывание, которое не может быть разрушено даже «хорошим» растворителем фуллерена (например, одхб)

и нагреванием. При «жидкофазном» методе закрепление молекул фуллерена в структуре силикагеля носит донорно-акцепторный характер, инициированный ароматическим растворителем. Растворитель, как показано в [2], изменяет характер распределения электронной плотности в цепях силоксановых связей, длину связей Si-O и межтетраэдрические углы Si-O-Si и, таким образом, химическую природу и микроструктуру поверхности SiO<sub>2</sub>. Как было установлено, оптический спектр десорбированного из силикагеля фуллерена совпадает со спектром исходного, что указывает на физический характер взаимодействия C<sub>60</sub> с поверхностью силикагеля.

Исследовались СМП, выделенные из плазмы крови мужчины 60 лет с ишемической болезнью сердца: инсульт. Кровь забирали утром натощак спустя 14 ч после последнего приема пищи. Выделение СМП из плазмы крови осуществляли осаждением крупномолекулярных белков плазмы крови метанолом при объемном соотношении метанола и нативной плазмы крови 3:1 [6,7]. СМП растворяли в стандартном изотоническом растворе натрия хлорида pH 7.4.

Определение адсорбционных свойств силикагелей проводили в статических условиях с использованием стеклянных пробирок вместимостью 10 мл, в которые к 500 мг сухого силикагеля добавляли 2 мл раствора СМП в стандартном изотоническом растворе натрия хлорида pH 7.4. Содержимое в пробирках (адсорбент и раствор СМП) перемешивали в течение 30 мин. После этого растворы центрифугировали, отбирали растворы СМП над адсорбентом и определяли концентрацию СМП в растворе после его контакта с адсорбентом. Для десорбции СМП с адсорбента последний дважды промывали изотоническим раствором (10мл), заливали щелочным раствором N=0.3 моль/л (5 мл) и перемешивали. Отбор проб над адсорбентом для определения концентрации десорбированных СМП проводили через 30 мин.

Сравнение состава пула СМП в приготовленном растворе до адсорбции, после контакта раствора с адсорбентом и в растворе, полученном в результате процедуры десорбции на образцах силикагеля осуществляли методом оптической спектроскопии. Регистрация спектров поглощения растворов СМП в области длин волн 200-700 нм проводилась на спектрофотометре СФ2000 с разрешением 4нм в идентичных условиях с использованием кювет одинаковой геометрии.

Для того же набора растворов исследовался состав пула СМП методом масс-спектрометрии. Регистрация масс-спектров проводилась на масс-спектрометре МХ5303, оборудованном электрораспылительным источником ионизации (electrospray ionization, ESI) и время-пролетным масс-анализатором (TOF), состыкованным с микроколоночным хроматографом «МилиХром А-02» («Эконова», Новосибирск). Хроматографическая колонка размером 2x75мм заполнена сорбентом Prontosil 120-5C18AQ. Элюцию осуществляли градиентом концентрации ацетонитрила от 2 до 100% (по объему) в растворе 0.25% муравьиной кислоты со скоростью 150мкл/мин.

### **Спектры оптического поглощения и масс-спектры**

Спектры оптического поглощения растворов СМП после контакта с каждым из адсорбентов в течение 30мин и растворов СМП, десорбированных с силикагелей, приведены на рис. 1-3 в сравнении со спектром исходного раствора. Относительные концентрации СМП были рассчитаны как площади под соответствующими спектрами:  $S_{ост}$ ,  $S_{дес}$ ,  $S_{исх}$  соответственно. Кроме того, были вычислены разности



спектров исходного раствора СМП и остаточного после адсорбции и площади этих разностных спектров  $S_{\text{разн}}$ , характеризующие концентрацию СМП, необратимо связанных с адсорбентом. Разностные спектры также приведены на рис.2 и 3. Далее рассчитывались следующие параметры адсорбции: коэффициент элиминирования  $K_{\text{эл}} = [(S_{\text{исх}} - S_{\text{ост}}) = S_{\text{разн}}] / S_{\text{исх}}$ , коэффициент десорбции  $K_{\text{дес}} = S_{\text{дес}} / S_{\text{исх}}$  и доля СМП, связанных с адсорбентом,  $W_{\text{связ}} = (S_{\text{разн}} - S_{\text{дес}}) / S_{\text{исх}}$ . Значения всех параметров приведены в таблице.

Таблица 1. Характеристики адсорбции СМП на образцах силикагеля, модифицированного фуллереном

Адсорбент	$K_{\text{эл}}$	$K_{\text{дес}}$	$W_{\text{связ}}$
Стандартный силикагель	0.15	-	-
103- «жидкофазный» метод	0.73	0.26	0.47
104- «твердофазный» метод	0.80	0.53	0.27

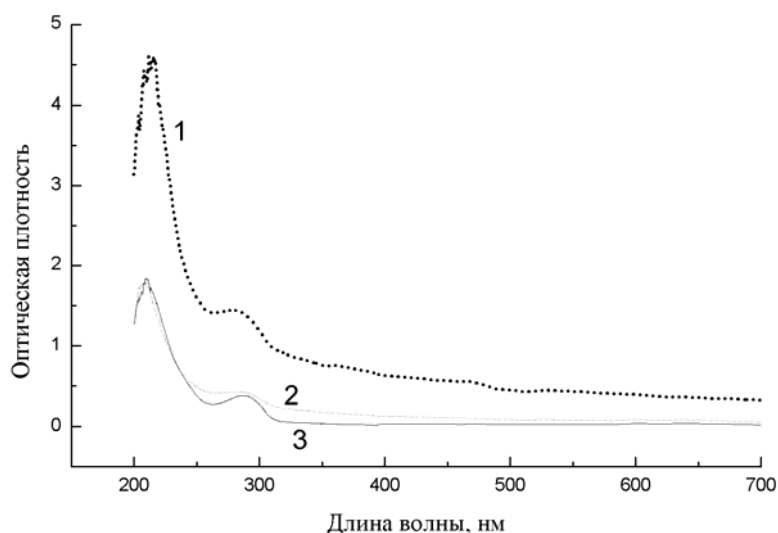


Рис. 1. Спектры оптического поглощения - адсорбция: 1 - исходный раствор СМП; 2 - после адсорбции на образце 103, 3 – после адсорбции на образце 104

Предварительно была проведена серия экспериментов по оценке адсорбционных характеристик не модифицированного силикагеля. Эксперименты показали, что в этом случае  $K_{\text{эл}}$  СМП лежит в интервале 0.10-0.20. В таблице приводится среднее значение  $K_{\text{эл}}=0.15$ .

Из рис.1 видно, что контакт исходного раствора СМП с адсорбентами 103 и 104 приводит к изменению формы оптических спектров и уменьшает их интегральные площади, т.е. при адсорбции в обоих случаях происходит удаление некоторой существенной доли СМП из раствора. Спектры растворов после контакта с адсорбентом содержат информацию о составе пула СМП, который предполагается после окончания акта плазмсорбции возвращать больному. Различия разностных спектров и спектров десорбции (рис. 2, 3) показывают, что при обоих использованных методах приготовления адсорбента (103 и 104) десорбция не позволяет смыть все связанные с адсорбентом СМП.

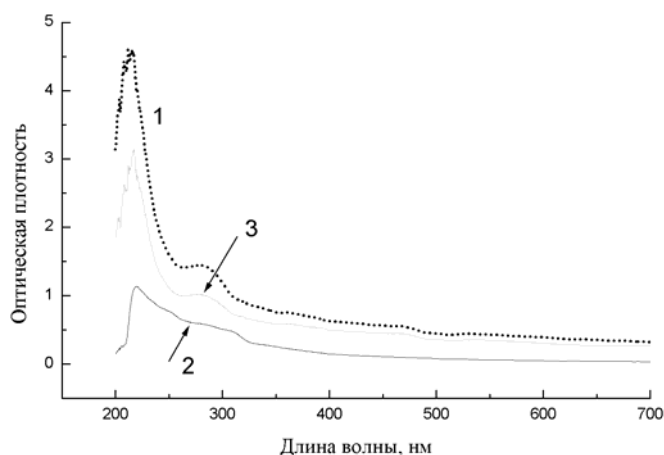


Рис.2. Спектры оптического поглощения – десорбция на образце 103: 1 - исходный раствор СМП, 2 - раствор десорбированных СМП. 3 – разность спектра исходного СМП и спектра адсорбции (см. рис.1)

Из таблицы видно, что наибольшее значение  $K_{эд}$  имеет адсорбент, полученный при твердофазном методе введения фуллерена (образец 104), а наименьшие имеет исходный силикагель (в отсутствие фуллерена). Таким образом, спектры, приведенные на рис.1, и данные таблицы, выявляют влияние фуллерена на адсорбционные свойства силикагеля по отношению к СМП, обусловленное образованием новых активных центров. В то же время существенное различие значений  $K_{дес}$  и  $W_{связ}$  позволяет предположить, что механизм адсорбционного связывания СМП с силикагелем в присутствии молекул  $C_{60}$  носит не только физический, но и химический характер, т.е. активными центрами адсорбции СМП являются реакционно-способные группы на поверхности силикагеля в присутствии фуллерена. При этом сосуществование физикоадсорбции и хемоадсорбции СМП приводит к увеличению адсорбционной емкости силикагеля. Наибольшие значения  $K_{дес}$  и  $W_{связ}$  наблюдаются на адсорбенте, приготовленном «твердофазным» методом. Аналогичные данные были получены нами ранее при исследовании структуры молекул липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), десорбированных с силикагеля, модифицированного молекулами  $C_{60}$  [3]. Исследование структуры десорбированных ЛПНП методом флуориметрии обнаружило присутствие в них перекисных продуктов (прочно связанных с силикагелем), которое было обусловлено окислением ЛПНП по свободно-радикальному механизму.

На рис. 4 сопоставлены масс-спектры исходного раствора СМП и после его контакта с адсорбентом. В спектре исходного СМП (рис. 4 а) можно выделить 3 группы пиков с массами в области до 280Да, 500-550Да и 990-1050Да. Наибольший интерес представляет третья группа пиков, поскольку, как было показано в работе [8], при наличии в плазме крови пациентов высокой концентрации пептидов с массами 800-1000Д возрастает тяжесть клинического течения ишемической болезни сердца. Согласно [8], их содержание зависело от степени поражения коронарного бассейна и коррелировало с тяжестью клинического состояния, обусловленного перенесенным инфарктом миокарда, и присоединением гипертонической болезни. Масс-спектр СМП после его адсорбции на образце 104 (рис. 4 б) содержит 3 группы пиков с массами 400—440Да, 500-600Да и 760-840Да, а СМП с массами 800-1000Д

оказались связанными с адсорбентом. Таким образом, в результате адсорбции на образце 104 наблюдается существенное изменение массового состава СМП.

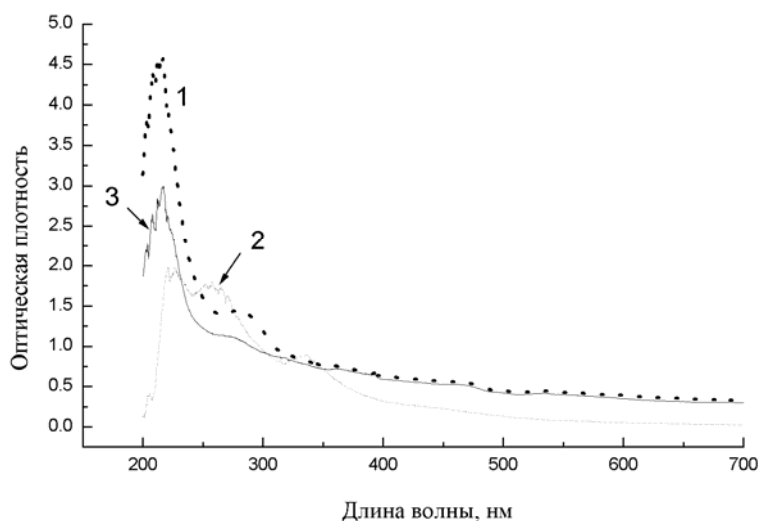


Рис.3. Спектры оптического поглощения – десорбция на образце 104: 1 - исходный раствор СМП, 2 - раствор десорбированных СМП, 3 – разность спектра исходного СМП и спектра адсорбции (см. рис.1)

