

СОРБЦИОННЫЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Научный журнал
Выходит 6 раз в год

Том 23, № 3, 2023

ISSN 1680-0613

УЧРЕДИТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Воронежский
государственный университет»

Журнал основан в декабре 2000 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия. Свидетельство ПИ № ФС77-28319 от 15 июня 2007 года

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Журнал принимает публикации и статьи по специальностям: 1.4.1. Неорганическая химия (химические науки), 1.4.2. Аналитическая химия (химические науки), 1.4.4. Физическая химия (химические науки), 1.4.6. Электрохимия (химические науки), 1.4.7. Высокмолекулярные соединения (химические науки), 1.4.9. Биоорганическая химия (химические науки), 1.4.10. Коллоидная химия (химические науки), 1.5.4. Биохимия (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), 1.5.6. Биотехнология (химические науки)

Индексируется:

Scopus, РИНЦ, RSCI, Chemical Abstract, EBSCO, DOAJ, CrossRef

При перепечатке ссылка на «Сорбционные и хроматографические процессы» обязательна

Адрес редакции, издателя:
394018, Воронеж, Университетская пл., 1,
Воронежский государственный
университет
Тел. (473) 220-89-32.
E-mail: journal@chem.vsu.ru
http://www.sorpchrom.vsu.ru

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

В.Ф. Селеменев, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

А.К. Буряк, д-р хим.наук, проф. (ИФХЭ РАН, Москва)

О.Б. Рудаков, д-р хим.наук, проф. (ВГТУ, Воронеж)

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

О.В. Бобрешова, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

Е.В. Бутырская, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

В.И. Васильева, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

А.М. Долгоносков, д-р хим. наук, вед. науч. сотр.

(ГЕОХИ РАН, Москва)

А.Н. Зяблов, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

А.Т. Епринцев, д-р биол.наук, проф. (Воронеж)

В.А. Иванов, д-р хим.наук, проф. (МГУ, Москва)

А.И. Калинин, д-р хим.наук, проф. (ИФХЭ РАН, Москва)

С.И. Карпов, д-р хим.наук, доц. (Воронеж)

Т.А. Кравченко, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

С.Н. Ланин, д-р хим.наук, проф. (МГУ, Москва)

Ю.А. Лейкин, д-р хим.наук, проф. (РХТУ, Москва)

В.М. Мухин, д-р техн.наук, проф. (НПО «Неорганика»,
Электросталь)

Б.Ф. Мясоедов академик РАН, д-р хим.наук, проф.

(ИФЭХ РАН, Москва)

П.Н. Нестеренко д-р хим.наук, проф. (МГУ, Москва)

И.А. Платонов, д-р техн.наук, проф. (СГАУ, Самара)

Т.Н. Попова, д-р биол.наук, проф. (Воронеж)

SenGupta Arup, Ph.D., prof. (Lehigh University,
Bethlehem, U.S.A)

С.М. Староверов, д-р хим.наук (МГУ, Москва)

Р.Х. Хамизов, д-р хим.наук (ГЕОХИ РАН, Москва)

В.Ю. Хохлов, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

В.А. Шапошник, д-р хим.наук, проф. (Воронеж)

О.А. Шпигун, член-корреспондент РАН (МГУ, Москва)

Ответственные секретари:

И.В. Воронюк, канд. хим.наук (Воронеж)

Л.Н. Коломиец, канд. хим.наук (ИФЭХ РАН, Москва),

Материалы журнала доступны по лицензии Creative Commons
"Attribution" («Атрибуция») 4.0



©Воронежский государственный университет, 2023

SORPTION AND CHROMATOGRAPHY PROCESSES

Scientific journal
Published 6 times per year

Volume 23, No 3, 2023

ISSN 1680-0613

FOUNDER:

Voronezh State University

Journal was founded in December 2000

Journal has been registered by Federal Service for Supervision for Compliance with the Law in the Sphere of Mass Communications and Cultural Heritage Protection. Certificate PI № FS 77-28319 from 15 June 2007.

The journal is included in the List of Russian Peer-Reviewed Scientific Journals recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science that publishes dissertation abstracts submitted as partial fulfillment of the requirements for the degrees of Candidate and Doctor Sciences.

The journal accepts publications and articles on specialties: 1.4.1. Non-organic chemistry (chemical sciences), 1.4.2. Analytical Chemistry (Chemical sciences), 1.4.4. Physical Chemistry (Chemical sciences), 1.4.6. Electrochemistry (Chemical sciences), 1.4.7. High Molecular Compounds (Chemical sciences), 1.4.9. Bioorganic Chemistry (Chemical sciences), 1.4.10. Colloidal Chemistry (chemical sciences), 1.5.4. Biochemistry (biological sciences), 1.5.6. Biotechnology (biological sciences), 1.5.6. Biotechnology (Chemical sciences)

Journal is indexed: Russian Scientific Index Citations, Scopus, Chemical Abstract, EBSCO, DOAJ, CrossRef

Editorial Board Office, Publisher:
1, Universitetskaya pl., 394018,
Voronezh, Russian Federation
Phone number +7 (473) 220-89-32.

E-mail: journal@chem.vsu.ru
<http://www.sorpchrom.vsu.ru>

EDITOR-IN-CHIEF:

V.F. Selemenev, Prof., Dr.Sc. (Voronezh)

DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

A.K. Buryak, Dr.Sc., Prof. (IPCE RAS, Moscow)

O.B. Rudakov, Dr.Sc., Prof. (VSTU, Voronezh)

EDITORIAL BOARD:

O.V. Bobreshova, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

E.V. Butyrskaya, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

V.I. Vasil'eva, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

A.M. Dolgonosov, Leading scientific researcher (GEOKHI RAS, Moscow)

A.N. Zyablov, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

A.T. Eprintcev, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

V.A. Ivanov, Dr.Sc., Prof. (MSU, Moscow)

A.I. Kalinichev, Dr.Sc., Prof. (IPCE RAS, Moscow)

S.I. Karpov, Dr. Sc., Assoc. Prof. (Voronezh)

T.A. Kravchenko, Dr. Sc., Prof. (Voronezh)

S.N. Lanin, Dr.Sc., Prof. (MSU, Moscow)

Yu.A. Leykin, Dr.Sc., Prof. (MUCTR, Moscow)

V.M. Mukhin, Dr.Sc., Prof. (SPA «Neorganika», Electrosal')

B.F. Myasoedov, Academician of the RAS, Dr.Sc., Prof. (IPEC RAS, Moscow)

P.N. Nesterenko, Dr.Sc., Prof. (MSU, Moscow)

I.A. Platonov, Dr.Sc., Prof. (SSAU, Samara)

T.N. Popova, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

SenGupta Arup, Ph.D., prof. (Lehigh University, Bethlehem, U.S.A)

S.M. Staroverov, Dr.Sc., Prof. (MSU, Moscow)

R.Kh. Khamizov, Dr.Sc., Prof. (GEOKHI RAS, Moscow)

V.Yu. Khokhlov, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

V.A. Shaposhnik, Dr.Sc., Prof. (Voronezh)

O.A. Shpigun, corresponding member of the RAS (MSU, Moscow)

Responsible secretaries:

I.V. Voronyuk, Ph.D. (Voronezh)

L.N. Kolomietz, Ph.D. (IPCE RAS, Moscow)

When reprinting the materials, a reference to the Sorption and Chromatography Processes must be cited

All the material of the journal are available under Creative Commons Attribution 4.0 license



© Voronezh State University, 2023

СОРБЦИОННЫЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

2023, Том 23, №3



Выходит 6 раз в год

CONTENTS

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- | | | |
|--|---------|---|
| <p>Гавлина О.Т., Иванов В.А.
Двухтемпературная безреагентная ионообменная очистка хлорида лития от примесей</p> | 318-330 | <p>Gavlina O.T, Ivanov V.A.
Two-temperature reagent-free ion-exchange purification of lithium chloride from impurities.</p> |
| <p>Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Москалева Т.А., Шпигун О.А.
Исследование механизмов удерживания профенов и β-блокаторов на полимерном наногибридном сорбенте с эремомицином</p> | 331-342 | <p>Prosuntsova D.S., Ananieva I.A., Moskaleva T.A., Shpigun O.A.
Sorbent for HPLC based on copolymer of styrene and divinylbenzene with gold nanoparticles stabilized by eremomycin</p> |
| <p>Платонов И.А., Платонов В.И., Агафонов А.Н., Андреев Т.А., Миланина К.И., Дюжев Н.А., Чиченков М.Ю., Парамонов В.В.
Технология создания и исследование газодинамических характеристик микрофлюидных газохроматографических колонок на кремниевых подложках</p> | 343-350 | <p>Platonov I.A., Platonov V.I., Agafonov A.N., Andreev T.A., Milanina K.I., Dyuzhev N.A., Chichenkov M.Yu., Paramonov V.V.
Technology for the production and studying the gas-dynamic characteristics of microfluidic gas chromatographic columns on silicon substrates</p> |
| <p>Яшин А.Я., Яшин Я.И.
Определение антоцианинов методами ВЭЖХ (обзор)</p> | 351-359 | <p>Yashin A.Ya., Yashin Ya.I.
Determination of anthocyanins by HPLC methods (review)</p> |
| <p>Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф.
Сорбционные процессы в системе «6-метилурацил–сверхсшитый полимер»</p> | 360-372 | <p>Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenev V.F.
Sorption processes in the "6-methyluracil-super-cross-linked polymer" system</p> |
| <p>Matyushin D.D., Sholokhova A.Yu.
Extraction of information about the molecule structure directly from GC-MS data</p> | 373-383 | <p>Matyushin D.D., Sholokhova A.Yu.
Extraction of information about the molecule structure directly from GC-MS data</p> |
| <p>Томина Е.В., Ходосова Н.А., Мануковская В.Е., Лукин А.Н., Корчагина А.Ю.
Влияние ультразвуковой обработки на сорбционно-поверхностные характеристики березового биоугля</p> | 384-394 | <p>Tomina E.V., Khodosova N.A., Manukovskaya V.E., Lukin A.N., Korchagina A.Yu.
The effect of ultrasonic treatment on the sorption-surface characteristics of birch biochar</p> |
| <p>Сыпко К.С., Губин А.С., Кушнир А.А., Суханов П.Т.
Применение магнитных углей, полученных из растительного сырья на основе шелухи риса, для извлечения хлорфеноксисукусных кислот и их метаболитов</p> | 395-404 | <p>Sypko K.S., Gubin A.S., Kushnir A.A., Sukhanov P.T.
The use of magnetic carbons obtained from vegetable raw materials based on rice husks for the extraction of chlorophenoxyacetic acids and their metabolites</p> |

<p>Куликова Т.И., Кузнецова О.В., Арсеньев М.В. Оценка параметров липофильности производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатахина методом ВЭЖХ с обращенной фазой</p> <p>Майоров Д.В. Влияние поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости на структурно-поверхностные свойства диоксида кремния, получаемого из нефелинсодержащего сырья</p> <p>Селиванова Н.В., Бакарев М.Ю., Быстрова Д.С., Епринцев А.Т. Использование препарата малатдегидрогеназы, полученного хроматографическим способом, для специфического проявления фумаратгидратазы из гепатоцитов крыс</p> <p>Редько Ю.А., Гончарова С.С. Лавлинская М.С., Сорокин А.В., Юдин Н.Е., Кондратьев М.С., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Разработка гибридных биокатализаторов на основе комплексов фицина и папаина с сульфатом хитозана и изучение их структурных особенностей</p> <p>Некрологи</p>	<p>405-412</p> <p>413-425</p> <p>426-434</p> <p>435-443</p> <p>444-447</p>	<p>Kulikova T.I., Kuznetsova O.V., Arseniev M.V. Estimation of lipophilicity parameters of 3,5-di-tert-butylpyrocatechol by reverse phase HPLC</p> <p>Maierov D.V. The influence of surface tension of interstitial fluid on the structural and surface properties of silicon dioxide obtained from nepheline-containing raw materials</p> <p>Selivanova N.V., Bakarev M.Yu., Bystrova D.S., Yeprintsev A.T. The use of malate dehydrogenase preparation, obtained by the chromatographic method, for the specific staining of fumarate hydratase from rat hepatocytes</p> <p>Redko Yu.A., Goncharova S.S., Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V., Yudin N.E., Kondratyev M.S., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. Development of the hybrid biocatalysts obtaining based on ficin and papain complexes with chitosan sulfate and the study of their structural features</p> <p>Necrology</p>
--	--	--



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11312

Двухтемпературная безреагентная ионообменная очистка хлорида лития от примесей

Ольга Тихоновна Гавлина, Владимир Александрович Иванов[✉]

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,
minilana@mail.ru[✉]

Аннотация. Освоение природного гидроминерального сырья с целью выделения лития сталкивается с проблемой его отделения и очистки от сопутствующих соединений натрия, магния, кальция и других веществ. Смешанные растворы образуются и при регенерации лития из тех или иных использованных продуктов. При решении такого рода задач часто используют ионный обмен. Но в традиционных ионообменных процессах приходится использовать вспомогательные реагенты для их регенерации. В настоящей работе рассмотрена возможность использования техники безреагентного двухтемпературного ионного обмена для очистки лития от ионов первой и второй групп. Предложена и экспериментально подтверждена схема безреагентной очистки 1 н раствора LiCl от примесей CaCl₂ и KCl, включающая последовательные операции двухтемпературной ионообменной очистки от CaCl₂ методом параметрического перекачивания на полиметакриловом катионите и последующей двухтемпературной ионообменной очистки от KCl методом параметрического перекачивания на синтетическом цеолите А. Определена величина дифференциальной энтальпии обмена ионов кальция на ион лития из раствора состава 1.0 н LiCl – 0.02 н KCl – 0.01 н CaCl₂, составившая 7.7 кДж/г-экв. Показано, что при повышении температуры селективность обмена ионов лития и калия на цеолитах А и X значительно снижается. Этот эффект характеризуется высокими значениями дифференциальной энтальпии обмена ~ -20 кДж/г-экв.
Ключевые слова: ионный обмен, безреагентное двухтемпературное разделение, параметрическое перекачивание, очистка хлорида лития, дифференциальная энтальпия.

Благодарности: работа выполнена в рамках госзадания (тема № 121031300090-2)

Для цитирования: Гавлина О.Т., Иванов В.А. Двухтемпературная безреагентная ионообменная очистка хлорида лития от примесей // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 318-330. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11312>

Original article

Two-temperature reagent-free ion-exchange purification of lithium chloride from impurities

Olga T. Gavlina, Vladimir A. Ivanov[✉]

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, minilana@mail.ru[✉]

Abstract. The development of natural hydro-mineral raw materials for the isolation of lithium is complicated by its separation and purification from the accompanying compounds of sodium, magnesium, calcium and other substances. Mixed solutions are also formed during the regeneration of lithium from various used products. Ion exchange is often used as a solution to such problems. However, in traditional ion-exchange processes it is necessary to use auxiliary reagents for their regeneration. In the present study, we considered the possibility of using the reagentless two-temperature ion exchange method for purification of lithium from ions of the first and second groups. A scheme of reagentless purification of 1 N LiCl solution from CaCl₂ and KCl impurities



was proposed and experimentally confirmed. This scheme includes successive operations of two-temperature ion-exchange purification from CaCl_2 by the parametric pumping method using polymethacrylic cation exchanger and subsequent two-temperature ion-exchange purification from KCl by the parametric pumping on synthetic zeolite A. The differential enthalpy value of exchange of calcium ions for lithium ion from a solution containing 1.0 N LiCl – 0.020 N KCl – 0.01 N CaCl_2 , amounting to 7.7 kJ/g-eq, was determined. It was shown that with increasing temperature, the selectivity of the exchange of lithium and potassium ions on zeolites A and X decreases significantly. This effect is characterized by high values of the differential exchange enthalpy ~ -20 kJ/g-eq.

Keywords: ion exchange, reagentless two-temperature separation, parametric pumping, lithium chloride purification, differential enthalpy.

Acknowledgments: the work was carried out in accordance with the state assignment (No. 121031300090-2).

For citation: Gavlina O.T, Ivanov V.A. Two-temperature reagent-free ion-exchange purification of lithium chloride from impurities. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 318-330. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11312>

Введение

Литий, до 1990-е года имевший достаточно узкое применение в небольшом числе сфер, в наши дни относится к стратегическим элементам и потребности в нем только возрастают. Спрос на литий и его соединения превышает предложение, поэтому во всем мире идет поиск источников лития и развитие его производства как из рудных, так и из гидроминеральных источников. Остро стоит и проблема регенерации лития из отработанных изделий.

Освоение природного гидроминерального сырья с целью выделения лития сталкивается с проблемой его отделения и очистки от сопутствующих соединений натрия, магния, кальция и других веществ. Смешанные растворы образуются и при регенерации лития из тех или иных использованных продуктов. В настоящей работе речь идет о возможности использования техники безреагентного двухтемпературного ионного обмена для очистки от лития от ионов первой и второй групп.

Обычно в процессах на ионообменниках используют вспомогательные реагенты для их регенерации. В то же время, при ионообменных separations на полимерных ионообменных смолах и на цеолитах за счет влияния температуры на сорбируемость тех или иных веществ удается значительно снизить или даже обходиться без использования вспомогательных реактивов [1-3].

Первым и наиболее известным процессом такого типа является *Sirotherm-процесс* обессоливания умеренно минерализованных («brackish») вод, предложенный и реализованный в 1960-х годах в Австралии ([4-10].), с использованием специальных смол со слабоосновными аминогруппами и слабокислотными карбоксильными группами. Природная минерализованная вода непрерывно пропускается через колонну с ионитом, температура меняется в определенные моменты. В «холодной» стадии NaCl сорбируется и его концентрация в фильтрате оказывается значительно сниженной. Далее температуру повышают, понижая сорбируемость, и в результате пропускания горячей исходной воды через ионит его регенерируют, вытесняя «избыточное» количество хлорида натрия.

Также описаны двухтемпературные процессы безреагентной очистки концентрированных растворов солей щелочных металлов от примесей ионов двухзарядных элементов на полиакриловых и метакриловых катионитах [11-15], концентрирования бромидов из морской воды [16-19] и иодида из природных рассолов на сильноосновном анионите [20, 21] и другие.

Двухтемпературные ионообменные процессы разделения возможно проводить и на цеолитах. Их ионообменные свойства описаны во многих работах достаточно подробно ([22-27]). Поэтому

уже давно было показано, что на цеолитах температура также может влиять на равновесие ионного обмена; при этом в отдельных системах значения энтальпии ионного обмена достигают высоких значений 15 – 20 кДж/г-экв. Для определенной пары ионов эффект влияния температуры зависит от типа цеолита и его кристаллической структуры. Имеющиеся в литературе данные в основном достаточны для того, чтобы выбрать тип цеолита, на котором влияние температуры наиболее значительно.

В работах [28, 29] предложен процесс концентрирования калия из морской воды на природном цеолите клиноптилолите с целью получения удобрения в виде калийной формы клиноптилолита (процесс также описан в обзорных работах [2, 3]). Значительное влияние температуры было обнаружено для обмена ионов щелочных металлов на синтетических и природных алюмосиликатах: K^+-Na^+ на клиноптилолите, Cs^+-Na^+ и K^+-Li^+ на клиноптилолите и цеолите Y, Na^+-Li^+ на цеолитах X и Y [30, 31]. При этом наиболее сильное влияние температуры проявляется в области малых содержаний прочнее сорбируемого компонента. Показаны возможности двухтемпературного разделения бинарных смесей солей щелочных металлов, в том числе с использованием техники параметрического перекачивания.

В патенте [32] был предложен двухтемпературный ионообменный процесс извлечения лития из концентрированных растворов хлорида натрия на цеолите. Такие растворы образуются при подготовке цеолитных адсорбентов в форме ионов лития, которые коммерчески используют для разделения и очистки определенных газов методом короткоциклового адсорбции. В данном патенте заявлена и возможность извлечения щелочных металлов (в частности, лития) из смесей с солями щелочноземельных металлов на «подходящем сорбенте со значительным

влиянием температуры на сорбируемость», однако никакой конкретной информации о таком сорбенте не сказано.

В данной работе рассматривается задача двухтемпературной очистки солей щелочных металлов (на примере раствора LiCl) от примеси одновременно присутствующих солей щелочных и щелочноземельных металлов с использованием техники параметрического перекачивания, позволяющего умножать эффект разделения, достигаемый при однократном изменении температуры.

Выбор схемы двухтемпературной очистки раствора соли щелочного металла от примесей двухзарядных и однозарядных металлов. При решении этой задачи необходимо учитывать противоположное влияние температуры на селективность взаимного обмена однозарядных ионов и на селективность обмена однозарядных ионов на двухзарядные на ионитах. Известно [12-15, 18, 22-27, 30, 31, 33-39], что при обмене однозарядных ионов повышение температуры снижает селективность как на полимерных, так и на неорганических ионитах, а при обмене однозарядных и двухзарядных ионов - наоборот увеличивает. При этом на обмен однозарядных ионов температура сильнее влияет в случае цеолитов. Это означает, что двухтемпературная очистка от примесей щелочных металлов на цеолите может сопровождаться концентрированием сопутствующих примесей двухзарядных ионов. В то же время на обмен разнозарядных ионов влияние температуры сильнее для полиакриловых и полиметакриловых ионитов. Следовательно, очистка от одновременно присутствующих примесей однозарядных и многозарядных ионов может быть достигнута последовательным использованием карбоксильного катионита, на котором будет происходить очистка от двухзарядных ионов, в то время как

примеси однозарядных ионов концентрироваться практически не будут, и последующим использованием цеолита.

Непосредственному осуществлению разделения по схеме параметрического перекачивания предшествуют экспериментальные стадии, в ходе которых выбирается объем раствора для параметрического перекачивания. Экспериментальное исследование, проведенное в данной работе для раствора 1н LiCl + 0.02 н KCl + 0.01 н CaCl₂, включает следующие этапы: 1) очистка исходного раствора на карбоксильном катионите от CaCl₂ в результате однократного изменения температуры и определение объема раствора для эксперимента по параметрическому перекачиванию; 2) очистка установленного объема исходного раствора по схеме параметрического перекачивания от CaCl₂; 3) однократная очистка продуктового раствора 2-ой стадии на цеолитах типа А и Х от ионов калия и определение объема раствора для эксперимента по параметрическому перекачиванию; 4) очистка установленного объема продуктового раствора 2-ой стадии от ионов калия на цеолите по схеме параметрического перекачивания от кальция. Кроме того 5-ым и 6-ым этапами было изучение влияния температуры на энтальпию обмена ионов лития и калия на цеолите А и влияния температуры на селективность цеолита А при обмене этих ионов.

Экспериментальная часть

Использовали полиметакриловый катионит КБ-4П2 и натриевые формы цеолитов А и Х с размерами частиц 0.25-0.5 мм. Для обоих цеолитов определяли обменные емкости по натрию (вытесняя его 0.1 н раствором NH₄Cl) и по иону аммония (вытесняя его 1 н раствором LiCl). Оба образца обладали высокими обменными емкостями по Na⁺ (4.6 и 4.0 мг-экв/г) и по NH₄⁺ (3.7 и 3.4 мг-экв/г). При

этом емкость на цеолите А оказалась несколько выше, чем на цеолите Х, что согласуется с известными сведениями о соотношениях алюминия и кремния в них [23].