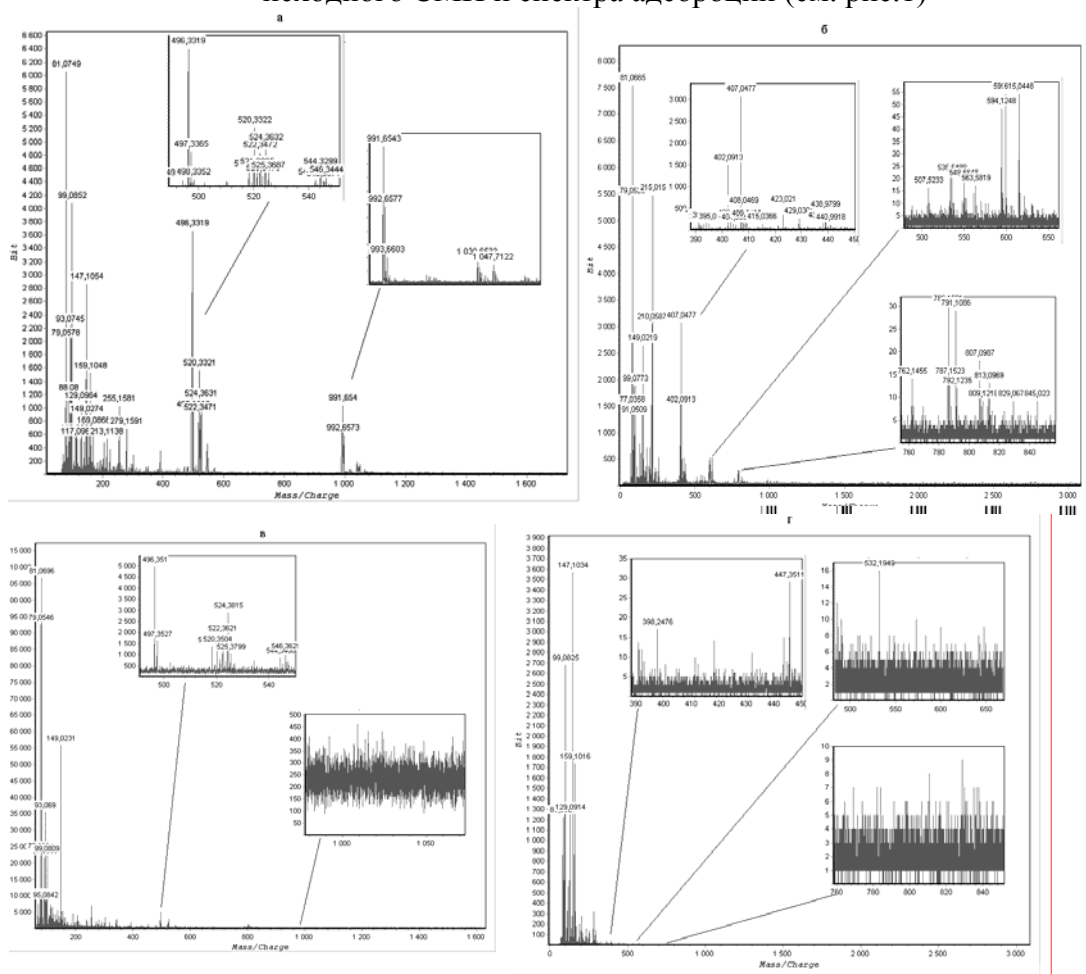


Рис.4. Масс-спектры растворов СМП: исходный (а), после адсорбции на адсорбенте 104 (б), после десорбции с адсорбента 103(в) и с адсорбента 104(г)

Таким образом, совокупность полученных результатов показывает, что присутствие фуллерена приводит к образованию новых активных центров селективной адсорбции СМП.

Масс-спектры СМП, десорбированных с образцов силикагеля 103 и 104, представлены на рис. 4, с,d. Видно, десорбция с образца силикагеля 103 и 104 дает только одну группу пиков. Из этого следует, что все СМП с массами выше 500 Да адсорбируются необратимо. Этот результат также подтверждает вывод о хемосорбционном механизме связывания СМП с адсорбентом, который был сделан выше при анализе оптических спектров растворов СМП, и позволяет предполагать, что именно присутствие фуллерена в структуре силикагеля приводит к образованию новых реакционно-способных центров. Таким образом, силикагель при введении в него фуллерена «твердофазным» и «жидкофазным» методами приобретает каталитические свойства, которые определяют адсорбционную емкость и селективность такой структуры по отношению к СМП с массами 800-1000Д.

Природа активных центров силикагеля, реакционно-способных по отношению к СМП, определяется химическими свойствами функциональных групп самих молекул. Как хорошо известно, пептиды представляют собой цепь, на одном конце которой находится аминогруппа, проявляющая кислотные свойства, а на другом – карбоксильная группа, проявляющая основные свойства. Значимость этих групп в связывании СМП с адсорбентом зависит от рН среды и от функциональных групп, присутствующих на поверхности адсорбента. Как хорошо известно [9 -12], в исходном силикагеле активными центрами являются гидроксильные группы силанольных групп и адсорбционно-связанной воды. Отсутствие адсорбции СМП на стандартном силикагеле обусловлено низкой реакционной способностью вышеперечисленных групп по отношению к молекулам пептидов. Поэтому наблюдаемую значительную хемоадсорбцию СМП адсорбентами 103 и 104 из растворов с рН = 7.4 можно связать с присутствием молекул фуллерена на поверхности силикагеля. Однотипный вывод был сделан в [13-16] при исследовании адсорбции белков разной кислотности и основности с использованием в качестве адсорбента силикагеля с иммобилизованным первичными аминами на его поверхности фуллереном.

При иммобилизации фуллерена на поверхности силикагеля с использованием первичных аминов, согласно данным [17], наблюдается образование комбинированной поверхности силикагеля. Она содержит иммобилизованные молекулы фуллерена и первичные амины – не модифицированные фуллереном участки поверхности. Сохранение аминогрупп на поверхности силикагеля не позволило авторам [17] реализовать уникальные свойства фуллерена. В результате механизм адсорбции на таком адсорбенте будет определяться числом аминогрупп и молекул фуллеренов, что привело к отсутствию селективности таких адсорбентов. В нашем случае использованные методы введения фуллерена в структуру силикагеля **позволяют получать** однородный адсорбент и отнести адсорбционную емкость и селективность полностью к присутствию фуллерена. Это является главным преимуществом развитых методов.

## Выводы

1. Выявлено влияние молекул фуллерена и метода их введения в структуру силикагеля на его адсорбционные емкость и селективность по отношению к СМП

ишемического происхождения. Наибольшей адсорбционной емкостью и селективностью обладает образец 104, полученный «твердофазным» методом.

2. Установлено, что механизм адсорбционного связывания СМП с адсорбентами носит не только физический, но и химический характер. Наибольшее значение необратимое связывание СМП приобретает при «твердофазном» введении фуллерена в силикагель.

3. Химическая составляющая адсорбции обусловлена присутствием самих молекул фуллерена, которые выступают по отношению к СМП ишемического происхождения в качестве реакционно-способных групп и необратимо связывают пептиды с массой 800-1000Д.

### Список литературы

1. Подосенова Н.Г., Седов В.М., Андожская Ю.С., Кузнецов А.С. //Журн. физич. химии. – 1997.- Т.71, №8.- С.1459.
2. Подосенова Н.Г., Седов В.М., Шаронова, Л.В, Дричко Н.В //Журн. физич. химии. 2001. Т. 75. № 11. С.2037.
3. Седов В.М., Подосенова Н.Г., Кузнецов А.С.. //Кинетика и катализ. 2002. Т.43. № 1. С.61.
4. Ратникова О.В., Тарасова Э.В., Меленевская Е.Ю., Згонник В.Н., Барановская И.А., Кленин С.И.// Высокомол. соед. А 2004, т.46, №7, с.1211-1216.
5. Галль Л.Н., Подосенова Н.Г., Меленевская Е.Ю., Романенко С.М., Шаронова Л.В., Крюкова Е.Г.. //Эфферентная терапия 2007, №3, с.19-22.
6. Малахова М.Я., Соломенков А.В., Беляков Н.А. Владыка А.С. //Лаб.дело. 1987, №3, С.224.
7. Галактионов А.Г., Цейтин В.М., Леонова В.И.// Биоорганическая химия. 1984. Т.1. №10. С.5.
8. Э.Э.Кузнецова, В.Г.Леонтьева, И.Б.Рудных, А.А.Рунович, Т.Е.Курильская, А.А.Файтельсон, Н.П.Мишарина, А.В.Зуев //Эндогенная интоксикация. Тезисы Международного Симпозиума. 1994г. 14-16 июня, С.Петербург. С. 74. . 9. Киселев А.В. //Успехи химии. 1956. Т.25. №6. Р. 705.
10. Айлер Химия кремнезема М.:Мир, 1982. Т.2. С.857.
11. Ласкорин Б.Н. Сорбенты на основе силикагеля в радиохимии. М: Атомиздат. 1977. 300с.
12. Игнатьева Л.А., Квилидзе В.И., Киселев В.Ф.// В сб. «Связанная вода в дисперсных системах» вып. 1, М: МГУ, 1970, С.56 Слесарев В.И. Основы химии живого. Спб: Химиздат 2001. с.552.
13. Taylor R., Walton D.R.M.//Nature. (L.). 1993. V.363. P.685.
14. Davydov V.Ya., Filatova G.N., Khohlova T.D.//Mol.Mat. 1998. V.10. P.125.
15. Nagashima H., Terasaki H., Saito Y. et al. //J. Org. Chem. 1995. V.60. P.4966.
16. Saito Y., Ohta H., Terasaki H. et al. //J. High Resol. Chromatography. 1995. V.19. P.569.
17. Давыдов В.Я., Хохлова Т.Д. //Журн. физ. хим. 200. Т.74. №7. С.1292.

**Adsorption of medium-molecular-mass peptides on silica gel**

Kryukova E.G.\* Melenevskaya E.Yu.\*\*, Novikov A.V.\*\*\*, Podosenova N.G.\*\*\*,  
Sharonova L.V.\*\*\*\*

\* *OAO "Avangard"*

\*\* *Institute of Macromolecular Compounds, RAS, St. Petersburg*

\*\*\* *Institute for Analytical Instrumentation, RAS, St. Petersburg*

\*\*\*\* *Ioffe Physico-Technical Institute, RAS, St. Petersburg*

Optical absorption spectra and mass-spectra are presented for solutions of ischemia-origin medium-molecular-mass peptides before and after their contact with silica gels modified with fullerene. Based on optical absorption spectra, the effect of fullerene molecules and technique of their introduction into silica gel structure on its adsorption properties in relation to medium-molecular-mass peptides was revealed. From the mass-spectra it was found that peptide fractions with masses 900-1000 Da were removed from solutions at adsorption. The analysis of optical and mass-spectra of desorbed from silica gel medium-molecular-mass peptides revealed irreversible binding of a portion of medium-molecular-mass peptides, with the mass spectrum contained only one group of peaks in the mass range below 200 Da. It was concluded, that presence of fullerene in the silica gel structure led to appearance of new active centers of medium-molecular-mass peptides adsorption those had reactive capacity and irreversible bound peptides to adsorbent.

*Ключевые слова к обеим статьям: адсорбция, десорбция, пептиды, фуллерен*



УДК 544.723, 543.544

## **Влияние режима термической подготовки силикагеля на его адсорбционные свойства по отношению к молекулам средней массы**

Меленевская Е.Ю

*Институт Высокмолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург*

Новиков А.В., Подосенова Н.Г.

*Институт Аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург*

Шаронова Л.В.

*Физико-технический институт им. А.Ф.Иоффе РАН, Санкт-Петербург*

---

### **Аннотация**

Представлены спектры оптического поглощения и масс-спектры растворов среднемолекулярных пептидов (СМП) ишемического происхождения до и после их контакта с силикагелями, прошедшими термическую подготовку в режимах, близких к условиям стерилизации. Анализ спектров оптического поглощения показал, что используемые режимы термической подготовки исходного силикагеля приводят к увеличению его адсорбционной емкости по отношению именно к СМП ишемического происхождения. Из анализа масс-спектров установлено, что в результате контакта с адсорбентом из раствора были удалены фракции с массами 900-1000 Да. Показано, что эти фракции связаны с адсорбентом необратимо и не могут быть десорбированы щелочным раствором. Наблюдаемые принципиальные изменения массового состава СМП ишемического происхождения выявили, что использованная термическая подготовка силикагеля приводит к образованию новых адсорбционных центров, которые обладают реакционной способностью по отношению именно к фракции СМП ишемического происхождения и селективно связывают их с адсорбентом

---

### **Введение**

В настоящее время установлено, что характер адсорбционных процессов на силикагеле по отношению к молекулам средней массы (СМП) изменяется в присутствии на его поверхности молекул фуллерена [1]. Интерес к этим процессам по отношению к СМП был обусловлен тем, что они являются продуктами протеолиза белков, имеют строение, близкое к регуляторным пептидам и могут оказывать влияние, согласно [2,3], на жизнедеятельность всех систем и органов. Из-за многообразия вызываемых этими веществами патофизиологических изменений на молекулярном, клеточном и системном уровнях в организме к ним применимы основные критерии токсичности. Из существующих методов снижения

---

концентрации СМП в плазме крови особый интерес представляют сорбционные технологии [4], которые позволяют, используя метод плазмсорбции, избирательно удалять специфические субстанции, имеющие непосредственное отношение к развитию патологического процесса. Однако эффективность такого подхода определяется наличием высокоемкого и высокоселективного адсорбента, направленного на адсорбцию определенных СМП. Известно, что адсорбционные свойства силикагелей определяются наличием на их поверхности гидроксильных групп, протондонорных и электроноакцепторных центров, механизм действия которых был изучен с помощью спектральных методов [5-7]. Их соотношение и значимость в процессе адсорбции зависят от режима термической подготовки силикагеля, которая может привести к радикальным изменениям свойств поверхности силикагеля. В данной работе для варьирования адсорбционных свойств силикагелей по отношению к СМП были использованы температурные режимы, близкие к условиям стерилизации.

### Эксперимент

В работе использован аморфный силикагель *КСК*, диаметр пор 100 нм, удельная поверхность 150 м<sup>2</sup>/г, общий объем пор 0.89 мл/г. Термическую подготовку силикагеля проводили в соответствии со следующими схемами: образец 1 - выдержка в вакууме 10<sup>-3</sup> мм рт.ст., 4 ч при 650 °С; образец 2 - кипячение при 100 °С в воде 24 ч. Исследованы СМП плазмы крови мужчины 60 лет с ишемической болезнью сердца: инсульт. Кровь забирали утром натощак спустя 14 ч после последнего приема пищи.

Выделение СМП из плазмы крови осуществляли осаждением крупномолекулярных белков плазмы крови метанолом при объемном соотношении метанола и нативной плазмы крови 3:1 [8]. СМП растворяли в стандартном изотоническом растворе натрия хлорида рН 7.4.