Этап 1. Использовали термостатируемую колонну диаметром 1.2 см с ионитом КБ-4П2 высотой слоя в Li⁺-форме 82 см. В начале ионит в Li⁺-форме привели в равновесие с раствором 0.98 н LiCl + 0.02 н KCl + 0.01 н CaCl₂ с pH 8.9, пропуская его избыток при температуре 295 К. Далее колонну нагрели до 363 К и сверху вниз пропустили термостатируемый при той же температуре тот же раствор. После того, как содержание Ca²⁺ в фильтрате стало равным содержанию в исходном растворе, температуру понизили до 295 К и пропустили тот же исходный раствор. Из выходных кривых (рис. 1) установили, что для последующего параметрического разделения смеси следует взять 5300 см³ исходного раствора.

Этап 2. В той же колонне, что и на предыдущем этапе, ионит КБ-4П2 привели в равновесие с исходным раствором того же состава, пропуская его избыток при температуре 293 К. Далее колонну нагрели до 363 К и сверху вниз пропустили 5300 см³ того же исходного раствора с той же температурой. Фильтрат собрали в один объем и проанализировали состав. Во второй части цикла колонну охладили до температуры 293 К и весь объем собранного в «горячей» стадии раствора пропустили через нее в противоположном направлении (снизу вверх) при температуре 293 К (для предотвращения перемешивания слоя ионит сверху был поджат фильтрующей прокладкой). Во втором цикле фильтрат, собранный из верхней части в первом цикле при температуре 293 К, вновь пропустили через колонку сверху вниз при температуре 363 К, а затем фильтрат этой стадии пропустили снизу вверх при температуре 293 К. Далее цикл «горячей» и

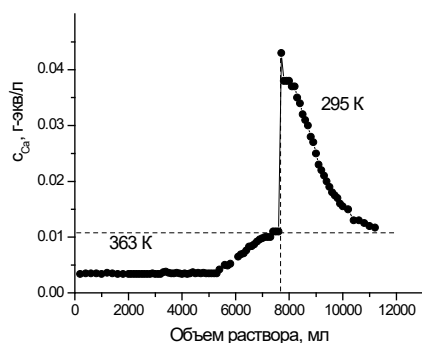


Рис. 1. Распределение концентрации иона Ca^{2+} в фильтрате при пропускании раствора 1 н $\text{LiCl} + 0.02$ н $\text{KCl} + 0.011$ н CaCl_2 через полиметакриловый катионит КБ-4П2. Высота слоя ионита 82 см. Диаметр 1.2 см. Скорость раствора $2.8 \text{ cm}^3/\text{мин}$.
 Fig. 1. The Ca^{2+} ion concentration distribution in the filtrate when the solution of 1 N $\text{LiCl} + 0.02$ N $\text{KCl} + 0.011$ N CaCl_2 was passed through polymethacrylic cation exchanger KB-4P2. The height of the ion exchanger layer was 82 cm. The diameter was 1.2 cm. The solution flow rate was $2.8 \text{ cm}^3/\text{min}$.

«холодной» фильтрации таким же образом повторили некоторое число раз. В фильтрате «горячих» стадий постепенно понижалась концентрация кальция, а в фильтрате «холодных» стадий - повышалась. Процесс прекратили по завершении очередной «горячей» стадии. Результаты представлены на рис. 2.

Этап 3. На данном этапе были проведены три эксперимента, различавшихся типом цеолита и составом раствора. Первый эксперимент проводили на цеолите А с раствором состава 0.019 н $\text{KCl} - 1$ н LiCl . В начале цеолит привели в равновесие, пропуская избыток исходного раствора при температуре 368 К. Далее колонну охладил до 296 К и через слой цеолита сверху вниз пропустили термостатируемый при той же температуре исходный раствор. После того, как состав фильтрата стал равным составу исходного раствора, колонну вновь нагрели до 368 К и пропустили тот же исходный раствор (рис. 3).

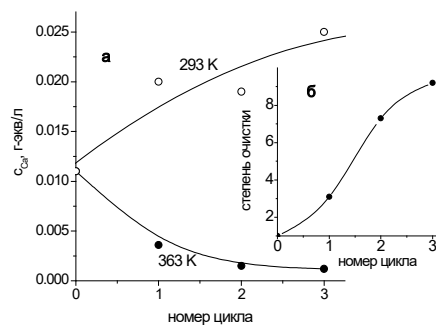


Рис. 2. Очистка исходного раствора 0.98 н $\text{LiCl} + 0.021$ н $\text{KCl} + 0.011$ н CaCl_2 на катионите КБ-4П2 от Ca^{2+} по методике параметрического перекачивания. Объем раствора 5300 мл. Высота слоя ионита 82 см, диаметр колонки 1.2 см. Скорость раствора $2.8 \text{ cm}^3/\text{мин}$.

Fig. 2. Purification of the initial solution of 0.98 N $\text{LiCl} + 0.021$ N $\text{KCl} + 0.011$ N CaCl_2 on the cation exchanger KB-4P2 from Ca^{2+} using parametric pumping method. The volume of the solution is 5300 ml. The height of the ion exchanger layer was 82 cm, the column diameter was 1.2 cm. The solution flow rate was $2.8 \text{ cm}^3/\text{min}$.

Затем по аналогичной методике провели эксперименты на цеолите X (рис. 4), а также вновь на цеолите А с аналогичным раствором, но содержащим также небольшую примесь ионов кальция (состав раствора соответствовал достигнутой степени очистки на этапе 2) (рис. 5).

Этап 4. Использовали ту же термостатируемую колонну с цеолитом типа А, что и на предыдущем этапе. Исходный раствор содержал 0.93 н $\text{LiCl} + 0.019$ н $\text{KCl} + 0.0012$ н CaCl_2 . Порядок операций был тем же, что и на этапе 2, однако стадии фильтрации сверху вниз проводились при температуре 295 К, а стадии фильтрации снизу вверх – при температуре 368 К. Процесс прекратили по завершении очередной «холодной» стадии. Результаты представлены на рис. 6.

Этап 5. Была предпринята оценка влияния температуры на энтальпию обмена ионов лития и калия на цеолите А (данные по влиянию температуры на энтальпию обмена ионов кальция и натрия на

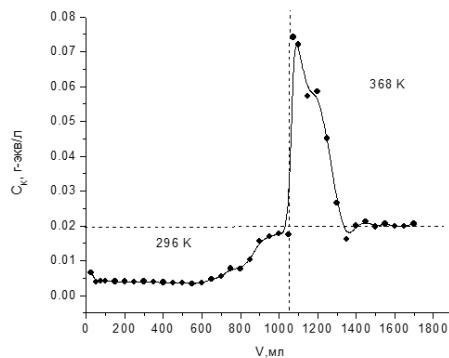


Рис. 3. Распределение концентрации иона K^+ в фильтрате при пропускании раствора 1 н $LiCl + 0.019$ н KCl через цеолит А. Высота слоя цеолита 21 см, диаметр колонны 1 см, скорость раствора с 1.0-1.2 cm^3/min .

Fig. 3. The K^+ ion concentration distribution in the filtrate when the solution of 1 N $LiCl + 0.019$ N KCl was passed through zeolite A. The height of the zeolite layer was 21 cm, the column diameter was 1 cm, the solution flow rate was 1.0-1.2 cm^3/min .

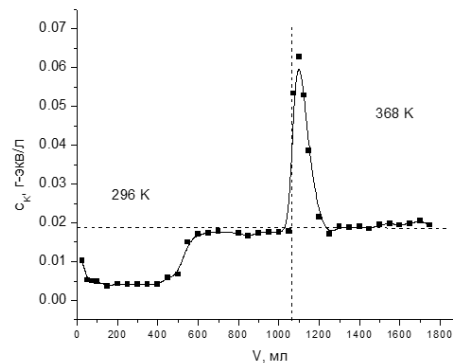


Рис. 4. Распределение концентрации иона K^+ в фильтрате при пропускании раствора 1 н $LiCl + 0.019$ н KCl через цеолит Х. Высота слоя цеолита 21 см, диаметр колонны 1 см, скорость раствора с 1.0-1.2 cm^3/min .

Fig. 4. The K^+ ion concentration distribution in the filtrate when the solution of 1 N $LiCl + 0.019$ N KCl was passed through zeolite X. The height of the zeolite layer was 21 cm, the column diameter was 1 cm, the solution flow rate was 1.0-1.2 cm^3/min .

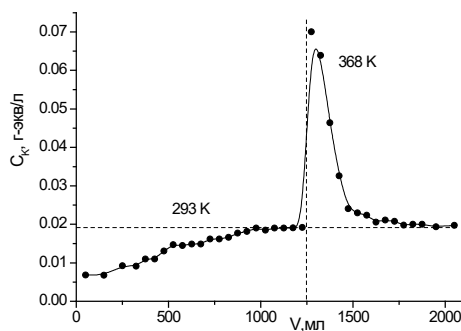


Рис. 5. Распределение концентрации иона K^+ в фильтрате при пропускании раствора 1 н $LiCl + 0.019$ н $KCl + 0.0012$ н $CaCl_2$ через цеолит А. Высота слоя ионита 21 см. Диаметр колонны 1 см. Скорость раствора 1.0-1.2 cm^3/min .

Fig. 5. The K^+ ion concentration distribution in the filtrate when the solution of 1 N $LiCl + 0.019$ N $KCl + 0.0012$ N $CaCl_2$ was passed through zeolite A. The height of the zeolite layer was 21 cm, the column diameter was 1 cm, the solution flow rate was 1.0-1.2 cm^3/min .

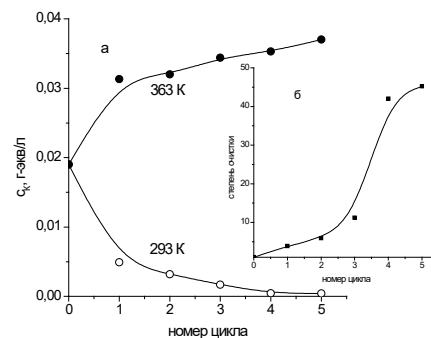


Рис. 6. Очистка раствора 1.03 н $LiCl + 0.020$ н $KCl + 0.0012$ н $CaCl_2$ от иона калия на цеолите А по методике параметрического перекачивания. Высота слоя ионита 21 см. Диаметр колонны 1.2 см. Скорость раствора 1.0-1.2 cm^3/min . Объем раствора 250 cm^3 .

Fig. 6. The purification of 1.03 N $LiCl + 0.020$ N $KCl + 0.0012$ N $CaCl_2$ solution from potassium ion using zeolite A by the parametric pumping method. The height of the zeolite layer was 21 cm, the column diameter was 1 cm, the solution flow rate was 1.0-1.2 cm^3/min . The volume of the solution was 250 cm^3 .

полиметакриловом катионите изложены в работах [14, 15, 40, 41]). Эксперименты были аналогичны экспериментам 3-его этапа, но проводились последовательно в нескольких более узких температурных

интервалах. Составы растворов и температуры указаны далее в таблице. В «холодной» стадии в фильтрате концентрация K^+ оказывалась значительно сниженной по сравнению с исходной, а, а состав

ионита при этом изменялся крайне мало (не более 2%).

Этап 6. Изучали влияние температуры на селективность цеолита А при обмене ионов лития и калия. Для этого 4 г цеолита А в колонке приводили в равновесие с растворами 1.0 н LiCl с разными небольшими концентрациями KCl при заданной температуре, пропуская избытки данных растворов. После этого раствор отделяли от ионита водоструйным насосом и сорбированные ионы вытесняли из цеолита 0.5 н раствором NH₄Cl. Фильтрат анализировали и по результатам анализа раствора и ионита рассчитывали коэффициент селективности и дифференциальную энергию Гиббса. Условия и результаты представлены в таблице.

Расчет характеристик равновесных и термодинамических характеристик ионного обмена (этапы 1, 3, 5 и 6)

Этап 1. На основании выходной кривой на рис. 1 была рассчитана дифференциальная энтальпия обмена ионов лития и кальция по соотношению

$$\Delta H_{\bar{n}} = \frac{RT_1T_2}{T_2-T_1} \left[\ln \frac{(c_{Ca}^{1/2})_{T_1}}{(c_{Ca}^{1/2})_{T_2}} \right]_{\bar{n}} \quad (1)$$

которое получено в работах [14, 15, 40, 41]) при условии, что на селективном полиметакриловом катионите в таком эксперименте при изменении температуры состав ионита изменялся очень мало и концентрация макрокомпонента Li⁺ в выходящем растворе также изменялись очень мало (меньше погрешностей независимого определения этих величин). Кроме того, как было показано в работе [14], влияние температуры на соотношение коэффициентов активности обменивающихся ионов также вносит незначительный вклад в величину энтальпии обмена.

Подстановка экспериментальных значений данного опыта дало значение $\Delta H_{\bar{n}} \approx 7.7$ кДж/г-экв, являющееся средним для температурного интервала 295 К - 363 К.

Этапы 3, 5 и 6.

Соотношения для расчета коэффициентов равновесия, дифференциальной энергии Гиббса и энтальпии обмена ионов Li⁺ и K⁺ на цеолитах записывали в виде:

$$\tilde{k} = \frac{y_K}{y_{Li}} \cdot \frac{c_{Li}}{c_K} \quad (2)$$

$$\Delta G_{\bar{n}} = -RT \ln \left(\frac{c_{Li}}{c_K} \right)_{\bar{n}} \quad (3)$$

$$\Delta H_{\bar{n}} = \frac{RT_1T_2}{T_2-T_1} \left[\ln \frac{(c_K)_{T_1}}{(c_K)_{T_2}} \right]_{\bar{n}} \quad (4)$$

При записи соотношений (3) и (4) пренебрегали соотношениями коэффициентов активностей электролитов в растворе, также как и влиянием температуры на него, т.к. расчетом по программе Питцера было показано, что соотношение коэффициентов активности ионов калия и лития в рассматриваемых растворах были очень близки к единице. При выводе соотношений для расчета дифференциальной энтальпии обмена ионов на цеолитах использовали те же предположения, что и в предыдущем случае.

Подстановка экспериментальных значений этапа 3 на цеолитах А и Х (рис. 3 и 4) дала значения (погрешность ~20%) $\Delta H_{\bar{n}}$, равные - 21 кДж/г-экв и - 18 кДж/г-экв, являющиеся средними для температурного интервала 296 К - 368 К. Результаты 5 и 6 этапов представлены в таблице (погрешность определения \tilde{k} составляет ~15% и погрешность определения ΔH составляет ~30%).

Обсуждение результатов

Из выходной кривой на рис. 1 видно, что с повышением температуры от 295 К до 363 К происходит снижение концентрации иона Ca²⁺ в растворе LiCl в три раза, а при регенерации ионита (при комнатной температуре) тем же исходным раствором концентрация Ca²⁺ в выходящем растворе значительно повышается по сравнению с исходной. Эти данные свидетельствуют о том, что селективность ионита к двухзарядному иону увеличивается с температурой. Увеличение селективности ионита при повышении



Таблица. Результаты экспериментального изучения влияния температуры на равновесие обмена ионов лития и калия на цеолите А.

Table. Results of an experimental study of the effect of temperature on the equilibrium of lithium and potassium ion exchange on zeolite A.

№	Т, К	u_{K^+}	Состав равновесного раствора, г-экв/дм ³		\tilde{k}	$\Delta G_{\tilde{n}}$	$\Delta H_{\tilde{n}}$
			c_{K^+}	c_{Li^+}			
1	295	0.12	0.0041	1.0	32.7	-13.5	-22
2	314	0.12	0.0071	1.0	19.0	-12.9	
3	335	0,066	0.012	1.0	5.89	-12.3	-16
4	368	0.087	0.02	0.855	4.05	-11.5	

температуры от 298 К до 368 К характеризуется достаточно высоким средним значением дифференциального изменения энтальпии 7.7 кДж/г-экв, которое однако несколько ниже, чем в ранее изученном случае обмена ионов кальция и натрия на том же ионите (~12 кДж/г-экв для того же температурного интервала, как следует из данных работы [40]).

При параметрическом перекачивании раствора тройной смеси хлоридов лития, калия и кальция на полиметакриловом катионите КБ-4П2 достигнута высокая степень очистки раствора от ионов кальция (рис. 2). При этом концентрация калия в растворе, как и предполагалось, практически не изменялась. В данном эксперименте стационарная концентрация примеси кальция в растворе достигнута не была, так как в таких растворах не удавалось надежно определять столь низкие концентрации кальция.

Очистка хлорида лития от примеси калия эффективно происходит на обоих цеолитах А и X. В то же время несколько больший объем очищаемого раствора получается на цеолите А (рис. 3 и 4). На обоих цеолитах при повышении температуры селективность обмена ионов лития

Список литературы

1. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Drozdova N.V. The role of temperature in ion exchange processes of separation and purification. // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996. Vol. 208, No 1, P. 23-45.

и калия значительно снижается (таблица). Этот эффект характеризуется высокими значениями дифференциальной энтальпии обмена ~ -20 кДж/г-экв. При этом зависимость энтальпии от температуры надежно не зафиксирована. В то же время примесь кальция в растворе заметно ухудшает очистку лития от калия. Это означает, что на втором этапе лучше достигать более глубокой очистки щелочных металлов от кальция.

При параметрическом перекачивании на цеолите А происходит эффективная достаточно глубокая очистка хлорида лития от примеси калия.

Заключение

По выбранной схеме на полиметакриловом катионите и цеолите А удается без использования вспомогательных реактивов производить ионообменную очистку хлорида лития от кальция и калия.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

2. Khamizov R.Kh., Ivanov V.A., Tikhonov N.A. Dual temperature methods of separation and concentration of elements in ion exchange columns, in: *Ion Exchange and Solvent Extraction: A Series of Advances*



- (Ed.: A.K. SenGupta). Taylor & Francis Group, CRC Press, 2010. Vol. 20. P. 171-232.
3. Khamizov R.Kh., Ivanov V.A., Madani A.A. Dual-temperature ion exchange: a review. // *React. Func. Polym.* 2010. Vol. 70, No 8. P. 521-530.
4. Weiss D.E., Bolto B.A., McNeill R., Macpherson A.S., Suidak R., Swinton E.A., Willis D. An ion-exchange process with thermal regeneration. V. Multistage operation. // *Aust. J. Chem.* 1966. Vol. 19, No 6. P. 791-796.
5. Battaerd H.A.J., Blesing N.V., Bolto B.A., Cjpe A.F.G., Weis D.E., Willis D., Worboys I.C. An ion-exchange process with thermal regeneration. VIII. Preliminary pilot plant results for the partial demineralization of bracksh waters. // *Desalination.* 1973. Vol. 13, No 13. P. 217-237.
6. Bolto B.A., Eppinder K., Macpherson A.S., Sindak R., Weiss D.E., Willis I.C. An ion-exchange process with thermal regeneration. IX. A new type of rapidly reacting ion-exchange resin. // *Desalination.* 1973. Vol. 13, No 13. P. 269-285.
7. Bolto B.A., Weiss D.E. The thermal regeneration of ion-exchange resins. // In: *Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances* (Eds.: J.A.Marinsky and Y.Marcus). Marcel Dekker, Inc. New-York-Basel-Hong Kong. 1977. Vol. 7. P. 221-289.
8. Stephens G.K. Thermally regenerated ion-exchangers // In: *Ion exchange for pollution control.* CRC Press. Inc. 1979. Vol. 1. P. 129-143.
9. Bolto B.A., Eldridge R.J., Eppinger K.H., Jackson M.B. Improved resins for ion exchange with thermal regeneration. // *React. Polym.* 1984. Vol. 2, No 1-2. P. 5-12.
10. Swinton E.A., Bolto B.A., Eldridge R.J., Nadebaum P.R., Coldrey P.C. The present status of continuous ion exchange using magnetic micro-resins. // In: *Ion exchange technology.* (Eds.: Naden D. and Streat M.) London: Ellis Horwood Ltd. 1984. P. 542-563.
11. Иванов В.А., Тимофеевская В.Д., Горшков В.И., Елисеева Т.В. Способ очистки концентрированных растворов солей щелочных металлов от примесей солей элементов второй группы. *Авт. свид. СССР*, № 1611879, приор.17.02.89.
12. Иванов В.А., Тимофеевская В.Д., Горшков В.И., Елисеева Т.В. Умягчение и глубокая очистка концентрированных растворов солей щелочных металлов от примесей элементов второй группы, основанная на зависимости селективности карбоксильных катионитов от температуры. // *Высокоочист. вещества.* 1990. Т. 4, № 2. С. 133-139.
13. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I. Ion-exchange separation of alkali and alkaline earth ions in concentrated solutions based on temperature changes. // *React. Polym.* 1992. Vol. 17, No 1. P. 101-107.
14. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Drozdova N.V. The role of temperature in ion exchange processes of separation and purification. // *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles.* 1996. Vol. 208, No 1. P. 23-45.
15. Ivanov V.A., Karpyuk E.A., Gavlina O.T., Kargov S.I. Superheated solutions in dual-temperature ion exchange separations. // *React. Func. Polym.* 2018. Vol. 122, No. 1. P. 107-115.
16. Хамизов Р.Х., Фокина О.В., Сенявин М.М. Способ извлечения брома из морской воды. Патент РФ № 1726387. приор.12.04.90. Бюлл. изобр. №14, 1992.
17. Хамизов Р.Х., Фокина О.В., Иванов В.А., Горшков В.И. Способ извлечения брома из морской воды. Авт. Свид. СССР. № 1728133, приор.12.04.90. Бюлл. изобр. №15, 1992.
18. Фокина О.В., Хамизов Р.Х. Равновесие обмена Br- и Cl- на сильноосновных анионитах. // *Известия АН. Сер. Хим.* 1994. № 12. С. 2083-2089.
19. Khamizov R.Kh, Muraviev D.N., Warshawsky A. Recovery of valuable minerals from seawater by ion exchange and sorption methods. // In: *Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances.* (Eds.: J.A.Marinsky and Y.Marcus). Marcel Dekker, Inc. New-York-Basel-Hong Kong. 1995. Vol. 12. P. 93-148.
20. Ножов А.М., Хамизов Р.Х., Фокина О.В., Щурова М.В., Тихонов Н.А. Использование влияния температуры на равновесие и динамику обмена галогенидов на