Определение адсорбционных свойств силикагелей проводили в статических условиях с использованием стеклянных пробирок вместимостью 10 мл, в которые к 500 мг сухого силикагеля добавляли 2 мл приготовленного раствора СМП, и все перемешивали в течение 30 мин. После этого растворы центрифугировали, отбирали растворы СМП над адсорбентом для определения остаточных концентраций СМП в растворе. Для десорбции СМП с адсорбента последний дважды промывали изотоническим раствором (10мл), заливали щелочным раствором N=0.3 моль/л (5 мл) и перемешивали. Отбор проб над адсорбентом для определения концентрации десорбированных СМП проводили через 30 мин.

Исследования состава пула СМП в растворах до и после адсорбции и десорбции выполнены методом оптической спектроскопии и масс-спектрометрии.

Регистрация спектров оптического поглощения растворов СМП в области длин волн 200-700нм проводилась на спектрофотометре СФ2000 с разрешением 4нм в идентичных условиях с использованием кювет одинаковой геометрии. Относительные концентрации СМП были рассчитаны как площади под спектрами исходного раствора ( $S_{исх}$ ), остаточного ( $S_{ост}$ ) и после десорбции ( $S_{дес}$ ). Кроме того, были рассчитаны разностные спектры и их площади  $S_{разн}$ , характеризующие концентрацию СМП, необратимо связанных с адсорбентом. С использованием этих данных были рассчитаны следующие параметры адсорбции: коэффициент элиминирования  $K_{эл} = [(S_{исх} - S_{ост}) = S_{разн}] / S_{исх}$ , коэффициент десорбции  $K_{дес} = S_{дес} / S_{исх}$  и доля СМП, связанных с адсорбентом,  $W_{связ} = (S_{разн} - S_{дес}) / S_{исх}$ .



Регистрация масс- спектров проводилась на масс-спектрометре MX5303, оборудованном электрораспылительным источником ионизации (electrospray ionization, ESI) и время-пролетным масс-анализатором (TOF), состыкованным с микроколоночным хроматографом «МилиХром А-02» («Эконова», Новосибирск). Хроматографическая колонка размером 2x75мм заполнена сорбентом Prontosil 120-5C18AQ. Элюцию осуществляли градиентом концентрации ацетонитрила от 2 до 100% (по объему) в растворе 0.25% муравьиной кислоты со скоростью 150мкл/мин.

## Результаты и их обсуждение

На рис.1 для каждого образца адсорбента приведены спектры поглощения остаточных растворов СМП после адсорбции в сравнении с исходным раствором. Видно, что в спектре исходного пула СМП и СМП после контакта с адсорбентами разрешаются 2 полосы поглощения: в области 203-205нм и в области 280нм. Соотношение их при адсорбции практически не изменяется. В таблице приведены значения  $K_{эл}$ , рассчитанные по вышеприведенному соотношению. Видно, что образцы адсорбентов 1 и 2 имеют высокие значения  $K_{эл}$ , большие 0.5. Это позволяет рекомендовать их к применению в эфферентной терапии для выведения СМП из плазмы крови. В то же время  $K_{эл}$  исходного силикагеля, не прошедшего выше описанную термическую подготовку, имеет низкое значение, равное 0.15. Таким образом, из спектров рис.1 и данных таблицы можно заключить, что оба использованных термических режима подготовки силикагеля приводят к увеличению адсорбционной емкости по отношению к СМП.

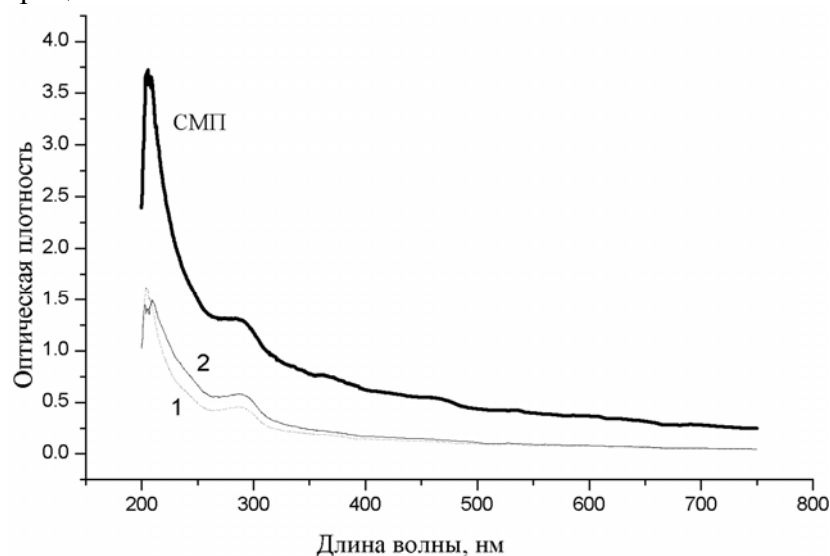


Рис.1. Спектры оптического поглощения – адсорбция: СМП – исходный раствор, 1- остаточный раствор после контакта с адсорбентом 1, 2- остаточный раствор после контакта с адсорбентом 2

На рис. 2, 3 приведены спектры десорбированных СМП соответственно с адсорбентов 1 и 2, и они сравниваются с разностными спектрами. Разностные спектры характеризуют состав СМП, который можно было бы наблюдать экспериментально в случае отсутствия химического взаимодействия между адсорбентом и СМП. Для обоих адсорбентов видно существенное различие спектров как по форме, так и по площади, т.е. по концентрации СМП.

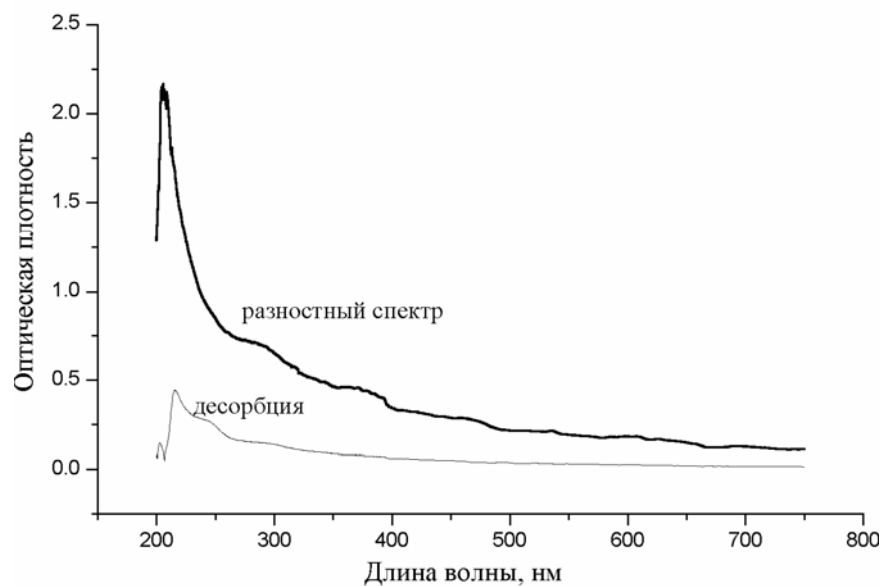


Рис. 2. Спектр десорбированных СМП 1 и разностный спектр для адсорбента 1

В таблице приведены значения  $K_{\text{дес}}$ , характеризующие степень десорбции СМП с адсорбента, и  $W_{\text{связ}}$ , характеризующие долю СМП, химически прочно связанных с адсорбентом. Эти два параметра рассчитаны по экспериментальным данным рис. 1-3. Малые значения  $K_{\text{дес}}$ , так же как и различия значений  $K_{\text{дес}}$  и  $W_{\text{связ}}$ , указывают на частичную десорбцию СМП с силикагеля, обусловленную прочным связыванием СМП на силикагеле. При этом наименьшее значение  $K_{\text{дес}}$  и наибольшее  $W_{\text{связ}}$  наблюдаются при гидротермальном прогреве силикагеля.

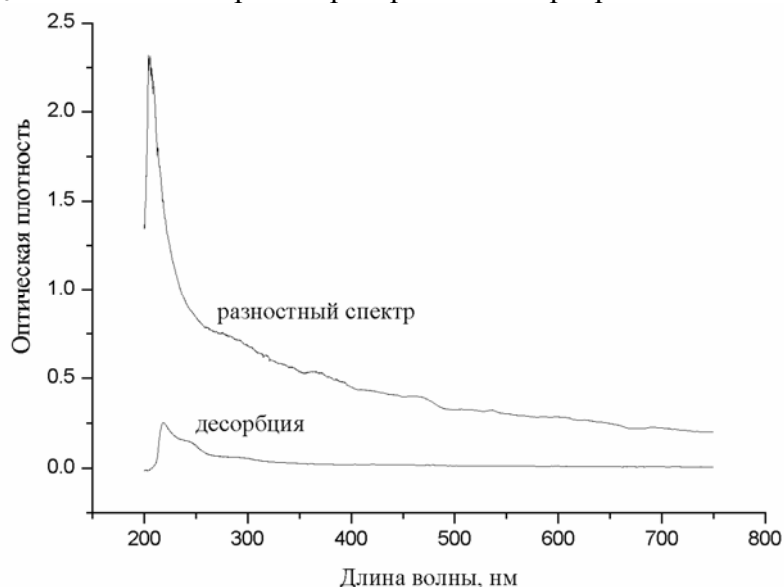


Рис. 3. Спектр десорбированных СМП 1 и разностный спектр для адсорбента 2

На рис. 4-6 приведены масс-спектры раствора СМП до и после его контакта с образцами адсорбентов 1 и 2. В спектре исходного СМП (рис.4) присутствуют группы полос с массами в областях 271Да, 500-546Да, и 990-1047Да. После адсорбции на силикагелях 1 и 2 (рис.5,а, ба) сохраняется только 2 группы пиков, с массами 213-255, 512-806Да. В то же время пики с массами, большими 992 Да

отсутствуют в масс-спектрах после адсорбции. Таким образом, в результате контакта СМП с адсорбентами происходят значительные изменения массового состава СМП: появляются фракции, которые отсутствовали в исходных СМП, и исчезают фракции с большими массами, которые присутствовали в исходных СМП.

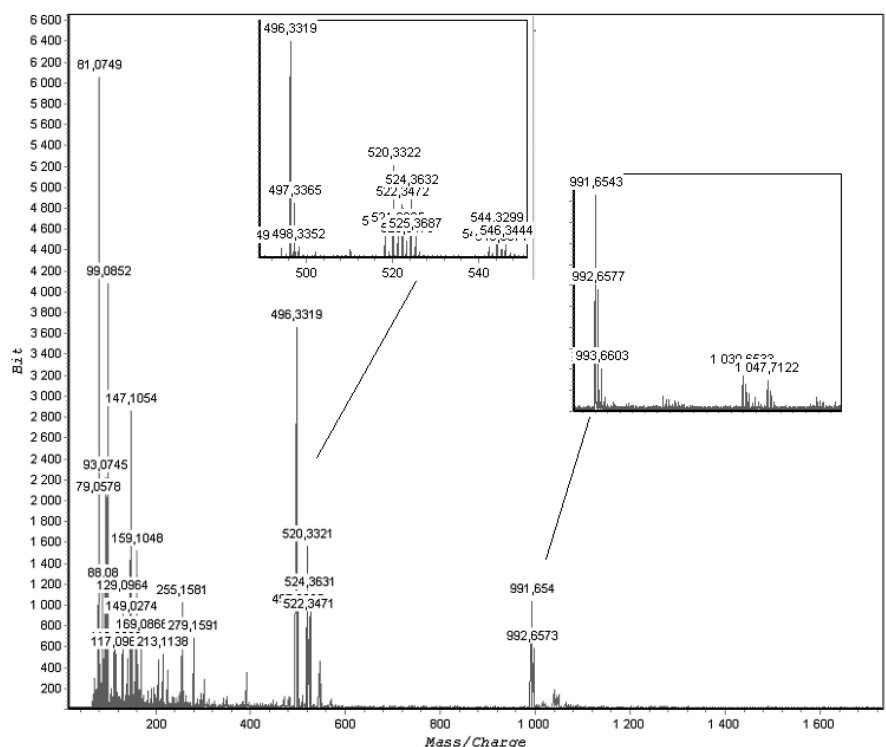


Рис.4. Масс-спектр исходного раствора СМП

Согласно работе [9], при наличии в плазме крови пациентов высокого уровня пептидов с массой 800-1000Д возрастает тяжесть клинического течения ишемической болезни сердца. Их содержание зависит от степени поражения коронарного бассейна и коррелирует с тяжестью клинического состояния, обусловленного перенесенным инфарктом миокарда или гипертонической болезнью. Термическая подготовка силикагеля обеспечивает удаление из пула СМП именно эти тяжелые пептиды.

Масс- спектры образцов СМП после их десорбции с адсорбентов 1 и 2 представлены на рис. 5,в, 6,в. Видно, что массовый состав десорбированных СМП в обоих случаях содержит только 2 группы пиков: 234-271 и 512-610Да. Это позволяет сделать вывод, что все СМП с массами выше 780Да адсорбируются необратимо. Этот результат подтверждает вывод о хемосорбционном механизме связывания СМП с адсорбентом, сделанный выше при анализе оптических спектров, и позволяет предполагать, что термическая подготовка силикагеля в условиях, близких к стерилизации, приводит к образованию новых реакционно-способных центров. Эти центры определяют адсорбционную емкость и селективность такого адсорбента по отношению к СМП с массами 800-1000Да.

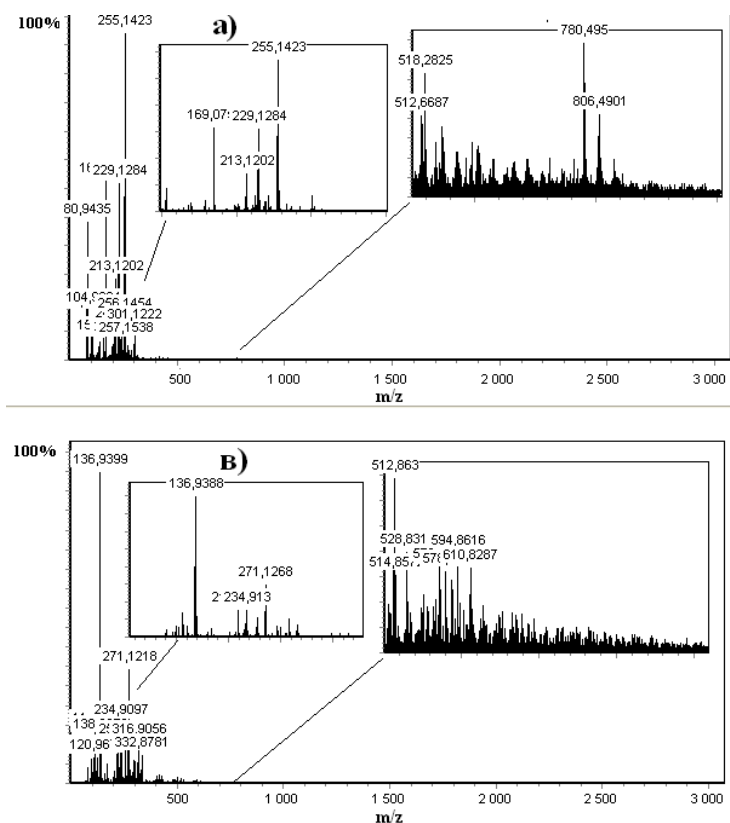


Рис. 5. Масс-спектры растворов СМП после адсорбции (а) и десорбции (в) – силикагель 1

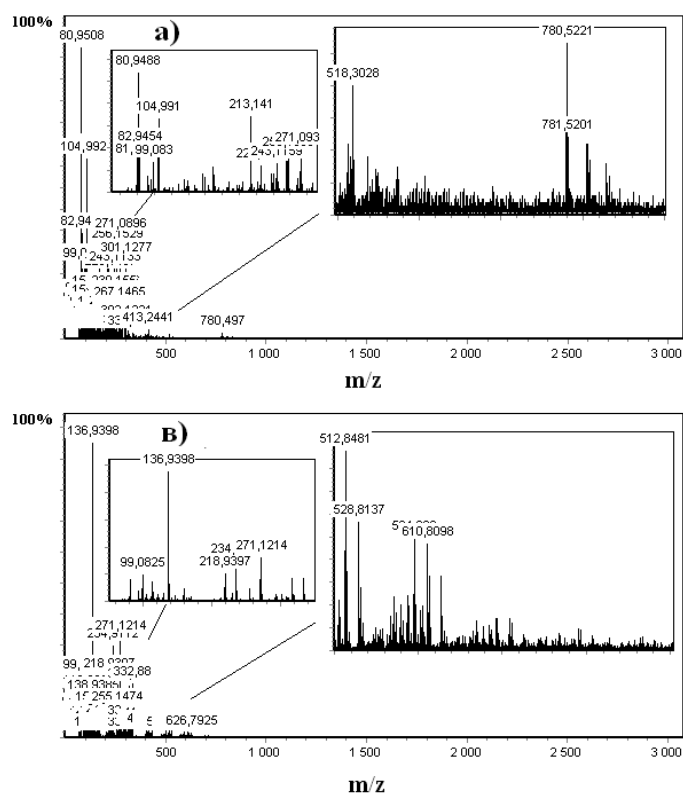


Рис.6. Масс-спектры растворов СМП после адсорбции (а) и десорбции (в) – силикагель 2

Аналогичные данные были нами ранее получены при исследовании адсорбционных свойств силикагеля по отношению к СМП в присутствии молекул фуллерена [1]. Было показано, что механизм взаимодействия СМП с силикагелем в присутствии фуллерена, приводящий к образованию прочных связей СМП и силикагеля, носит ярко выраженный химический характер. Термическая подготовка силикагеля также приводит к образованию новых реакционных центров. При этом параметрами, определяющими зависимость коэффициентов десорбции СМП и доли их связывания от режимов термической подготовки силикагелей, могут быть природа и число центров взаимодействия силикагеля с СМП.

Природа активных центров силикагеля, реакционно-способных по отношению к СМП, определяется химическими свойствами функциональных групп поверхности силикагеля и СМП. Пептиды содержат на одном конце аминогруппу, проявляющую основные свойства, а на другом – карбоксильную группу, проявляющую кислотные свойства. Значимость этих групп в связывании СМП с адсорбентом зависит от рН среды и от функциональных групп, присутствующих на поверхности адсорбента. Как хорошо известно, адсорбционными центрами на поверхности силикагеля являются гидроксильные группы силанольных групп и адсорбционно-связанной воды. Исследованные образцы силикагеля в зависимости от способов их термической подготовки, согласно [5-7], различаются по содержанию воды, адсорбированной порами и связанной с функциональными группами силикагеля, и по содержанию свободных силанольных групп на его поверхности. Так, концентрация адсорбированной воды при термическом прогреве в вакууме при 100 °С составляет 1.05 ммоль/г SiO<sub>2</sub>, и при 650 °С

Таблица 1. Характеристики адсорбции СМП разными адсорбентами

Адсорбент	Подготовка силикагеля	K <sub>эл</sub>	K <sub>дес</sub>	W <sub>связ</sub>
Исходный силикагель		0.15		
Силикагель 1	Термическое прогревание	0.54	0.1	0.43
Силикагель 2	Гидротермальное прогревание	0.65	0.04	0.6

0 ммоль/г SiO<sub>2</sub>, в то время как при кипячении силикагеля в воде при 100 °С (гидротермальная подготовка) она составляет 2.7 ммоль/ г SiO<sub>2</sub>. В свою очередь, концентрация свободных силанольных групп изменяется незначительно. Так, при термическом прогреве в вакууме при 650 °С она составляет 0.316 OH / г SiO<sub>2</sub>, а при гидротермальном режиме при 100 °С 0.375 OH / г SiO<sub>2</sub>. Так как концентрация силанольных групп незначительно зависит от режима термической подготовки, то их присутствие в адсорбенте 1 определяет нижнюю границу значений K<sub>эл</sub>. Верхняя граница значений K<sub>эл</sub> определяется присутствием адсорбированной воды. Таким образом, различие значений K<sub>эл</sub> и K<sub>дес</sub>, приведенных в таблице, обусловлено присутствием протонодонорных центров, концентрация которых заметно убывает при термическом прогреве силикагеля при 650 °С. Основными центрами, определяющими адсорбцию СМП на таком силикагеле, полученном при гидротермальной подготовке исходного силикагеля, является адсорбционно-связанная вода, инициирующая кислотно-основной механизм специфического взаимодействия СМП с силикагелем. Прочность связывания СМП с поверхностью, имеющей гидратную оболочку, согласно [6], зависит от строения СМП.

Наибольшая наблюдается для СМП, содержащих сильнополярные кислотные группы, способные образовать со структурными элементами поверхностного слоя силикагеля прочные адсорбционные комплексы, которые не могут быть разрушены щелочью.

### Заключение

Таким образом, на основании оптических измерений выявлено, что адсорбционная емкость силикагеля по отношению к СМП ишемического происхождения может быть увеличена путем термической подготовки.

На основании масс-спектров растворов СМП сделан вывод о существенных изменениях массового состава СМП при адсорбции: удаление высокомолекулярных фракций СМП с массами 780-1047 Да. Полученные результаты показывают, что связывание СМП с силикагелем имеет не только физический, но и химический характер.

### Список литературы

1. Галль Л.Н., Подосенова Н.Г., Меленевская Е.Ю., Романенко С.М., Шаронова Л.В., Крюкова Е.Г. Влияние фуллерена на адсорбционные свойства силикагеля по отношению к среднемолекулярным пептидам. // Эфферентная терапия 2007, №3, с.19-22.
2. Малахова М.Я. Методы биохимической регистрации эндогенной интоксикации. // Эфферентная терапия, 1995, т.1, №1, с.61-63
3. Галактионов А.Г., Цейтин В.М., Леонова В.И. и др. Пептиды группы «средних молекул». // Биоорганическая химия, 1984 т.1, №10, с.5-17.
4. Лопаткин Н.А. Лопухин Ю.М. // Эфферентные методы в медицине, Москва, Медицина, 1989, с.91
5. Айлер Р. // Химия кремнезема, М., Мир, 1982, т.2, с.857-901.
6. Чуйко А.А. Кремнеземы в медицине и биологии. // Сб. научных трудов под ред. Акад. АН Украины А.А. Чуйко. Киев-Ставрополь, 1993, с. 4-41
7. Соболев В.А., Чуйко А.А., Тертых В.А., Машенко В.М., Исследование связанной воды на поверхности аэросила методом количественной инфракрасной спектроскопии // Сб. Связанная вода в дисперсных системах, 1974, МГУ, вып.3, с.62-72.
8. Малахова М.Я., Соломенков А.В., Беляков Н.А. Определение фракции молекул средней массы в сыворотке крови осаждением белков ТХУ и ультрафильтрацией. // Лаб. дело, 1987, №3, с.224—226.
9. Э.Э. Кузнецова, В.Г. Леонтьева, И.Б. Рудных, А.А. Рунович, Т.Е. Курильская, А.А. Файтельсон, Н.П. Мишарина, А.В. Зуев // Эндогенная интоксикация. Тезисы Международного Симпозиума. 1994г. 14-16 июня, С.Петербург. С. 74.

---

**Influence of thermal treatment of silica gel on its adsorption properties with respect to medium-molecular-mass peptides**

Melenevskaya E.Yu.\* , Novikov A.V.\*\* , Podosenova N.G.\*\* ,  
Sharonova L.V.\*\*\*

\* *Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences*

\*\* *Institute for Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences*

\*\*\**Ioffe Physico-Technical Institute, Russian Academy of Sciences*

Optical absorption spectra and mass-spectra are presented for solutions of ischemia-origin medium-molecular-mass peptides before and after their contact with silica gels subjected to thermal preparation in regimes similar to sterilization conditions. The optical absorption spectra analysis shown that the initial silica gel thermal treatment regimes in use led to increase of adsorption capacity with respect to medium-molecular-mass peptides of ischemia origin, namely. From the mass-spectra analysis was found that, as a result of medium-molecular-mass peptides and adsorbent contact, fractions with masses 900-1000Da were removed from the solution. It was shown that these fractions were bound with the adsorbent irreversible and could not be desorbed with alkaline solution. Fundamental changes of mass-content of ischemia-origin medium-molecular-mass peptides revealed that thermal preparation of silica gel led to formation of new active centers of medium-molecular-mass peptides adsorption those have reactive capacity with respect to medium-molecular-mass peptides of ischemia origin, namely, and irreversible bound those to adsorbent.

*Ключевые слова: адсорбция, десорбция, пептиды, фуллерен*



УДК 543.831:547.466

## Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров

### Сообщение 1. Анализ лекарственных препаратов, содержащих глицин

Жиброва Ю.А., Зяблов А.Н., Щеглова Н.А.,  
Красникова О.П., Селеменев В.Ф.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

#### Аннотация

Методом пьезокварцевого микровзвешивания исследованы растворы лекарственного препарата «Глицин». В данном сообщении проведен анализ модельных растворов глицина и растворов лекарственного препарата пьезокварцевыми сенсорами с немодифицированной поверхностью и построены градуировочные графики.

#### Введение

Сфера производства и обращения медицинской продукции является одним из элементов, обеспечивающих национальную безопасность России. Одной из важнейших задач является обеспечение качества лекарственных препаратов на стадии производства [1].

В аналитической практике постоянно ведется интенсивная разработка различных автоматизированных систем анализа, которые используются для оперативной обработки данных. К таким системам относятся химические и биологические сенсоры, с применением которых происходит анализ низкомолекулярных и высокомолекулярных компонентов в разных средах [2, 3]. Поскольку в настоящее время наблюдается масштабное использование аминокислот в медицине, фармацевтической, пищевой промышленности получение аминокислот в чистом виде и контроль их качества являются важными практическими задачами, решение которых возможно с использованием экспресс методов.

#### Эксперимент

В качестве объекта исследования был взят лекарственный препарат «Глицин» (регистрационный номер Р №001450/01-2002) в виде таблеток, содержащий – 0.1 г глицина и вспомогательных веществ: магния стеарата и метилцеллюлозы водорастворимой. После предварительного измельчения готовили серию растворов с концентрациями  $10^{-1}$  –  $10^{-5}$  М.

Исходный модельный раствор глицина (марка «чда», фирма «Diam», Испания) с концентрацией 0.1 М готовился по навеске, взятой на аналитических весах. Затем методом



последовательного разбавления получали серию растворов в диапазоне концентраций  $10^{-2}$  –  $10^{-5}$  М.

При выполнении эксперимента использовали пьезоэлектрические кварцевые резонаторы АТ-среза (угол  $35^{\circ}25'$ ) с серебряными электродами диаметром 5 мм и толщиной 0.3 мм (производство ОАО «Пьезокварц», Москва) с номинальной резонансной частотой 2.5 МГц. Относительный сдвиг частоты  $\Delta f$  вычисляли по уравнению:

$$\Delta f = f_1 - f_2$$

где  $f_1$  – частота колебания сенсора в воде, МГц,  $f_2$  – частота колебания сенсора в растворе, МГц.

Эксперимент проводили при температуре  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Измерения выполняли, переходя от разбавленных растворов к более концентрированным. Определение глицина проводили в статических условиях до установления равновесия.

### Обсуждение результатов

Метод пьезокварцевого микровзвешивания обладает некоторыми принципиальными преимуществами перед другими методами: простота функциональных схем; измерения можно проводить в непрозрачных, мутных и окрашенных средах; время установления равновесного потенциала составляет секунды и т.д.