- сильноосновном анионите для безреагентного разделения их смесей // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2001. Т. 1, № 3. С. 457-465.
21. Ножов А.М., Кособрюхова О.М., Хамизов Р.Х. Безреагентное концентрирование иодидов в природных растворах неизотермическими ионообменными методами. Сообщение 1. Равновесие обмена ионов J⁻ и Cl⁻ на анионите АВ-17. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2003. Т. 3, № 2. С. 159-168.
22. Breck D.W. Zeolite Molecular Sieves. Wiley & Sons. 1974. (Брек Д. Цеолитовые молекулярные сита. М.: Мир. 1976. 782 с.
23. Толмачев А.М. Исследование цеолитов как селективных ионообменников для разделения веществ и изотопов. // Сб.: *Современные проблемы физической химии*. Т. 10. (Ред.: Герасимов Я.И., Акишин П.А. и Горшкова В.И.). М.: МГУ. 1978. С. 134-190.
24. Челищев Н.В., Володин В.Ф., Крюков В.Л. Ионообменные свойства природных высококремнистых цеолитов. М.: Наука. 1988. 128 с.
25. Abe M. Ion exchange selectivities of inorganic ion exchangers. In: *Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances*. V.12. (Edited by Marinsky J.A. and Marcus Y.). New-York-Basel-Hong Kong: Marcel Dekker, Inc.. 1995. P. 381-440.
26. Тарасевич Ю.И., Поляков В.Е. Ионообменные равновесия и теплоты ионного обмена на клиноптилолите с участием однозарядных ионов. // *Теорет. exper. химия*. 1996. Т. 32 № 5. С. 315-319.
27. T. Armbruster. Clinoptilolite-heulandite: application and basic research. In: *Zeolites and mesoporous materials at the dawn of 21st century: Proceedings of the 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France*. (Eds.: A.Galarneau, F.DiRenzo, F.Fajula and J.Vedrine). Elsevier. Amsterdam. 2001. P. 13-27.).
28. Хамизов Р.Х., Мелихов С., Новикова В., Сквыра В. Способ получения калийного минерального удобрения на основе клиноптилолита. Патент РФ № 2006495. приор. 28.06.91.
29. Хамизов Р.Х. Физико-химические основы комплексного освоения минеральных ресурсов вод океана. Дисс. ... докт. хим. наук. М. ГЕОХИ РАН. 1998. 355 с.
30. Гавлина О.Т., Тимофеевская В.Д., Иванов В.А., Горшков В.И. Двухтемпературные безреагентные процессы ионообменного разделения с использованием цеолитов. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2001. Т. 1, № 3ю С. 337-343.
31. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gavlina O.T., Gorshkov V.I. Dual-temperature reagent-less ion-exchange separation of alkali metal salts on zeolites. // *Microp. Mesopor. Mater.* 2003. Vol. 65, No 2-3. P. 257-265.
32. Leavitt F.W. Thermally-driven ion-exchange process for lithium recovery. US Patent. 5681477. Date of patent 28.10.1997.
33. Bonner O.D., Smith L.L. The effect of temperature on ion-exchange equilibria. I. The sodium-hydrogen and cupric-hydrogen exchanges. // *J. Phys. Chem.* 1957. Vol. 61, No 12. P. 1614-1617.
34. Маторина А.А., Попов А.Н. Влияние температуры на состояние ионообменного равновесия. II Температурные изменения ионообменной адсорбции на сульфосолах. // *Ж. физ. химии*. 1958. Т. 32, № 12. С. 2772-2779.
35. Bonner O.D., Pruett R.R. The effect of temperature on ion-exchange equilibria. III. Exchanges involving some divalent ions. // *J. Phys. Chem.* 1959. Vol. 63, No 9. P. 1420-1423.
36. Kraus K.A., Raridom R.J. Temperature dependence of some cation exchange equilibria in the range 0 to 200°C. // *J. Phys. Chem.* 1959. Vol. 65, No 11. P. 1901-1907.
37. Kraus K.A., Raridon R.J., Holcomb D.L. Anion exchange studies: XXVI. A column method for measurement of ion exchange equilibria at high temperature. Temperature coefficient of the Br⁻ - Cl⁻ exchange reaction. // *J. Chromatogr.* 1960. Vol. 3. P. 178-189.
38. Bonner O.D., Dickel C., Brummer H. The temperature and counter-ion dependency of cation exchange equilibria. // *J. Phys. Chem.* 1960. Vol. 25. P. 81-89.
39. Boyd G.E., Vaslow F., Lindenbaum S. Calorimetric determinations of the heats of ion-exchange reactions. I. Heats of exchange



of the alkali metal cations in variously cross-linked polystyrene sulfonates. // *J. Phys. Chem.* 1964. Vol. 68, No 3. P. 590-595.

40. Иванов В.А., Гавлина О.Т., Илюхина Е. А., Горшков В.И. Влияние температуры на энтальпию обмена ионов кальция и натрия на полиметакриловых и полиакриловых катионитах. // *Журн. физич. химии.* 2007. Т. 81, № 11. С. 1927-1931.

41. Иванов В.А., Карпюк Е.А., Гавлина О.Т., Каргов С.И. Роль температурной зависимости энтальпии ионного обмена в прогнозировании поведения ионообменной системы. // *Журн. физич. химии.* 2019. Т. 93, № 10. С. 1522-1528.

References

1. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Drozdova N.V. The role of temperature in ion exchange processes of separation and purification. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996; 208(1): 23-45.

2. Khamizov R.Kh., Ivanov V.A., Tikhonov N.A. Dual temperature methods of separation and concentration of elements in ion exchange columns, in: *Ion Exchange and Solvent Extraction: A Series of Advances* (Ed.: A.K. SenGupta). Taylor & Francis Group, CRC Press, 2010; 20: 171-232.

3. Khamizov R.Kh., Ivanov V.A., Madani A.A. Dual-temperature ion exchange: a review. *React. Func. Polym.* 2010; 70(8): 521-530.

4. Weiss D.E., Bolto B.A., McNeill R., Macpherson A.S., Suidak R., Swinton E.A., Willis D. An ion-exchange process with thermal regeneration. V. Multistage operation. *Aust. J. Chem.* 1966; 19(6): 791-796.

5. Battaerd H.A.J., Blesing N.V., Bolto B.A., Cjpe A.F.G., Weis D.E., Willis D., Worboys I.C. An ion-exchange process with thermal regeneration. VIII. Preliminary pilot plant results for the partial demineralization of bracksh waters. *Desalination.* 1973; 13(13): 217-237.

6. Bolto B.A., Eppinder K., Macpherson A.S., Sindak R., Weiss D.E., Willis I.C. An ion-exchange process with thermal regeneration. IX. A new type of rapidly reacting ion-exchange resin. *Desalination.* 1973; 13(13): 269-285.

7. Bolto B.A., Weiss D.E. The thermal regeneration of ion-exchange resins. In: *Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances* (Eds.: J.A.Marinsky and Y.Marcus). Marcel Dekker, Inc. New-York-Basel-Hong Kong. 1977; 7: 221-289.

8. Stephens G.K. Thermally regenerated ion-exchangers. In: *Ion exchange for pollution control.* CRC Press. Inc. 1979; 1: 129-143.

9. Bolto B.A., Eldridge R.J., Eppinger K.H., Jackson M.B. Improved resins for ion exchange with thermal regeneration. *React. Polym.* 1984; 2(1-2): 5-12.

10. Swinton E.A., Bolto B.A., Eldridge R.J., Nadebaum P.R., Coldrey P.C. The present status of continuous ion exchange using magnetic micro-resins. In: *Ion exchange technology.* (Eds.: Naden D. and Streat M.) London: Ellis Horwood Ltd. 1984; 542-563.

11. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Eliseeva T.V. Sposob ochistki koncentrirovanny`x rastvorov solej shhelochny`x metallov ot primesej solej e`lementov vtoroj gruppy`. Avt. svid. SSSR, № 1611879, prior.17.02.89. (In Russ.).

12. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Eliseeva T.V. Umyagchenie i glubokaya ochistka koncentrirovanny`x rastvorov solej shhelochny`x metallov ot primesej e`lementov vtoroj gruppy`, osnovannaya na zavisimosti selektivnosti karboksil`ny`x kationitov ot temperatury`. *Vy`sokochist. veshhestva.* 1990; 4(2): 133-139. (In Russ.)

13. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I. Ion-exchange separation of alkali and alkaline earth ions in concentrated solutions based on temperature changes. *React. Polym.* 1992; 17(1): 101-107.

14. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gorshkov V.I., Drozdova N.V. The role of temperature in ion exchange processes of separation and purification. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996; 208(1): 23-45.

15. Ivanov V.A., Karpyuk E.A., Gavlina O.T., Kargov S.I. Superheated solutions in dual-temperature ion exchange separations. *React. Func. Polym.* 2018; 122(1): 107-115.



16. Khamizov R.Kh., Fokina O.V., Senyavin M.M. Sposob izvlecheniya broma iz morskoy vody. Patent RF № 1726387. prior.12.04.90. (In Russ.)
17. Khamizov R.Kh., Fokina O.V., Ivanov V.A., Gorshkov V.I. Sposob izvlecheniya broma iz morskoy vody. Avt.ovid. SSSR. № 1728133, prior.12.04.90. (In Russ.)
18. Fokina O.V., Khamizov R.Kh. Ravnovesie obmena Br⁻ i Cl⁻ na sil'noosnovny'x anionitax. *Izvestiya AN. Ser. Khim.* 1994; 12: 2083-2089. (in Russ.)
19. Khamizov R.Kh., Muraviev D.N., Warshawsky A. Recovery of valuable minerals from seawater by ion exchange and sorption methods. In: Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances. (Eds.: J.A. Marinsky and Y. Marcus). Marcel Dekker, Inc. New-York-Basel-Hong Kong. 1995; 12: 93-148.
20. Nozhov A.M., Khamizov R.Kh., Fokina O.V., Shhurova M.V., Tixonov N.A. Ispol'zovanie vliyaniya temperatury na ravnovesie i dinamiku obmena galogenidov na sil'noosnovnom anionite dlya bezreagentnogo razdeleniya ix smesey. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2001; 1(3): 457-465. (in Russ.)
21. Nozhov A.M., Kosobryukhova O.M., Khamizov R.Kh. Bezreagentnoe koncentrirovaniye iodidov v prirodny'x rastvorax neizotermicheskimi ionoobmennymi metodami. Soobshhenie 1. Ravnovesie obmena ionov J⁻ i Cl⁻ na anionite AV-17. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2003; 3(2): 159-168. (in Russ.)
22. Breck D.W. Zeolite Molecular Sieves. Willey & Sons. 1974. 782 p.
23. Tolmachev A.M. Issledovanie ceolitov kak selektivny'x ionoobmennikov dlya razdeleniya veshhestv i izotopov. Sb.: *Sovremennyye problemy fizicheskoy khimii.* T. 10. (Red.: Gerasimov Ya.I., Akishin P.A. i Gorshkova V.I.). M.: MGU. 1978. S. 134-190. (in Russ.)
24. Chelishhev N.V., Volodin V.F., Kryukov V.L. Ionoobmennyye svoystva prirodny'x vy'sokokremnisty'x ceolitov. M.: Nauka. 1988. 128 p. (in Russ.)
25. Abe M. Ion exchange selectivities of inorganic ion exchangers. In: Ion Exchange and Solvent Extraction. Series of Advances. V.12. (Edited by Marinsky J.A. and Marcus Y.). New-York-Basel-Hong Kong: Marcel Dekker, Inc. 1995: 381-440.
26. Tarasevich Yu.I., Polyakov V.E. Ionoobmennyye ravnovesiya i teploty ionnogo obmena na klinoptilolite s uchastiem odnozaryadny'x ionov. *Teoret. e'ksper. khimiya.* 1996; 32(5): 315-319. (in Russ.)
27. T. Armbruster. Clinoptilolite-heulandite: application and basic research. In: Zeolites and mesoporous materials at the dawn of 21st century: Proceedings of the 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France. (Eds.: A.Galarneau, F.DiRenzo, F.Fajula and J.Vedrine). Elsevier. Amsterdam. 2001; 13-27.
28. Khamizov R.Kh., Melixov S., Novikova V., Skovy'ra V. Sposob polucheniya kalijnogo mineral'nogo udobreniya na osnove klinoptilolita. Patent RF № 2006495. prior. 28.06.91. (in Russ.)
29. Khamizov R.Kh. Fiziko-khimicheskie osnovy kompleksnogo osvoeniya mineral'ny'x resursov vod okeana. Diss. ... dokt. chim. nauk. M.. GEOXI RAN. 1998. 355 p. (in Russ.)
30. Gavlina O.T., Timofeevskaya V.D., Ivanov V.A., Gorshkov V.I. Dvuxtemperaturnyye bezreagentny'e processy ionoobmennogo razdeleniya s ispol'zovaniem ceolitov. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2001; 1(3): 337-343. (in Russ.)
31. Ivanov V.A., Timofeevskaya V.D., Gavlina O.T., Gorshkov V.I. Dual-temperature reagent-less ion-exchange separation of alkali metal salts on zeolites. *Microp. Mesopor. Mater.* 2003; 65(2-3): 257-265.
32. Leavitt F.W. Thermally-driven ion-exchange process for lithium recovery. US Patent. 5681477. Date of patent 28.10.1997.
33. Bonner O.D., Smith L.L. The effect of temperature on ion-exchange equilibria. I. The sodium-hydrogen and cupric-hydrogen exchanges. *J. Phys. Chem.* 1957; 61(12): 1614-1617.
34. Matorina A.A., Popov A.N. Vliyanie temperatury na sostoyanie ionoobmennogo ravnovesiya. II Temperaturny'e izmeneniya ionoobmennoj adsorbicii na sul'fosmolax. *Zh.*



fiz. khimii. 1958; 32(12); 2772-2779. (in Russ.)

35. Bonner O.D., Pruett R.R. The effect of temperature on ion-exchange equilibria. III. Exchanges involving some divalent ions. *J. Phys. Chem.* 1959; 63(9): 1420-1423.

36. Kraus K.A., Raridon R.J. Temperature dependence of some cation exchange equilibria in the range 0 to 200°C. *J. Phys. Chem.* 1959; 65(11); 1901-1907.

37. Kraus K.A., Raridon R.J., Holcomb D.L. Anion exchange studies: XXVI. A column method for measurement of ion exchange equilibria at high temperature. Temperature coefficient of the Br⁻ - Cl⁻ exchange reaction. *J. Chromatogr.* 1960; 3: 178-189.

38. Bonner O.D., Dickel C., Brummer H. The temperature and counter-ion dependency of cation exchange equilibria. *J. Phys. Chem.* 1960; 25: 81-89.

39. Boyd G.E., Vaslow F., Lindenbaum S. Calorimetric determinations of the heats of ion-exchange reactions. I. Heats of exchange of the alkali metal cations in variously cross-linked polystyrene sulfonates. *J. Phys. Chem.* 1964; 68(3): 590-595.

40. Ivanov V.A., Gavlina O. T., Ilyukhina E.A., Gorshkov V.I. The temperature dependence of the exchange enthalpy of calcium and sodium ions on polymethacrylic and polyacrylic cationites. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2007; 81(11): 1723-1727.

41. Ivanov V.A., Karpyuk E.A., Gavlina O.T., Kargov S.I. The role of the dependence of the enthalpy of ion exchange on temperature in predicting the behavior of ion-exchange systems. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2019; 93(10): 1923-193

Информация об авторах / Information about the authors

О.Т. Гавлина – к.х.н., научный сотрудник, химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

В.А. Иванов – д.х.н., профессор, химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

O.T. Gavlina – Doctor of Chemistry, Scientist. Department of Chemistry M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: ogavlina@mail.ru

V.A. Ivanov – Doctor of Chemistry, Professor. Department of Chemistry M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: minilana@mail.ru

Статья поступила в редакцию 27.03.2023; одобрена после рецензирования 10.05.2023; принята к публикации 17.05.2023.

The article was submitted 27.03.2023; approved after reviewing 10.05.2023; accepted for publication 17.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 631.4

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11313

Исследование механизмов удерживания профенов и β -блокаторов на полимерном наногибридном сорбенте с эремомицином

**Дарья Сергеевна Просунцова¹✉, Ирина Алексеевна Ананьева¹,
Татьяна Александровна Москалева², Олег Алексеевич Шпигун¹**

¹Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

inhusoria6@yandex.ru✉

²Научный центр экспертизы средств медицинского применения Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Аннотация. В жидкостной хроматографии применение новых гибридных материалов с наночастицами в качестве неподвижных фаз предлагает альтернативу обычно используемым фазам на основе диоксида кремния. В данной работе приводится исследование полимерного наногибридного сорбента с макроциклическим антибиотиком. Был синтезирован сорбент на основе полистирол-дивинилбензола (ПС-ДВБ), модифицированный наночастицами золота (НЧЗ), стабилизированными эремомицином. ПС-ДВБ-Ау-эремомицин был охарактеризован с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии и элементного анализа. Содержание НЧЗ составило $3.5 \cdot 10^{14}$ частиц на грамм сорбента. Плотность покрытия эремомицином составило 20 мкмоль/г. По результатам низкотемпературной адсорбции азота сорбент имеет мезопористую структуру. Площадь функциональной поверхности сорбента по сравнению с немодифицированным ПС-ДВБ увеличивается на 30%, несмотря на иммобилизацию больших молекул антибиотика. Это является важным преимуществом адсорбции НЧЗ.

Полученный сорбент исследовали в качестве неподвижной фазы (НФ) для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Представлено подробное исследование механизмов удерживания профенов и β -блокаторов на ПС-ДВБ-Ау-эремомицин. Факторы удерживания получены при различных рН, содержании органического растворителя и ионной силы подвижной фазы. При рН 4.0 коэффициенты удерживания профенов в большинстве случаев не превышают значения 0.5, однако наблюдается увеличение удерживания с возрастанием доли ацетонитрила в ПФ с 20 до 80%. Такое поведение можно объяснить растущим вкладом гидрофильных взаимодействий в удерживание. При 80 об. % ацетонитрила наблюдается наилучшее разделение смеси профенов. При рН 9.9 коэффициенты удерживания профенов падают с возрастанием органического компонента в ПФ. Наилучшее разделение четырех профенов достигнуто при 20 об. % содержании ацетонитрила. Порядок выхода: индопрофен < кетопрофен < ибупрофен < флурбипрофен, соответствует возрастанию гидрофобности веществ. Это говорит о реализации обращённо-фазового механизма удерживания профенов при данном значении рН. При рН 6.2 порядок выхода анализов меняется, что говорит об изменении механизма удерживания, также наблюдается увеличение времен удерживания анализов. Удерживание определяется совокупностью ионообменного и классического адсорбционного механизмов. При уменьшении концентрации буферного раствора удерживание профенов увеличивается, что также подтверждает вклад ионных взаимодействий в удерживание.

Удерживание β -блокаторов увеличивается с возрастанием доли ацетонитрила в ПФ. Такое поведение хорошо согласуется с хроматографией электростатического отталкивания-гидрофильного взаимодействия. При этом вещества с большими параметрами гидрофобности удерживаются на сорбенте сильнее. При рН 9.9, при котором β -блокаторы адсорбируются в виде нейтральных молекул, данная зависимость наиболее выражена. Это говорит о наличии вклада гидрофобных взаимодействий. При понижении рН до 6.2 порядок выхода β -блокаторов изменяется, что свидетельствует о конкуренции различных меха-



низмов взаимодействия сорбата и сорбента. Для β -блокаторов при увеличении концентрации буферного раствора удержание увеличивается, также возрастает селективность, которая, по всей видимости, обуславливается разницей в гидрофобности молекул.

Продемонстрированы энантиоселективные свойства сорбента. Наилучшее разделение энантиомеров профенов наблюдается при содержании в ПФ ацетонитрила 90-95% и при нейтральном значении pH. Энантиомеры β -блокаторов разделяются в условиях нейтрального pH и преобладании водного компонента в ПФ. Для расширения области применения хирального сорбента также исследовали разделение энантиомеров бензоксикарбонил- (КБЗ), бензоил-, третбутокси- (БОК) производных аминокислот на экспериментальном сорбенте. Разделение энантиомеров некоторых КБЗ и бензоил производных было получено.

Методом ВЭЖХ на колонке с ПС-ДВБ-Ау-эремомоцин проведен анализ лекарственного препарата «Кетонал», подтверждено содержание в его составе двух энантиомеров вещества кетопрофена.

На синтезированной наногибридной неподвижной фазе реализуется смешанный механизм удерживания с комбинацией электростатических, гидрофобных и гидрофильных взаимодействий. Для профенов в условиях щелочного pH преобладающими являются гидрофобные взаимодействия. Электростатическое и гидрофильное удержание, по-видимому, играет роль, в условиях кислого и нейтрального значений pH, в удержании профенов на неподвижной фазе. Постепенное увеличение удержания β -блокаторов при увеличении добавки ацетонитрила в подвижную фазу указывает на вклад гидрофильного взаимодействия, усиленного растворителем. Гидрофобные взаимодействия не являются полностью доминирующими на исследуемой неподвижной фазе, они также играют существенную роль в удерживании. Показано, что порядок выхода как профенов, так и β -блокаторов коррелирует с их полярностью. Полученный сорбент проявлял энантиоселективность к различным группам органических веществ, что демонстрирует его потенциал в качестве хиральной неподвижной фазы.

Ключевые слова: ВЭЖХ, наночастицы золота, макроциклический антибиотик, полистирол-дивинилбензол, эремомоцин.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 20-33-90177. Работа выполнена с использованием оборудования, анализатора Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O Elemental Analyzer («Perkin Elmer», США), приобретенного за счёт средств Программы развития Московского университета.

Для цитирования: Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Москалева Т.А., Шпигун О.А. Исследование механизмов удерживания профенов и β -блокаторов на полимерном наногибридном сорбенте с эремомоцином // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 331-342.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11313>

Original article

Sorbent for HPLC based on copolymer of styrene and divinylbenzene with gold nanoparticles stabilized by eremomycin

Daria S. Prosuntsova¹✉, Irina A. Ananieva¹,
Tatiana A. Moskaleva², Oleg A. Shpigun¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, inhusoria6@yandex.ru✉

²Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation

Abstract. In liquid chromatography, the use of new hybrid materials with nanoparticles as stationary phases offers an alternative to the commonly used silica-based phases. This paper presents a study of polymer nano-hybrid sorbent with macrocyclic antibiotic. Eremomycin-stabilized gold-coated polystyrene-divinylbenzene (PS-DVB) particles are synthesized. PS-DVB-Au-eremomycin sorbent is characterized by atomic emission spectroscopy and elemental analysis. The concentration of gold nanoparticles (GNPs) immobilized onto PS-DVB matrix is approximately equal to $3.5 \cdot 10^{14}$ particles per gram. The immobilization of eremomycin provides bonding density of $20 \mu\text{mol/g}$. Sorbent has a mesoporous structure according to the low-temperature nitrogen adsorption results. The functional surface area of the obtained sorbent compared to unmodified PS-DVB increases by 30%, despite the immobilization of large molecules of antibiotic, which is an important benefit of GNPs adsorption.



The obtained sorbent is studied as a stationary phase for high performance liquid chromatography (HPLC). A detailed study of the retention mechanisms of profens and β -blockers on PS-DVB-Au-eremomycin is presented. The retention factors are obtained at varied pH, organic solvent content, and ionic strength of the mobile phase. The retention factors of profens at pH 4.0 are low, however, an increase in retention with an increase in acetonitrile content from 20 % to 80% is observed. This behavior could be explained by a growing contribution of hydrophilic interactions into retention. The best separation of the mixture of profens is obtained at 80 vol. % acetonitrile. At pH 9.9, the presence of hydrophobic interactions was indicated by the decrease of retention with an increase of organic content. The best separation of the four profens is achieved at 20 vol. % of acetonitrile. Retention order: indoprofen < ketoprofen < ibuprofen < flurbiprofen, corresponds to the increase in the hydrophobicity of the substances. This indicates to a typical reversed-phase mechanism. At pH 6.2, the retention order of analytes changes, which means a change in the retention mechanism; an increase in the retention times of analytes is also observed. Retention is determined by a mix of ion exchange and classical adsorption mechanisms. The retention of profens decreases with an increase in the concentration of the buffer solution, which also indicates the presence of ionic interactions.

Retention of β -blockers increases with an increase in acetonitrile content. This effect seems to match well with an electrostatic repulsion hydrophilic interaction retention mechanism. However, a dependence between hydrophobicity and retention of β -blockers was also found. At pH 9.9, at which β -blockers are adsorbed as neutral molecules, this dependence is most pronounced. This indicates the presence of hydrophobic interactions. When pH is lowered to 6.2, the retention order of β -blockers changes, which indicates the competition of different mechanisms of interaction between the sorbate and the sorbent. For β -blockers with an increase in the concentration of the buffer solution the retention increases and the selectivity also increases. The obtained results confirm early observations that electrostatic interactions play a significant role in the retention mechanism. The higher ionic strength of the eluent results in the suppression of such interactions and may influence separation selectivity.