Экспериментально определенный предел обнаружения составил  $10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>. В работе были построены градуировочные графики зависимости резонансной частоты от концентрации глицина в диапазоне концентраций от  $10^{-1}$  до  $10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup> (Рис.1.). Для работы использовали сенсоры с немодифицированной поверхностью.

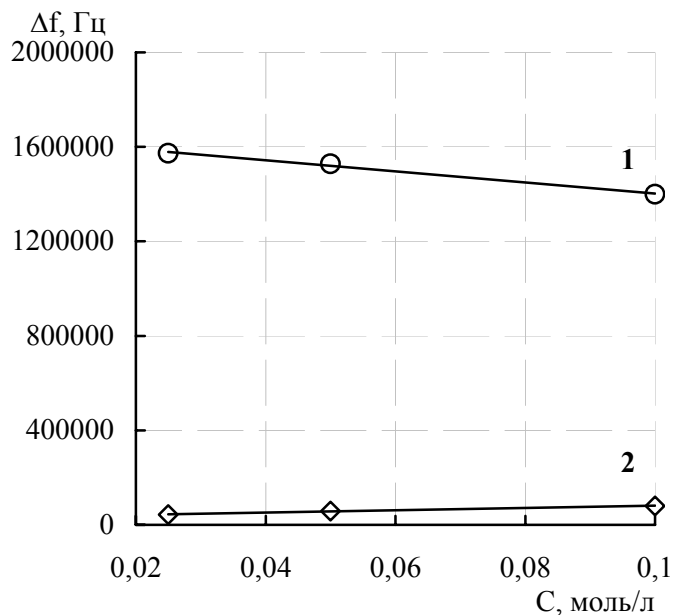


Рис.1. Калибровочный график зависимости резонансной частоты от концентрации растворов глицина

1 – лекарственный препарат «Глицин», 2 – стандартные растворы глицина

Пьезосенсорным методом был проведен анализ водных растворов глицина в статических условиях при температуре  $25.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ . Проведенный анализ показал, что данные графики имеют линейный характер и высокий коэффициент корреляции. Но следует отметить, что в случае анализа лекарственного препарата высокие значения резонансной частоты, скорее всего, говорит о наличии мешающих компонентах: магния стеарата и метилцеллюлозы водорастворимой. Однако для объяснения механизма сорбции

аминокислот этими сенсорами необходимо дальнейшее изучение растворов мешающих компонентов методом пьезоэлектрического микровзвешивания.

Таким образом, в работе впервые с использованием пьезокварцевого сенсора проведено определение лекарственного препарата «глицин».

### **Список литературы**

1. Дорофеев В.И. и др. Тенденции развития медицинской промышленности // Фармацевтические производители. – 2001. – №4(18), август/сентябрь. – С.172 – 175.
2. Кельнер Р. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: в 2-х т. / Р. Кельнер, Ж.-М. Мерме, М. Отто, М. Видмер; перевод с англ. А. Г. Борзенко, [и др.]; под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Мир: АСТ, 2004.- Т. 1. – 743 с.
3. Эггинс Б. Р. Химические и биологические сенсоры / Б. Р. Эггинс; перевод с англ. М. А. Слинкина; под ред. Л. Ф. Соловейчика. – М.: Техносфера, 2005. – 336 с.

### **Molecular imprinted polymers for piezoquartz sensor**

#### **Part 1. The analysis of drugs containing glycine**

Zhibrova Ya.A., Zyablov A.N., Scheglova N.A., Krasnikova O.P., Selemenev V.F.

*Voronezh State University, Voronezh*

The solutions of medicinal preparation «Glycine» were investigated by the method of piezoquartz scaling. In this part the analysis of standard test solutions and solutions of medicinal preparation «Glycine» was made by piezoquartz sensor with non-modified surface and calibrating graphs were plotted.

**Key words:** *piezoquartz, sensor, glycine, medicinal preparation.*



УДК 577.152+616.127+599.323.4

## Применение ионообменной хроматографии для очистки аконитатгидратазы из миокарда крысы в условиях нормы и при индукции апоптоза

Йама Нинон Инес., Попова Т.Н., Рахманова Т.И.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

### Аннотация

С помощью фракционирования сульфатом аммония, гель-фильтрации на сефадексе G-25, ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе, гель-хроматографии на Тоауреарл HW-65 осуществлена очистка аконитатгидратазы (АГ; КФ. 4.2.1.3) из миокарда крысы в условиях нормы и при индукции апоптоза ФНО- $\alpha$ . Получены высокоочищенные ферментные препараты с удельной активностью 30,4 и 17,4 Е на мг белка, выходом 12,6 и 13,0%, соответственно. Оптимум рН АГ из нормального миокарда равен 8,0, из патологически измененного миокарда 7,8. При развитии апоптоза не происходит изменение молекулярной массы АГ, которая составляет  $50,0 \pm 5,0$  кДа

### Введение

В норме фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) играет фундаментальную физиологическую роль в иммунорегуляции. Синтез и секрецию ФНО- $\alpha$  клетками иммунной системы и другими клетками индуцируют липосахариды и другие компоненты микроорганизмов [1], вследствие этого его уровень возрастает при инфицировании или поступлении в организм бактериальных эндотоксинов. Кроме того, ФНО- $\alpha$  принимает участие в регуляции апоптоза клеток. Но в некоторых случаях, ФНО- $\alpha$  проявляет многочисленные системные и локальные эффекты, многие из которых могут играть важную роль в развитии патологии миокарда.

Обладая способностью индуцировать апоптоз, ФНО- $\alpha$  также способен вызвать генерацию в клеточной мембране активных форм кислорода (АФК), что приводит к активации процессов свободнорадикального окисления (СРО) [2] и высвобождению каталитически активных ионов  $Fe^{2+}$  из вне- и внутриклеточных депо [3]. Снижение внутриклеточного уровня  $Fe^{2+}$  может достигаться за счет увеличения содержания цитрата. В этой связи интерес вызывает изучение особенностей функционирования ферментов, ответственных за накопление и утилизацию цитрата и прежде всего, аконитатгидратазы.

Аконитатгидратаза (АГ; КФ. 4.2.1.3) – фермент, катализирующий реакцию обратимой изомеризации цитрата в изоцитрат. Общеизвестен факт  $O_2^-$ -индуцируемого подавления активности АГ, что позволяет рассматривать данный

фермент в качестве чувствительной мишени действия АФК в условиях интенсификации СРО [4].

Целью данной работы явилась разработка способа очистки АГ из миокарда крысы в условиях нормы и при индукции апоптоза ФНО- $\alpha$  с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-25, ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе и гель-хроматографии на Тоаурpearl HW-65.

## Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали белых лабораторных крыс, содержащихся на стандартном рационе вивария. Сердце извлекали у самцов, массой 200-250 г. Для индукции апоптоза животным вводили актиномицин D внутривенно в дозе 20мкг на кг веса животного, через 20 минут вводили ФНО- $\alpha$  (1 мкг/кг). Материал для исследований забирали на 12-й час после введения ФНО- $\alpha$  [2]. Активность фермента определяли спектрофотометрически при 233 нм в среде следующего состава: 50мМ трис-НСl буфер (рН 8), содержащий 0,6мМ цитрат. О скорости АГ - реакции судили по возрастанию оптической плотности в ходе катализируемого ферментом превращения цитрата в цис-аконитат. За единицу активности (Е) АГ принимали количество фермента, катализирующее превращение 1мкмоль субстрата в 1 мин при 25°C. Определение белка проводили по методу Лоури [5].

Очистка АГ из нормального и патологически измененного миокарда крысы включала несколько этапов. Навеску ткани гомогенизировали в фарфоровой ступке в 4-кратном объеме охлажденной среды выделения следующего состава: 50мМ трис-НСl буфер (рН 7,8), содержащий 1мМ ЭДТА и 2%  $\beta$ -меркаптоэтанол. Гомогенат фильтровали и центрифугировали при 7000g 10 мин. Полученный супернатант подвергали фракционированию сульфатом аммония в границах насыщения 40-65%. Кристаллический сульфат аммония добавляли в количестве, соответствующем нижней границе насыщения. Смесь центрифугировали при 10000g в течение 15 мин. Затем к надосадочной жидкости добавляли сульфат аммония в количестве, соответствующем верхнему пределу насыщения. После центрифугирования при 15000g в течение 10 мин получали осадок, содержащий АГ. Полученный осадок растворяли в минимальном объеме исходной среды выделения.

Освобождение от низкомолекулярных примесей осуществляли с помощью гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-25 (1,4 x 20 см). Ферментный препарат наносили в количестве не более 20-25% от объема колонки. В качестве среды элюции для АГ использовали 10мМ трис-НСl буфер (рН 8,0), содержащий 0,1мМ ЭДТА и 1%  $\beta$ -меркаптоэтанол. Кроме этого, в среду элюции добавляли 10мкМ  $Fe^{2+}$ , что предотвращало потерю активности фермента в ходе гель-фильтрационной хроматографии на G-25 вследствие изменения исходной структуры Fe-S-кластера в активном центре АГ. Скорость элюции составляла 20-25мл/час.

Дальнейшую очистку фермента проводили с помощью ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой (1,2 x 13см). Среда элюции имела тот же состав, что и буфер, используемый на предыдущей стадии. После сорбции белка на колонке проводили десорбцию фермента с помощью ступенчатого градиента KCl в той же среде элюции. Колонку промывали 100мМ KCl (20 мл), что позволяло достичь удаления сопутствующих белков на данной стадии. Фермент десорбировался при использовании 200мМ KCl. Скорость элюции составляла 20-25 мл/час.

Завершающим этапом очистки была гель-хроматография на колонке с Тоаурpearl HW-65 (2,2 x 65см). Ферментный препарат наносили в количестве не более 1-3% от общего объема колонки. Элюцию проводили со скоростью 20мл/час средой того же состава, что и на предыдущих стадиях.

Все этапы выделения и очистки фермента осуществляли при температуре 0-4°C. Разработанный способ очистки позволил получить ферментативные препараты АГ из сердца крыс в условиях нормы и при индукции апоптоза, которые были использованы для изучения некоторых физико-химических свойств фермента.

Опыты проводили в 3-4-кратной биологической повторности, аналитические определения в каждой пробе – в 2-х повторностях. Статистическую обработку данных проводили на IBM PC/AT с использованием программы “Stadia”[8].

## Результаты и их обсуждение

В результате 127- и 134-кратной очистки были получены препараты АГ из нормального и патологически измененного миокарда крысы, с удельной активностью 30,4 и 17,4 Е на мг белка, выходом 12,6 и 13,0%, соответственно (табл. 1). Необходимо отметить, что в гомогенате сердца крыс, подвергнутых воздействию ФНО- $\alpha$  наблюдалось снижение удельной активности АГ в 1,8 раза, относительно данного показателя в условиях нормы. Можно предполагать, что такое снижение удельной активности АГ при введении ФНО- $\alpha$ , связано с интенсификацией процессов свободнорадикального окисления, и следовательно, с разрушением железо-серного кластера данного фермента свободными радикалами, содержание которых увеличивается при патологии миокарда (рис. 1).

Таблица.1. Очистка аконитатгидратазы из миокарда крысы в норме и при индукции апоптоза ФНО- $\alpha$

Стадия очистки	Условия опыта	Общая активность, $E_{общ}$	Удельная активность, Е/мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	норма	$12,08 \pm 0,60$	$0,24 \pm 0,01$	100,00	1,00
	ФНО- $\alpha$	$6,72 \pm 0,34$	$0,13 \pm 0,01$	100,00	1,00
Фракционирование	норма	$7,29 \pm 0,36$	$1,46 \pm 0,07$	60,40	6,10
	ФНО- $\alpha$	$3,95 \pm 0,20$	$0,80 \pm 0,04$	59,00	6,15
Гель Фильтрация На сефадексе G-25	норма	$7,55 \pm 0,37$	$1,51 \pm 0,07$	62,50	6,30
	ФНО- $\alpha$	$3,98 \pm 0,20$	$0,80 \pm 0,04$	59,00	6,15
Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	норма	$4,25 \pm 0,20$	$8,50 \pm 0,42$	35,20	35,42
	ФНО- $\alpha$	$2,42 \pm 0,12$	$4,84 \pm 0,24$	36,00	37,20
Гель-хроматография на	норма	$1,52 \pm 0,07$	$30,40 \pm 1,52$	12,60	127,00

Тоаурpearl HW-65	ФНО- $\alpha$	$0,87 \pm 0,04$	$17,40 \pm 0,87$	13,00	134,00
------------------	---------------	-----------------	------------------	-------	--------

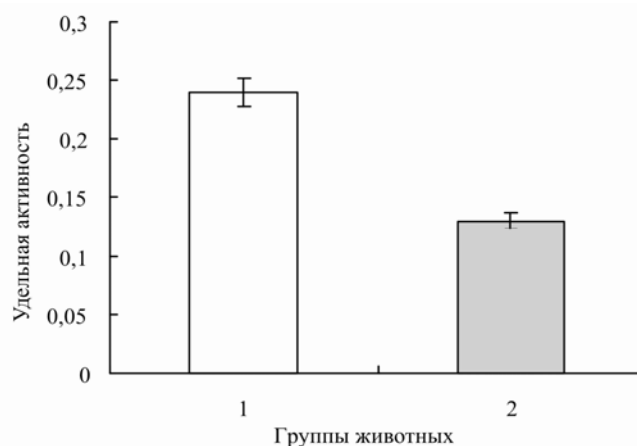


Рис. 1. Удельная активность аконитатгидратазы в миокарде крысы контрольной группы (1) и при введении ФНО- $\alpha$  (2)

В ходе ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой фермент десорбировался в виде одного пика. Причем, фермент, как из нормального, так и из патологически измененного миокарда десорбировался с носителя при одной и той же концентрации KCl (200мМ). Данная стадия позволила освободить ферментный препарат от значительного количества сопутствующих белков. В ходе ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе степень очистки возрастала в 6 раз. Применение гель-хроматографии на колонке с Тоаурpearl HW-65 не только способствовало увеличению степени очистки, но также и позволило определить молекулярную массу фермента. Установлено, что при развитии апоптоза не происходит изменения молекулярной массы АГ, которая составляет  $50,0 \pm 5,0$  кДа.