The enantioselective properties of the sorbent have been demonstrated. The best separation of profene enantiomers is observed when the content of acetonitrile in eluent is 90-95% and at a neutral pH. Enantiomers of β -blockers separate under conditions of neutral pH and the predominance of the water component in eluent. To expand the scope of the chiral sorbent, the separation of enantiomers of benzoxycarbonyl- (CBZ), benzoyl-, tert-butoxy- (BOX) derivatives of amino acids on an experimental sorbent were also studied. Separation of the enantiomers of some CBZ and benzoyl derivatives has been obtained.

The column with PS-DVB-Au-eremomycin was used to analyze a drug "Ketonal" by HPLC, the content of two enantiomers of ketoprofen in its composition was confirmed.

A mixed-mode retention mechanism with a combination of electrostatic, hydrophobic, and hydrophilic interactions is realized on the synthesized nanohybrid stationary phase. The hydrophobic interactions dominated the retention of the profens at alkaline pH. Electrostatic and hydrophilic retention appears to play a role, under acidic and neutral conditions, in the retention of profens on the stationary phase. The gradual increase in the retention of β -blockers with the addition of acetonitrile into the mobile phase indicates HILIC behavior. Hydrophobic interactions are not entirely dominant on the investigated stationary phase, but they also play an essential role in retention. It has been shown that the retention factors of profens and β -blockers correlated with the polarity. The obtained sorbent showed enantioselectivity to various groups of organic substances, which demonstrates its potential as a chiral stationary phase.

Keywords: HPLC, gold nanoparticles, macrocyclic antibiotic, poly(styrene-divinylbenzene), eremomycin.

Acknowledgments: the work was carried out with the financial support of RFBR No. 20-33-90177. The work was performed using equipment, the Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O Elemental Analyzer ("Perkin Elmer", USA), purchased at the expense of the Moscow University Development Program.

For citation: Prosuntsova D.S., Ananieva I.A., Moskaleva T.A., Shpigun O.A. C Sorbent for HPLC based on copolymer of styrene and divinylbenzene with gold nanoparticles stabilized by eremomycin. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 331-342. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11313>

Введение

В жидкостной хроматографии использование новых гибридных материалов с наночастицами в качестве неподвижных фаз предлагает альтернативу обычно используемым фазам на основе диоксида

кремния [1, 2]. Среди нанообъектов в методах разделения широко распространены наночастицы золота (НЧЗ) [3]. Изучено их применение для создания неподвижных фаз на основе силикагеля с различными лигандами [4, 5], в том числе с гликопептидными антибиотиками [6, 7].

Гликопептидные антибиотики широко применяются для создания хиральных неподвижных фаз (ХНФ) для разделения энантиомеров [8]. Отечественный антибиотик эремомицин также успешно был использован для создания ХНФ [9], в том числе для разделения профенов [10] и β -блокаторов [11]. Традиционно органические полимеры были альтернативными субстратами неподвижной фазы жидкостной хроматографии, поскольку они могут выдерживать широкий диапазон pH. Наиболее распространенным органическим полимером, применяемым в жидкостной хроматографии, является полистирол-дивинилбензол (ПС-ДВБ) [12]. Наногибридные полимерные сорбенты показали себя многообещающими неподвижными фазами с отличительными свойствами [13-15]. Преимущества таких фаз включают превосходную механическую, гидролитическую и термическую стабильность и уникальные адсорбционные свойства. В предыдущих исследованиях было показано, что полистирол-дивинилбензол с адсорбированными наночастицами золота, стабилизированными различными лигандами может успешно быть использованы в качестве неподвижных фаз в ВЭЖХ [16, 17]. Хиральные соединения профенов и β -блокаторов входят в состав распространённых лекарственных препаратов в виде смесей энантиомеров, однако полезным фармакологическим действием чаще обладает один из изомеров. Поиск более доступных подходов по их определению и разделению актуальная задача. В данной работе были подробно исследованы механизмы удерживания профенов и β -блокаторов на новом полимерном наногибридном сорбенте с эремомицином.

Экспериментальная часть

Синтез сорбента. Для приготовления сорбционного материала использовали: $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Au-%, 50, ChemPur), гидроклорид эремомицина («БиоХимМак СТ», Москва, Россия), тетраборат натрия.

В качестве матрицы используются микросферические частицы сополимера стирола и дивинилбензола (размер 5 мкм, размер пор 10 нм, степень сшивки 50%), синтезированные на кафедре аналитической химии химического факультета МГУ. Наночастицы золота готовили по оптимизированной методике, представленной в [6]. $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ($C=400$ мкг/см³) смешивали с эремомицином ($C=10$ мг/см³) в боратном буферном растворе ($C=0.05$ М). Смесь кипятили с обратным холодильником 1.5 часа до образования рубинового окраса. Сорбцию НЧЗ, стабилизированных эремомицином, проводили путем длительного (5 ч) интенсивного перемешивания суспензии ПС-ДВБ (1.2 г) в подкисленном до pH 7 водном растворе наночастиц (70 см³). Модифицированный сорбент фильтровали на стеклянном пористом фильтре, промывали водой и метанолом, высушивали на воздухе. Получали твердый порошок малиновой окраски.

Характеристика сорбента. Количество сорбированного золота определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) с индуктивно-связанной плазмой на приборе Agilent 4200 («Agilent», США). С помощью анализатора Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O Elemental Analyzer («Perkin Elmer», США) проводили анализ элементного состава синтезированного материала. Поверхностные характеристики полученного сорбента и исходной матрицы ПС-ДВБ исследовали методом низкотемпературной адсорбции азота на приборе ASAP 2010 V2.00 А фирмы «Micromeritics» (США).

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Хроматографические исследования выполняли на системе ВЭЖХ Shimadzu LC-20 Prominence («Shimadzu», Япония), снабжённой спектрофотометрическим детектором с фотодиодной матрицей SPD-M20A. Сбор и обработку данных проводили с помощью программы Shimadzu LC Solution. Объем вводимой



пробы составлял 20 мкл, при 25°C и скорости потока 0.5 см³/мин, фотометрическое детектирование проводили при 254 нм. В качестве органических модификаторов для приготовления подвижных фаз (ПФ) использовали ацетонитрил («Panreac», Испания) для ВЭЖХ. Трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС) (99.9%, «Helicon», Россия), триэтиламин (99%, «Acros Organics», США), ацетат аммония («хч», «Реахим», Россия), уксусную кислоту («Panreac», Испания) использовали для создания рН и ионной силы подвижных фаз. Деионизованную воду получали из системы Milli-Q (Millipore, США) и использовали для приготовления всех подвижных фаз. В качестве анализов использовали следующие реагенты: индопрофен, кетопрофен, флурбипрофен, ибупрофен, ателолол, пиндолол, метопролол, окспренолол, алпренолол, лабеталол, бензоилвалин, КБЗ-аланин, КБЗ-валин, КБЗ-лейцин (Sigma-Aldrich).

Колонку из нержавеющей стали с внутренним диаметром 100×4.6 мм, набивали с помощью пневматического жидкостного насоса («Knauer K-1900») при давлении 400 МПа до достижения общего объема растворителя, прошедшего через колонку, 0.25 дм³. Суспензию, содержащую 1.2 г сорбента готовили в 80 % водном растворе ацетонитрила (20 мл) и 50% ацетонитрил использовали в качестве раствора для набивки.

Влияние рН элюента на удержание анализов изучали с использованием подвижных фаз, приготовленных разбавлением ацетата аммония и уксусной кислоты в растворах состава вода-ацетонитрил различного соотношения. Суммарная

концентрация уксусной кислоты и ацетата аммония составляла 10 мМ и 20 мМ. Требуемое значение рН было достигнуто за счет варьирования соотношения $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONH}_4$.

Анализ препарата «Кетонал». Препарат «Кетонал» выпускается в капсулах (производитель: Novartis, Словения). Содержимое капсулы растворяли в 50 см³ ацетонитрила, суспензию помещали в ультразвуковую ванну на 20 минут, проводили фильтрацию с помощью шприцевого фильтра; 1 см³ полученного фильтрата растворяли в 4 см³ ПФ.

Обсуждение результатов

По данным АЭС процентное содержание золота в сорбенте составило 0.9 масс.%. Масса одной НЧЗ равна $3 \cdot 10^{-17}$ г, принимая средний диаметр НЧ=16.6 нм и $\rho_{\text{Au}}=19$ г/см³ [17]. Таким образом, можно оценить содержание НЧЗ, которое составило $3.5 \cdot 10^{14}$ частиц на грамм сорбента. Содержание эремомоцина в сорбенте, рассчитанное по результатам элементного анализа на азот (0.275 масс. %), составило 3.1 масс.%, что соответствует плотности покрытия 20 мкмоль/г.

Параметры поверхности сорбента и немодифицированной матрицы ПС-ДВБ оценивали методом низкотемпературной адсорбции азота. На изотермах присутствует петля гистерезиса, что подтверждает мезопористую структуру сорбентов. По построенным изотермам определяли площадь поверхности, объем пор (табл. 1). Площадь поверхности в следствии модифицирования увеличивается на 30 %, несмотря на адсорбцию больших молекул антибиотика. Это является важным преимуществом модифицирования сорбентов посредством адсорбции НЧЗ.

Таблица 1. Характеристики сорбентов ПС-ДВБ и ПС-ДВБ-Ау-эремомоцин
Table 1. Characteristics of sorbents PS-DVB and PS-DVB-Au-eremomycin

Сорбент	Площадь поверхности, м ² /г	Общий объем пор, см ³ /г	Объем микропор, см ³ /г
ПС-ДВБ	270	0.20	0.007
ПС-ДВБ-Ау-эремомоцин	360	0.30	0.003

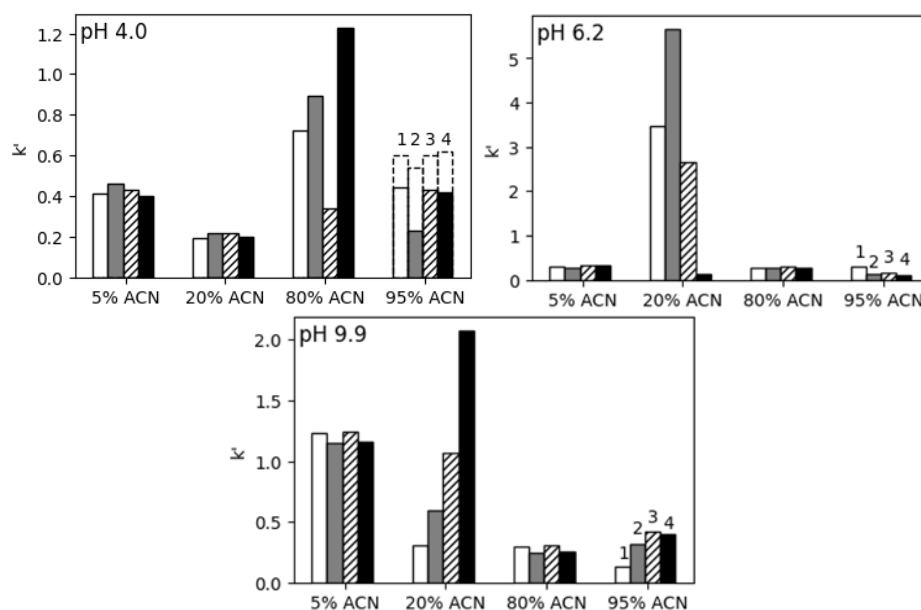


Рис. 1. Зависимость коэффициентов удерживания профенов от содержания ацетонитрила в ПФ ACN: 20 mM Ацетат аммония; 1 – индопрофен ($pK_a=5.8$, $\log P=2.77$), 2 – кетопрофен ($pK_a=4.0$, $\log P=3.12$), 3 – ибупрофен ($pK_a=5.2$, $\log P=3.72$), 4 – флурбипрофен ($pK_a=4.2$, $\log P=4.11$); пунктир соответствует ПФ ACN: 10 mM Ацетат аммония.