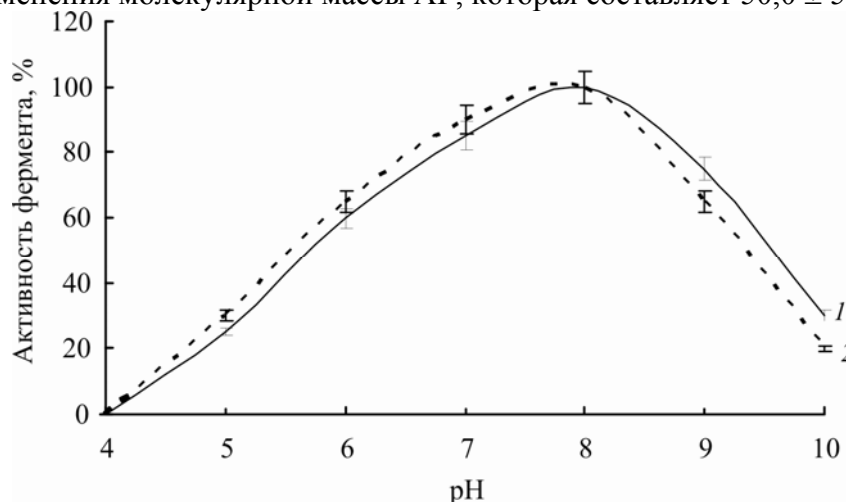


Рис. 2. Зависимость скорости АГ-реакции от концентрации ионов водорода в условиях нормы (1) и при индукции апоптоза (2)

Изучение зависимости скорости реакции от концентрации ионов  $H^+$  показало, что АГ, как в условиях нормы, так и при патологии проявляет активность в диапазоне значений pH от 6 до 9. Выявленный оптимум pH АГ из нормального миокарда равен 8,0. АГ из патологически измененного миокарда проявляла максимальную активность при pH 7,8 (рис.2).

## Заключение

Таким образом, с помощью процедур выделения, включающих гель-хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе и на Тоаурpearl HW-65, в результате 127- и 134-кратной очистки были получены ферментные препараты АГ из миокарда крысы в норме и при патологии, с удельной активностью 30,4 и 17,4 Е на мг белка соответственно, что позволило изучить некоторые физико-химические свойства фермента.

*Работа поддержана финансированием Министерства образования и науки РФ по программе "Развитие научного потенциала высшей школы" РНП.2.1.1.4429*

## Список литературы

1. Старикова Э. А. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // Мед. Иммунология. 2003. Т.5. 349. С. 39-48.
2. Yogge Zhao. Activation of pro-death Bcl-2 family proteins and mitochondria apoptosis pathway in tumor necrosis-induced liver injury // The journal of Biological Chemistry. 2001. №29. P. 27432-27440
3. Осипов А. Н. Активные формы кислорода и их роль в организме // Успехи биол. Химии. 1990. Т. 31. С. 180-208
4. Gardner P.R. Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs // Proc. Nat. Acad. Sci. 1994. V. 91. №25. P. 12248-12252
5. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V.194. No.1. P.265-275
6. Пальцев М.А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук // М.: Медицина. 2000. 198 с.
7. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. // Изд. ЛГУ, Л. 1982
8. Ллойд Э. Справочник по прикладной статистике. // М.: Финансы и статистика, 1990. С. 496-513

### **Application of chromatography in the purification of aconitatehydratase from rat heart at norm conditions and under apoptosis induced by tumor necrosis factor - $\alpha$**

Yama Ninon Ines, Popova T.N., prof., doc.biol.Sc., Rakhmanova T.I., doc.biol.Sc.  
*Voronezh State University, Voronezh*

Aconitatehydratase (AH; EC. 4.2.1.3) was purified from rat heart at norm conditions and under apoptosis induced by tumor necrosis factor  $\alpha$  by ammonium sulphate fractionation, gel-filtration on Sephadex G-25, ion-exchange chromatography on DEAE-Cellulose, gel- chromatography on Тоаурpearl HW-65. Highly purified enzyme preparations were obtained, with specific activity of 30,4 and 17,4 E per mg of protein, a yield of 12,6 and 13,0 %, accordingly. The optimum of pH for AH from the normal myocardium is 8,0, from the pathologic heart - 7,8. Under apoptosis the molecular weight of AH did not change and was equal to  $50,0 \pm 5,0$ . kDa.

*Ключевые слова: крыса, миокард, свободнорадикальное окисление, аконитатгидратаза, фактор некроза опухоли  $\alpha$*



УДК 541.(64+183.12)

## **Синтез и сорбционные свойства сшитых полимерных сорбентов на основе диметиламиноэтилметакрилата и диметакрилата этиленгликоля**

Полякова И.В., Грошикова А.Р., Лещинская А.П.,  
Писарев О.А., Панарин Е.Ф.

*Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург*

### **Аннотация**

Синтезированы сшитые полимеры на основе диметиламиноэтилметакрилата и сшивающего агента диметакрилата этиленгликоля, молекулярно настроенные на мочевую кислоту (МК). Проведена оптимизация молярного соотношения сомономеров, содержания МК и физико-химических условий полимеризационной среды, включая природу инициатора. Изучены основные физико-химические, электрохимические и сорбционные параметры сетчатых полимеров, синтезированных как без мочевой кислоты, так и в ее присутствии. Установлено влияние природы растворителя и МК на особенности формирования структуры сшитых полимерных сеток

### **Введение**

Для совершенствования препаративных хроматографических методов выделения и очистки целевых биологически активных веществ (БАВ) из сложных многокомпонентных смесей необходим систематический поиск и разработка принципиально новых селективных сорбентов. В последнее время в мировой практике особое внимание уделяется созданию сетчатых полимерных сорбентов, молекулярно «настроенных» на молекулу целевого вещества (молекулярно настроенные сетчатые полимеры - МНСП). При синтезе МНСП на первом этапе методом нековалентного (реже ковалентного) связывания создается комплекс функционального мономера и целевого БАВ - «шаблона». Затем осуществляется радикальная сополимеризация функционального мономера, комплекса и сшивающего агента. После окончания процесса сополимеризации молекулы шаблона удаляются из сетчатого полимера методом ступенчатой экстракции, либо простой перезарядкой компонентов комплекса. В результате внутри сетчатой структуры формируются трехмерные комплементарные к целевому объекту полости, создающие условия для высокоселективного специфического связывания целевого БАВ. В отличие от аффинных сорбентов, технология создания МНСП достаточно проста и эффективна, а сами МНСП являются химически устойчивыми и совместимыми с органическими растворителями, механически прочными и



выдерживающими повышенные температуры. Эти свойства удовлетворяют требованиям, предъявляемым к сорбентам для использования в динамических сорбционных процессах, и позволяют применять МНСП в аналитических и препаративных хроматографических процессах [1-3], а также для совершенствования экстракорпоральных методов лечения интоксикаций различной этиологии [4 - 7].

Одним из преимуществ, а также важным этапом в создании высокоселективных МНСП является возможность комбинирования различных видов функциональных мономеров, обладающих наиболее выраженным сродством к молекулам шаблона. В основе такого подбора лежит анализ межмолекулярных взаимодействий целевого объекта с функциональным мономером, что позволяет оптимизировать молекулярное узнавание целевого вещества настроенными матрицами. Поэтому целью работы являлось исследование условий синтеза и влияния физико-химических свойств полимеризационной среды на формирование структуры и сорбционные характеристики новых сетчатых полимеров, синтезированных при введении мочевой кислоты в сополимеризационную среду.

Такие исследования будут являться основой для создания высокоселективного сетчатого полимерного сорбента, молекулярно настроенного на мочевую кислоту (МК-МНСП) с целью развития и совершенствования препаративных экстракорпоральных методов профилактики и лечения гиперурикемии.

## **Эксперимент**

### **Разработка условий синтеза сетчатых полимеров**

В качестве сомономеров были использованы эфиры метакриловой кислоты: диметиламиноэтилметакрилат (ДМАЭМ) и неионногенный сшивающий агент диметакрилат этиленгликоля (ДМЭГ). Для инициирования реакции радикальной сополимеризации использовали либо 1% водный раствор персульфата аммония (ПСА), либо динитрилазоизомаасляной кислоты (ДАК). Инициаторы вводились в реакционную смесь в количестве 0,3 моль %. Реакционную смесь предварительно продували током азота в течение 1-2 минут, далее нагревали в плотно закрытой колбе до 60°C и выдерживали смесь при данной температуре в течение 24 часов. Гидрофобные свойства ДМЭГ способствовали фазовому разделению полимеризационной смеси и образованию гидрофобных гранул сшитого полимера в результате синтеза. Полимер извлекали из колбы и промывали ацетоном от остаточных мономеров.

### **Синтез сетчатых полимеров в присутствии мочевой кислоты**

Мочевая кислота – 2,4,6-триоксипурин (МК) была использована в качестве молекул – шаблонов, вводимых в сополимеризационную среду.

Для введения МК в полимеризационную смесь готовили растворы МК в водном растворе лития карбоната (ЛК) с концентрацией 0,3 г/л при pH~10,0 или 0,05 М тетраборатном буфере (ТБН) при pH~9,2. Для данных условий была установлена максимальная растворимость МК при 20°C в ЛК – 0,644 мг/мл, в ТБН – 1,255 мг/мл.

Синтез сетчатых сополимеров осуществляли следующим образом: предварительно, с целью образования солевого комплекса МК-ДМАЭМ, раствор МК смешивали с раствором ДМАЭМ в токе азота в течение 1-2 минут. Далее в смесь вводили растворенный в этиловом спирте сшивающий агент ДМЭГ и инициатор реакции полимеризации. Сополимеризация проходила в инертной среде азота в

закрытой колбе при 60°C в течение 2 часов. Синтезированные в виде твердых блоков сополимеры измельчали до однородного порошка с размером частиц 160÷315µм. МК удалялась из полимерной сетки путем промывки сорбентов в аппарате Сокслета смесью 0,1н HCl и этанола (1:1) в течение 5 часов. Полученные образцы многократно промывали ацетоном и водой, после чего сушили до постоянного веса.

#### **Определение остаточных мономеров методом ТСХ**

Ацетоновые экстракты образцов сорбентов исследовали на содержание в них остаточных мономеров методом ТСХ [8, 9]. Разделение проводилось на пластинах Sorbfil (Санкт-Петербург, Россия). В качестве подвижной фазы использовали смесь: гексан – метанол – ацетон (8:1,5:1). Экспериментально были установлены величины фактора удерживания ( $R_f$ ), который определяли как отношение расстояния центра пятна от точки старта к расстоянию фронта растворителя от старта. В результате ТСХ-анализа было установлено: для ДМЭГ  $R_f = 0,74$ ; для ДМАЭМ  $R_f = 0,24$  и для МАК  $R_f = 0,2$ . Минимальное содержание вещества в контрольной пробе, которое было возможно определить в разработанных условиях ТСХ-анализа, составляло для ДМАЭМ - 0,2 мкг; для ДМЭГ - 0,5 мкг и для МАК - 0,1 мкг.

#### **Исследование гидролиза мономеров**

Ранее было показано, что ряд аминоэфиров метакриловой кислоты подвержен гидролизу в водных средах [10, 11]. В связи с этим была исследована устойчивость к гидролизу как ДМАЭМ, так и ДМЭГ в растворителях, в которых осуществлялся синтез сетчатых полимеров. В качестве контрольного продукта гидролиза сомономеров использовалась метакриловая кислота (МАК).

Гидролитическую устойчивость ДМЭГ определяли следующим образом: в пробирку с 5 мл соответствующего растворителя вносили 5 мл ДМЭГ. Затем смесь нагревали до 60°C в закрытой колбе. После нагревания через определенные промежутки времени (5, 10, 15, 30, 45 и 60 минут) отбирали пробы по 0,5 мл, в которые добавляли 20 мл ацетона. Пробы анализировали методом ТСХ. На пластинку наносили точки контрольных растворов ДМЭГ (1,52 мкг в 1 мкл пробы) и МАК (0,464 мкг в 1 мкл пробы). Хроматографирование проводилось при описанном выше составе подвижной фазы. Пластины с нанесенными пробами помещали в камеру для восходящего хроматографирования с нормальным насыщением [8]. По окончании разделения пластину сушили в течение 30 – 40 минут в теплом потоке воздуха, после чего на 20 – 30 сек опускали в проявляющий раствор (0,25 г  $KMnO_4$  в 100 мл ацетона) в камеру для импрегнирования. После проявления в течение 5 – 10 минут на розовом фоне появлялись белые пятна контрольных калибровочных растворов и остаточных мономеров в исследуемых пробах. В исследуемых образцах пятна с  $R_f = 0,2$  (МАК) не наблюдались. Это позволило сделать вывод, что ДМЭГ не подвергается гидролизу в заданных условиях синтеза полимеров.

Степень гидролиза ДМАЭМ в различных средах изучалась при исходной концентрации мономера в растворе ~20 масс%. Для этого к 2 г ДМАЭМ добавлялся соответствующий растворитель. Суммарный объем раствора составлял 10 мл. Далее раствор нагревали до  $t=60^\circ C$  в течение 60 минут. Пробы раствора отбирались через 5, 10, 15, 30, 45 и 60 минут, вносили их в мерную колбу на 25 мл по 0,5 мл и разбавляли ацетоном. В результате получали пробы растворов с искомой концентрацией МАК, г (мг/мл). По 1 мкл соответствующей пробы наносили на ТСХ - пластину. В качестве элюирующей системы растворителей использовали смесь ацетон – метанол в составе 8:2. Проявляющий раствор использовали тот же, что и для ДМЭГ. В ходе ТСХ-анализа были получены величины  $R_f = 0,6$  для ДМАЭМ и  $R_f = 0,26$  для МАК. Количество МАК, г, определяли денситометрическим методом.

Для количественного определения продуктов гидролиза в заданных физико-химических условиях определяли достоверный контрольный интервал определения МАК. Так этот интервал оказался равным оказался  $0,05 \div 1,0$  мкг, то при гидролизе ДМАЭМ в течение более 30 мин анализируемые пробы разбавляли в 5 раз, что учитывалось при расчете. Степень гидролиза ДМАЭМ, А (%), определяли следующим образом:

$$A = \frac{g}{G} \times \frac{MM_{\text{ДМАЭМ}}}{MM_{\text{МАК}}} \times 100, \quad (1)$$

где  $g$  – концентрация МАК в пробе образца, мг/мл;  $G$  – исходное количество ДМАЭМ в пробе, мг/мл;  $MM_{\text{ДМАЭМ}}$  и  $MM_{\text{МАК}}$  – молекулярная масса ДМАЭМ и МАК, соответственно.

Данные по гидролизу ДМАЭМ представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние физико-химических свойств среды на степень гидролиза ДМАЭМ

Время гидролиза, мин	Степень гидролиза ( А), установленная для 20% раствора ДМАЭМ в соответствующей среде, рН раствора					
	Вода, 10,2	Вода-этанол, 10,2	ТБН, 10,9	ТБН-этанол, 10,9	ТБН + этанол + МК, 10,4	ТБН + этанол + HCl, 10,4
5	-	-	2,5	-	-	-
10	1,0	-	10,6	1,0	3,1	-
15	5,0	-	16,4	2,7	4,5	-
30	9,0	3,0	28,1	4,5	15,5	2,6
45	12,7	4,0	45,1	7,3	20,6	7,1
60	17,0	8,7	60,5	9,4	25	11,9

### Исследование физико-химических и сорбционных свойств сетчатых полимеров

Коэффициенты набухания сополимеров определяли как отношение объема набухшего образца сополимера к объему сухого после набухания фиксированного объема сухого образца в течение 8-10 часов.

Величина полной обменной емкости (ПОЕ) определялась как по амино-, так и по карбоксильным группам [12]. Для титрования аминогрупп сорбенты предварительно переводили в ОН<sup>-</sup> - форму. Затем к 10 мг сорбента добавляли 20 мл раствора 0,1н HCl. Смесь перемешивали до установления равновесия в течение 7 суток. Избыток Cl<sup>-</sup> - ионов в равновесном растворе титровали 0,1н раствором NaOH по метиловому красному. По эквивалентному количеству титранта рассчитывали ПОЕ аминогрупп в мг-экв на грамм сорбента.

ПОЕ по карбоксильным группам определялась в Н<sup>+</sup> - форме сорбента в статических условиях. Полимер выдерживали в 0,1н растворе NaOH в течение 7 суток. Аликвотную часть фильтрата титровали 0,1н HCl в присутствии метилового красного и рассчитывали содержание карбоксильных групп (мг-экв/г).

При изучении равновесия сорбции мочевой кислоты в качестве модельных растворов использовали водный раствор МК. Растворимость и устойчивость МК в водных растворах достигалась введением в водный раствор (0,3 г/л) Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Влияние ионной силы на равновесие сорбции исследовали при сорбции МК из изотонического 0,9% водного раствора NaCl.

Концентрацию МК в равновесных растворах определяли спектрофотометрическим методом при  $\lambda = 293$  нм по предварительно построенным калибровочным кривым зависимости оптической плотности,  $D^{293\text{нм}}$ , от концентрации МК в растворе,  $C$ , которые носили линейный характер вплоть до  $C=0.04$  ммоль/л.

Равновесные сорбционные опыты проводились в статических условиях. С этой целью навески сорбентов (~10 мг) взвешивали на аналитических весах и помещали в пенициллиновые флаконы. В течение 20 минут при перемешивании сорбент набухал в 0.2 мл воды. Во флаконы с набухшим сорбентом помещали 10 мл раствора МК с определенной начальной концентрацией и помещали на перемешивающее устройство. После установления равновесия раствор декантировали и измеряли его оптическую плотность. По калибровочной кривой определяли равновесную концентрацию МК ( $C_p$ ). Равновесную сорбционную емкость,  $q_p$ , сорбентов по МК находили по формуле:

$$q_p = \frac{(C - C_p) \times V}{m_n} \times 1000 \quad (2)$$

где  $C$ ,  $C_p$  – начальная и равновесная концентрации МК, соответственно, ммоль·мл<sup>-1</sup>;  $V$  – объем раствора, мл;  $m_n$  – масса навески сорбента, г.

### Обсуждение результатов

Предварительный подбор потенциальных функциональных сомономеров для синтеза сорбентов, настроенных на МК, осуществлялся на основании результатов по исследованию селективной сорбции МК на традиционных сорбентах, позволивших интерпретировать природу межмолекулярных взаимодействий в исследуемых сорбционных системах и определить физико-химические условия наиболее селективного связывания МК с этими сорбентами [13-15]. Кроме того, при разработке условий синтеза учитывались требования, предъявляемые как к сорбентам, применяемых в экстракорпоральных методах лечения, так и к препаративным разделительным динамическим процессам в целом [4, 16].

В связи с этим был изучен синтез сетчатых полимеров на основе среднеосновного аминоэфира ДМАЭМ и гидрофобного сшивающего агента ДМЭГ. Образцы сополимеров были получены путем варьирования количественного соотношения сомономеров при их суммарной концентрации 50 массовых % в исходном растворе. Ввиду предрасположенности ДМАЭМ к гидролизу в водной и смешанной водно-органической среде (табл.1) предполагалось, что синтезированные сополимеры будут иметь свойства полиамфолитов. Поэтому мольная доля ДМАЭМ в образовании сшитого полимера рассчитывалась по экспериментально установленным величинам ПОЕ амино- и карбоксильных групп. Это позволило оценить мольное соотношение ДМАЭМ и ДМЭГ в синтезированных сополимерах (табл.2).

$M_1$ ,  $M_2$  - исходное содержание в реакционной смеси сомономеров ДМАЭМ и ДМЭГ, соответственно, моль%;

$M_1'$  – относительное содержание ДМАЭМ в сшитом сополимере, рассчитанное с учетом образования МАК при гидролизе ДМАЭМ, моль%:

$$M_1' = \frac{n_A + n_B}{n} \times 100;$$

$M_2'$  – содержание ДМЭГ в сшитом сополимере, рассчитанное как:

$$M_2' = \frac{n_C}{n} \times 100,$$

где  $n_A$ ,  $n_B$ ,  $n_C$  – количество молей сомономеров ДМАЭМ, МАК и ДМЭГ в среднестатистическом звене сополимера;  $n = n_A + n_B + n_C$ , – суммарное количество молей сомономеров.

Таблица 2. Синтез сетчатых полимеров на основе ДМАЭМ и ДМЭГ в водной среде и в смешанной среде этанол - вода

№	M <sub>1</sub> моль %	M <sub>2</sub> моль %	Среда+ иници- атор	ПОЕ <sub>N<sup>+</sup></sub> мг- экв/г	ПОЕ <sub>COO<sup>-</sup></sub> мг-экв/г	M <sub>1</sub> ' моль%	M <sub>2</sub> ' моль%	Выход масс %	K <sub>n</sub>	ρ, г/см <sup>3</sup>
I. Водная среда										
1	90	10	Вода+ ПСА	5,9	0,7	99	1,0	60	4,7	0,34
2	50	50	Вода+ ПСА	5,2	0,8	86	14,0	44	1,9	0,23
3	20	80	Вода+ ПСА	4,9	0,9	87,5	12,5	24	1,4	0,21
II. Смешанная водно-спиртовая среда										
4	50	50	Этанол+ ДАК	3,4	-	59	41	91	3,3	0,54
5	50	50	вода – этанол (1:1)+ПСА	5,0	0,55	87	13	82	1,4	0,16
6	50	50	вода – этанол (1:1)+ДАК	3,9	0,59	73	27	88	1,4	0,43

Количества молей ДМАЭМ и МАК в 1 г сополимера соотносятся как:

$$\frac{n_B}{ПОЕ_{COO^-}} \times 1000 = \frac{n_A}{ПОЕ_{N^+}} \times 1000,$$

где  $ПОЕ_{N^+}$  и  $ПОЕ_{COO^-}$  – полные обменные емкости по амино- и карбоксильным группам, соответственно, мг-экв/г.

Из предыдущего равенства следует, что:

$$n_A = \frac{n_B \times ПОЕ_{N^+}}{ПОЕ_{COO^-}}.$$

Расчет  $n_A$  производили на одно среднестатистическое звено сшитого полимера, содержащего 1 г-экв МАК и, следовательно, принимали  $n_B=1$ .

Количество молей ДМЭГ в звене сополимера рассчитывали следующим образом:

$$n_C = \frac{P - n_A \times MM_{DMAEM} - n_B \times MM_{MAK}}{MM_{DMEG}};$$

где  $MM_{DMAEM}$ ,  $MM_{MAK}$ ,  $MM_{DMEG}$  – молекулярные массы ДМАЭМ, МАК и ДМЭГ, соответственно;  $P$  – масса сшитого звена, рассчитываемая при условии содержания в нем 1 г-экв МАК, определяемая как:

$$P = \frac{1}{\text{ПОЕ}_{\text{COO}^-}} \times 1000 \cdot$$

$K_n$  – коэффициент набухания;  $\rho$  – насыпная плотность сорбента при размере частиц  $160 \div 315 \mu\text{м}$ ,  $\text{г/см}^3$ .

В условиях синтеза в водной среде при введении сшивающего агента в полимеризационную смесь в количестве 10 моль % полученный сополимер был обогащен ДМАЭМ на 99 моль%. Гелевая структура матрицы сополимера и величина коэффициента набухания также указывали на низкую степень сшивки. При увеличении исходной концентрации ДМЭГ до 50 и далее до 80 моль % величины коэффициентов набухания полимерных сеток понижались более чем в два раза, что указывало на увеличение степени сшивки полимерной сетки. Одновременно с этим наблюдалось значительное падение массового выхода сополимеров, связанное, прежде всего, с потерей ДМЭГ в ходе синтеза из-за ограниченной растворимости гидрофобного кроссагента в водной среде. Таким образом, в данных условиях синтеза сшивка полимерных цепей осуществлялась как при участии кроссагента, так и непосредственно между полимерными цепями ДМАЭМ, а также между ДМАЭМ и МАК, образующейся в результате гидролиза ДМАЭМ. Причем замедление процесса сополимеризации, обусловленное уменьшением концентрации аминоэфира в полимеризационной смеси, способствовало усилению гидролиза ДМАЭМ, и в результате формировалась более сшитая сетка сополимера (табл.2).

С целью оптимизации введения количества сшивающего агента в матрицу сополимера, синтез осуществляли также в среде этилового спирта и в среде смешанного растворителя вода - этиловый спирт (1:1); начальная суммарная концентрация сомономеров в реакционной смеси составляла 50 масс % при соотношении 50:50 моль % ДМАЭМ к ДМЭГ (табл.2). В качестве инициатора для реализации сополимеризации в среде этилового спирта использовали ДАК. При синтезе в среде этилового спирта массовый выход сополимера составлял 91 масс % с содержанием кроссагента в полимерной сетке порядка 40 моль %. Титрование ионогенных групп сополимера показало отсутствие карбоксильных групп в полимерной сетке, что свидетельствовало о гидролитической устойчивости полиаминоэфира в среде этилового спирта. Механически прочная структура, высокая степень сшивки, а также хорошая набухаемость сетки свидетельствовали о формировании макропористой матрицы сополимера в данных условиях синтеза.

При синтезе в смешанном водно-спиртовом растворе сополимеры вновь приобретали свойства полиамфолитов. Независимо от природы инициатора (ПСА или ДАК), полученные сополимеры обладали механически прочной структурой и имели равные по величине коэффициенты набухания, указывающие на высокую степень сшивки полимерных сеток. Тем не менее, величины насыпной плотности и содержание ДМЭГ в полученных сополимерах свидетельствовали о том, что при использовании инициатора ДАК формируется более пористая полимерная сетка.

Таблица 3. Синтез сетчатых полимеров в присутствии МК в полимеризационной среде

№	$M_1$ , моль %	$M_2$ , моль %	Среда+ ДАК	$\text{ПОЕ}_{\text{N}^+}$ мг- экв/г	$\text{ПОЕ}_{\text{COO}^-}$ мг-экв/г	$M_1'$ , моль%	$M_2'$ , моль%	Выход масс %	$K_n$	$\rho$ , $\text{г/см}^3$
I. Полимеризационная смесь для синтеза КСП										
1	50	50	этанол - ТБН	3,08	1,8	73	27	90	3,8	0,53

			(1:1)							
2	50	50	этанол -ЛК (1:1)	3,08	2,8	81	19	90	3,8	0,68
II. Введение МК в полимеризационную смесь										
3	50	50	МК(C <sub>1</sub> ) этанол -ТБН (1:1)	3,3	1,7	74,5	25,5	85	1,7	0,68
4	50	50	МК(C <sub>1</sub> ) этанол - ЛК (1:1)	3,1	1,5	69	31	85	1,5	0,53
5	50	50	МК (C <sub>2</sub> ) этанол -ТБН (1:1)	4,4	1,6	87,5	12,5	85	1,7	0,51
6	50	50	МК (C <sub>3</sub> ) этанол - ТБН (1:1)	4,3	1,5	85	15	85	1,7	0,53
7	50	50	МК (C <sub>4</sub> ) этанол -ТБН (1:1)	4,6	1,2	86,7	13,3	85	1,7	0,40

ТБН и ЛК – тетраборатно-натриевый буферный раствор и раствор лития карбоната, соответственно; C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, и C<sub>4</sub> - концентрации МК, введенной в реакционную массу, где C<sub>1</sub> – предельная концентрация МК, равная 0,644 и 1,255 мг/мл в ЛК и ТБН, а каждая следующая концентрация в 2 раза меньше предыдущей, соответственно; выход полимера определяли путем взвешивания высушенного образца и рассчитывали относительно массы исходных мономеров.

Следующим этапом являлось исследование влияние антиоксидантной природы МК на формирование структуры сополимеров. Из-за ограниченной растворимости в водно-органических средах МК вводилась в сополимеризационную среду в водном растворе лития карбоната (ЛК) или натрия тетрабората (ТБН). Поэтому для синтеза сополимеров в качестве растворителей исследовали смешанный раствор (1:1) этанола с водным раствором лития карбоната (этанол - ЛК) и раствор (1:1) этанола с тетраборатно - натриевым буферным раствором (этанол - ТБН). С целью сравнительного изучения основных физико-химических и сорбционных параметров были синтезированы образцы сетчатых полимеров как без введения МК в реакционную массу (контрольные сшитые полимеры - КСП), так и при участии МК (МКСП).

Использование растворов этанола со щелочными растворами ЛК или ТБН в реакции сополимеризации способствовало высокому массовому выходу сополимеров (табл.3).

Исследование ПОЕ по amino- и карбоксильным группам показало приблизительно одинаковую гидролитическую стабильность для всех образцов, синтезированных как без МК, так и при ее участии. Однако коэффициенты набухания для всех образцов МКСП имели практически одинаковую величину и более чем в два раза меньше по сравнению с коэффициентами набухания КСП. Таким образом, наблюдалось очевидное влияние МК на формирование полимерной сетки. Являясь природным антиоксидантом, МК, по всей видимости, способствовала телогенированию полимерных цепей в ходе синтеза. В результате происходила сшивка укороченных цепей сомономеров ДМАЭМ и формировалась более плотная, близкая к изопористой, полимерная сетка МКСП, в то время как матрица КСП формировались в условиях сшивки длинных цепей сополимеров ДМАЭМ и МАК. Причем величина коэффициента набухания и высокое содержание ДМЭГ свидетельствовало о высокой вероятности формирования структурно сегрегированной матрицы КСП [17].

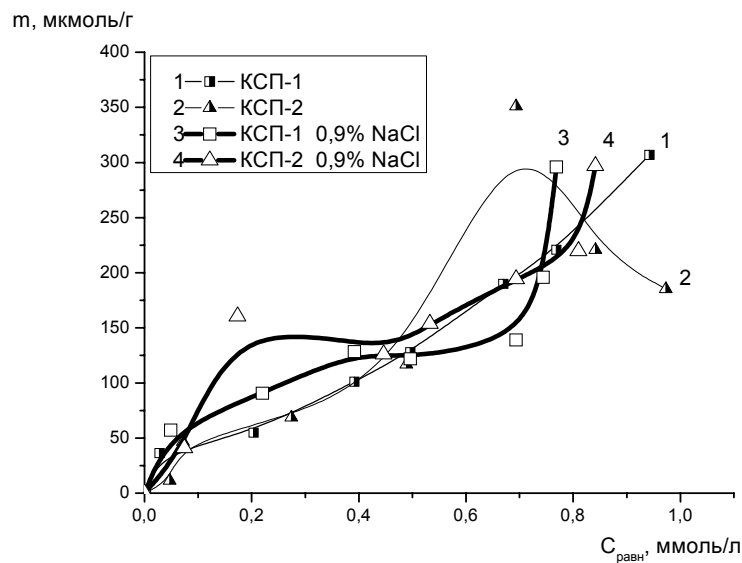


Рис.1. Изотермы равновесной сорбции МК из водного раствора на контрольных сшитых полимерах КСП-1 и КСП-2, синтезированных в среде этанол - ТБН и этанол - ЛК, соответственно

На рис.1 представлены изотермы сорбции МК из водных растворов на КСП-1 и КСП-2, синтезированных в среде этанол - ТБН и этанол - ЛК, соответственно. Величины сорбционных емкостей превышали ранее полученные значения при сорбции МК на известных марках высокоосновных анионитов [14-15]. Протяженный прямолинейный характер изотерм 1 и 2, описывающих сорбцию МК на КСП-1 и КСП-2 без участия конкурирующих ионов в растворе, свидетельствовал о хорошей проницаемости полимерной сетки и доступности сорбционных центров в широком диапазоне концентраций МК в растворе.

При сорбции МК на КСП-1 и КСП-2 из 0,9% раствора NaCl были получены также значительные сорбционные емкости (рис.1, кр. 3 и 4). Наличие плато на изотермах 3 и 4 свидетельствовало о неоднородном механизме распределения сорбтива в фазе сорбента, а также о реализации полифункциональных взаимодействий в сорбционной системе. Кроме того, экранирование карбоксильных групп полиамфолитов ионами натрия способствовало более эффективному



распределению урат - ионов в полимерных сетках и, следовательно, обеспечивало селективность связывания МК с КСП даже в условиях конкурентной сорбции с хлорид – ионами.

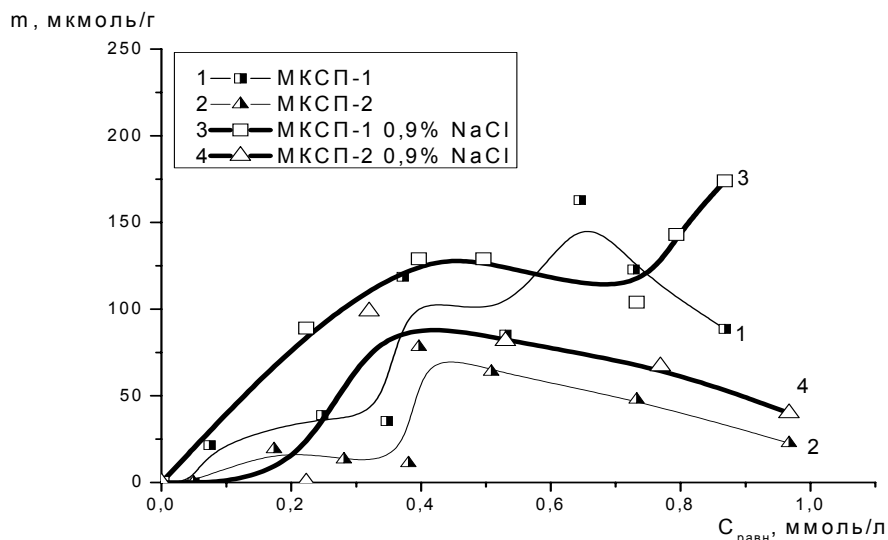


Рис.2. Изотермы равновесной сорбции МК из водного раствора на контрольных сшитых полимерах МКСП-1 и МКСП-2, синтезированных при введении МК в реакционную смесь в среде этанол - ТБН и этанол – ЛК, соответственно

Изотермы на рис.2 соответствуют сорбции МК на сорбентах МКСП-1 и МКСП-2, синтезированных при максимальном введении МК в полимеризационную среду. В водных растворах без конкурирующих ионов селективная сорбция наблюдалась в диапазоне концентраций МК, соответствующем гиперурикемии (>400 ммоль/л) (кр. 1, 2). В более сильносшитых полимерных сетках МКСП-1 и МКСП-2 при малых концентрациях МК в растворе наиболее сильно проявлялся эффект вытеснения урат-ионов карбоксильными группами, а ярко выраженный ступенчатый характер изотерм 1 и 2 свидетельствовал о термодинамически неоднородном распределении МК в фазе сорбента. Введение 0,9% NaCl в сорбционную среду способствовало увеличению сорбционных емкостей и селективности сорбции в результате экранировки карбоксильных групп ионами натрия (рис.2, кр. 3, 4). Кроме того, несмотря на незначительную концентрацию МК, вводимую в сополимеризационную смесь в процессе синтеза МКСП-1 и МКСП-2, в данных сорбентах осуществлялась молекулярная настройка на МК с образованием конформационных полостей, комплементарных структуре МК. Поэтому введение конкурирующих ионов сильного электролита в сорбционную среду также способствовало улучшению доступности специфических сорбционных участков для урат-ионов.

## Заключение

В результате оптимизации условий синтеза сетчатых полимеров на основе ДМАЭМ и ДМЭГ в присутствии МК получены сорбенты, селективно связывающие МК из модельных водных растворов. Амфолитная природа этих сорбентов способствовала полифункциональным взаимодействиям в сорбционной системе и обеспечивала селективность связывания МК даже в условиях конкурентной сорбции в среде 0,9% NaCl.

По своим физико-химическим и сорбционным свойствам синтезированные сетчатые полимеры соответствуют требованиям, предъявляемым к препаративным динамическим процессам сорбции и к сорбентам, применяемым в экстракорпоральных методах лечения.

Изучение физико-химических, электрохимических и сорбционных характеристик новых полимерных сорбентов позволило установить основные направления развития разработанного метода синтеза, нацеленные, прежде всего, на оптимизацию введения шаблонов мочевой кислоты для синтеза молекулярно настроенных на МК сорбентов с высокими параметрами селективного связывания МК.

*Работа поддержана грантом РФФИ 07-03 – 00786.*

## Список литературы

1. Spivak D.A. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. Т.57. №4. С.1779 – 1794.
2. Brügemann O., Haupt K., Lei Ye, Yilmaz E., Mosbach K. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers // *J. Chromatogr. A*. 2000. Т.889. №4. С.15 – 24.
3. Syu M.-J., Nian Y.-M., Chang Y.-Sh., Lin Xi-Z., Shieh S.-C., Chou T.-C. Ionic effect on the binding of bilirubin to the imprinted poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) // *J. Chromatogr. A*. 2006. Т. 1122. №1. С.54 – 52.
4. Горчаков В.Д., Сергиенко В.И., Владимиров В.Г. Селективные гемосорбенты. М.: «Медицина», 1989. - 224с.
5. Горчаков В.Д., Лейкин Ю.А., Елинек А.Ф. Применение ионитов для очистки биологических жидкостей от фенола // *Журн.прикладной химии*. 1985. Т.58. №3. С.581 – 587.
6. Prasad B. B., Sharma P.S., Lakshmi D., Molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction combined with molecularly imprinted polymer-based sensor for detection of uric acid // *J. Chromatogr. A*. 2007. Т.1173. №1. С.18 – 26.
7. Allender C. J. Molecularly imprinted polymers: technology and applications // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. Т.57. №5. С.1731 - 1732.
8. Боллигер Х.Р., Бреннер М., Генширт Х. и др. Хроматография в тонких слоях // Под ред. Э. Шталя, перевод с нем.яз. М.И.Яновского, М.: «Мир», 1965. - 508с.
9. Красиков В.Д. Основы планарной хроматографии. СПб, Химиздат, 2005. – 232 с.
10. Панарин Е.Ф., Гаврилова И.И., Лелюх А.И. Исследование влияния условий синтеза сополимеров N-винилпирролидона с диметиаминоэтилметакрилатом на их структуру и свойства // *Журн.прикладной химии*. 1994. Т.67. №4. С.679 – 681.

11. Турьян Я.Н., Игнатъева Ф.К., Коршунов М.А. Полярографическое исследование кинетики и механизма щелочного гидролиза аминоэфиров  $\alpha$ ,  $\beta$  – ненасыщенных кислот // Журн. общей химии. 1968. Т.38. №11. С.2405 – 2411.
12. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. // М.: «Химия», 1976. - 208 с.
13. Полякова И.В. Лещинская А.П., Писарев О.А., Хирманов В.Н., Шостка Г.Д. Роль сорбентов в удалении уремиических токсинов // Сорбенты как фактор жизни и здоровья, Сб. статей, Белгород. 2006. С.199 - 202.
14. Полякова И.В., Лещинская А.П., Писарев О.А., Хирманов В.Н., Шостка Г.Д. Специфика межмолекулярных взаимодействий мочевой кислоты с природными и синтетическими сорбентами // Научно-технические ведомости СПбГПУ. 2007. №2. С.138-142.
15. Полякова И.В., Лещинская А.П., Писарев О.А. Сорбция мочевой кислоты природными и синтетическими сорбентами. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. №6. С.989 – 995.
16. Pisarev O. A., Glasova N. V. Choice of Procedures for Preparative Chromatography. // J.of Chromatogr.2003.V.1018. № 2. P. 127-136.
17. Polyakova I. V., Pisarev O. A. The Influence of the Polyfunctional Interactions between Organic Zwitterion Eremomycin and Carboxylic Cationits on Forming Concentration Front. // J.of Chromatogr. 2005.V.1092. № 1. P.135 -141.

**Synthesis and sorption properties of the crosslinked polymeric sorbents on the basis of dimethylaminoethylene metacrylate and ethyleneglycol dimethacrylate**

Polyakova I.V., Groshikova A.R., Leshchinskaya A. P., Pisarev O.A., Panarin E.F.  
*Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, S.-  
Petersburg*

The crosslinked polymers, molecularly imprinted with uric acid (UA), based on dimethylaminoethylene methacrylate as functional monomers and ethyleneglycol dimethacrylate as a crosslinker were synthesized. The comonomers molar rate, the UA containing, as well as the physico-chemical synthesis conditions and the initiator of the copolymerization reaction were determined and optimized. There were studied the main physico-chemical, electrochemical and sorption parameters of crosslinked polymers synthesized both without uric acid, and with its introduction into polymerization mass. The influence of physico-chemical nature of solvent and UA properties upon forming specialties of the polymeric networks was determined.

*Ключевые слова: полимерные сорбенты, синтез, мочевая кислота, равновесие сорбции.*