Fig. 1. Dependence of the retention coefficients of profenes on the content of acetonitrile in PF ACN: 20 mm Ammonium acetate; 1 – indoprofen ($pK_a=5.8$, $\log P=2.77$), 2 – ketoprofen ($pK_a=4.0$, $\log P=3.12$), 3 – ibuprofen ($pK_a=5.2$, $\log P=3.72$), 4 – flurbiprofen ($pK_a=4.2$, $\log P=4.11$); dotted line corresponds to PF ACN: 10 mM Ammonium acetate.

Объем микропор снижается, а общий объем пор увеличивается, это может свидетельствовать о закрытии микропор наночастицами золота с эремоницином и образовании новых пор за счёт слоя модификатора.

Полученный сорбент исследовали в качестве неподвижной фазы (НФ) в ВЭЖХ. Полимерная матрица обладает сильными гидрофобными свойствами в отличие от стандартных силикагелевых. Эремоницин содержит в своей структуре различные функциональные группы с pK_a : 3.1 для карбоксильной группы, 6.9, 7.9 и 9.0 для аминогрупп, 9.7, 10.4, и 11.35 для фенольных групп; изоэлектрическая точка – 7.2 [9, 10]. В связи с этим, на сорбентах с эремоницином возможна реализация различных механизмов удерживания.

Профены являются лекарственными средствами из группы производных пропионовой кислоты, обладающими противовоспалительным, анальгезирующим и

жаропонижающим действием. Профены являются кислотами, но и имеют в своём составе крупные гидрофобные фрагменты, а также различные функциональные группы, из-за чего механизм их взаимодействия с НФ может быть комплексным. Влияние содержания органической добавки в ПФ на удерживание соединений изучали при элюировании ПФ состава ацетонитрил и буферные растворы с различными pH. Содержание ацетонитрила варьировали от 5 до 95 об. % (рис. 1).

Профены имеют значения pK_a около 4 [10]. При pH среды выше этого значения они имеют отрицательный заряд. При pH 4.0 коэффициенты удерживания профенов в большинстве случаев не превышают значения 0.5, наблюдается увеличение удерживания с возрастанием доли ацетонитрила в ПФ до 80%. Такое поведение можно объяснить растущим вкладом гидрофильных взаимодействий в удерживание. При 80 об.% ацетонитрила различия в удерживании достаточны,

Таблица 2. Хроматографические параметры разделения смеси профенов
 Table 2. Chromatographic parameters of separation of a mixture of profenes

рН 6.2			рН 9.9		
вещество	k'	α	вещество	k'	α
флурбипрофен	0.14	18.9	индопрофен	0.31	1.9
ибупрофен	2.65		кетопрофен	0.59	
индопрофен	3.48	1.3	ибупрофен	1.07	1.8
кетопрофен	5.67	1.6	флурбипрофен	2.08	1.9

чтобы разделить смесь профенов (табл. 2). При рН 9.9 коэффициенты удерживания профенов падают с возрастанием органического компонента в ПФ. Наилучшее разделение четырех профенов достигнуто при 20 об.% ацетонитрила (табл. 2). Порядок выхода: индопрофен <кетопрофен <ибупрофен <флурбипрофен, соответствует параметрам $\log P$, а именно, более гидрофобные вещества удерживаются сильнее. Это говорит о реализации обращённо-фазового механизма удерживания профенов при данном значении рН.

При рН 6.2 порядок выхода анализов меняется, что говорит об изменении механизма удерживания, также наблюдается увеличение времен удерживания анализов. Это можно объяснить тем, что удерживание определяется совокупностью ионообменного и классического адсорбционного механизмов. При низких значениях рН, когда диссоциация кислоты подавлена, вещества адсорбируются в виде нейтральных молекул. С повышением рН возрастает доля диссоциированных молекул, которые вступают в реакцию по ионообменному механизму. Поскольку ион-ионное взаимодействие сильнее межмолекулярных взаимодействий, вклад ионной составляющей в общее удерживание приводит к росту k' . Однако с увеличением основности подвижной фазы уменьшается доля протонированных амино-групп эремомицина, то есть центров наиболее сильной адсорбции анионов. Поэтому наблюдается падение величины k' .

Было изучено влияние концентрации буферного раствора на удерживание профенов при элюировании 95% ацетонитрил и 5% Ацетат аммония, рН=4.0. При уменьшении концентрации буферного раствора удерживание веществ увеличивалось (рис. 1), что также подтверждает вклад ионных взаимодействий в удерживание.

β -блокаторы являются соединениями этаноламина. Они широко используются в фармацевтике для блокирования действия адреналина и норадреналина на сердце. На рис. 2 представлены зависимости коэффициентов удерживания β -блокаторов от содержания ацетонитрила в подвижной фазе при различных рН.

β -блокаторы имеют pK_a около 9 [16], при рН меньше этого значения они заряжены положительно. Удерживание соединений увеличивалось с возрастанием доли ацетонитрила в ПФ (рис. 2), что говорит о преобладании удерживания по гидрофильному механизму. Добавление органического растворителя увеличивает диэлектрическую проницаемость элюента и подавляет отталкивание между катионами β -блокаторов и положительно заряженной поверхностью сорбента с эремомицином. Этот эффект, по-видимому, хорошо согласуется с хроматографией электростатического отталкивания-гидрофильного взаимодействия [18]. При этом порядок выхода β -блокаторов коррелирует с $\log P$, вещества с большими параметрами гидрофобности удерживаются на сорбенте сильнее. При рН 9.9, при котором β -блокаторы адсорбируются в виде

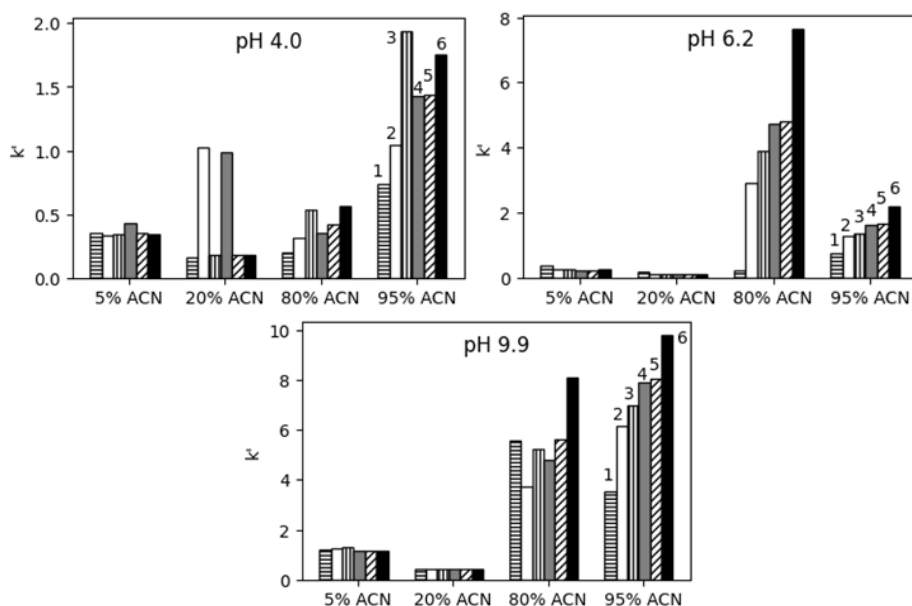


Рис. 2. Зависимость коэффициентов удерживания β -блокаторов от содержания ацетонитрила в ПФ ACN : 20 mM Ацетат аммония; 1 – атенолол ($pK_a=9.6$, $\log P=0.16$), 2 – пиндололол ($pK_a=8.8$, $\log P=1.75$), 3 – лабеталолол ($pK_a=9.3$, $\log P=2.31$), 4 – метопрололол ($pK_a=9.7$, $\log P=1.88$), 5 – окспренололол ($pK_a=9.5$, $\log P=2.29$), 6 – алпренололол ($pK_a=9.6$, $\log P=3.10$).

Fig. 2. Dependence of the retention coefficients of β -blockers on the content of acetonitrile in PF ACN: 20 mM Ammonium acetate; 1 – atenolol ($pK_a=9.6$, $\log P=0.16$), 2 – pindolol ($pK_a=8.8$, $\log P=1.75$), 3 – labetalol ($pK_a=9.3$, $\log P=2.31$), 4 – metoprolol ($pK_a=9.7$, $\log P=1.88$), 5 – oxprenolol ($pK_a=9.5$, $\log P=2.29$), 6 – alprenolol ($pK_a=9.6$, $\log P=3.10$).

нейтральных молекул, данная зависимость наиболее выражена. Это говорит о наличии вклада гидрофобных взаимодействий. При понижении pH до 6.2 порядок выхода β -блокаторов изменяется, а коэффициенты удерживания падают при 95 об.% ацетонитрила после максимума при 80 об.%, что свидетельствует о конкуренции различных механизмов взаимодействия сорбата и сорбента. В удерживание вносят вклад образование водородных связей, электростатические взаимодействия, также сохраняется влияние гидрофобных взаимодействий, так, например, атенолол, который имеет наименьший $\log P$, удерживается слабее остальных аналитов при всех исследованных pH. Для β -блокаторов при увеличении концентрации буферного раствора, удерживание увеличивается, также возрастает селективность, которая, по всей видимости, обуславливается разницей в гидрофобности молекул (рис. 3). Полученные

результаты подтверждают, что электростатические взаимодействия играют существенную роль в механизме удерживания. Более высокая ионная сила элюента приводит к подавлению таких взаимодействий и может влиять на селективность разделения.

Синтезированный сорбент проявил энантиоселективность к профенам. Удалось добиться энантиоразделения кетопрофена, флурбипрофена и индопрофена. Наилучшее разделение энантиомеров профенов наблюдалось при содержании в ПФ ацетонитрила 90-95% и при нейтральном значении pH буферного раствора (табл. 3). Однако энантиомеры ибупрофена на колонке не разделялись. Можно предположить, что в энантиоселективность вносят вклад π - π взаимодействия и стерический фактор, так как ибупрофен содержит в своей структуре одно бензольное кольцо, а остальные исследуемые профены – по два. Колонка также проявила энантиоселективность к

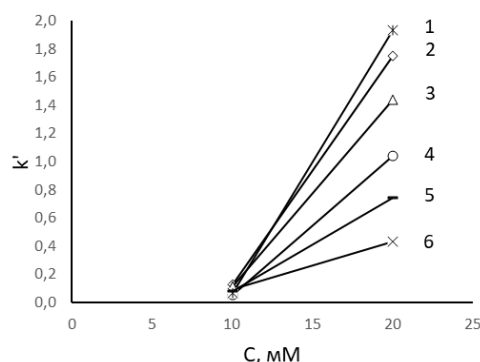


Рис. 3. Зависимость коэффициентов удерживания (k') от концентрации буферного раствора в ПФ, 1 – лабеталол, 2 – алпренолол, 3 – окспренолол, 4 – пиндолол, 5 – атенолол, 6 – метопролол. Элюент: 95% ацетонитрил и 5% Ацетат аммония, рН = 9.9.

Fig. 3. Dependence of retention coefficients (k') on the concentration of the buffer solution in PF, 1 – labetalol, 2 – alprenolol, 3 – oxprenolol, 4 – pin-dolol, 5 - atenolol, 6 – metoprolol. Eluent: 95% acetonitrile and 5% Ammonium acetate, рН = 9.9.

Таблица 3. Хроматографические параметры разделения энантимеров аналитов, ТЕАА – триэтиламин-ацетатный, ФБ – фосфатный буферные растворы

Table 3. Chromatographic parameters of the separation of enantiomers of analytes, ТЕАА – triethylamine-acetate, РВ – phosphate buffer solutions

Подвижная фаза, об. %	Вещество	k'_1	k'_2	α
АСН:ТЕАА (0.05%, рН 7.0) 95:5 об. %	кетопрофен	1.08	1.60	1.5
	флурбипрофен	1.13	1.63	1.4
	индопрофен	1.12	1.62	1.4
АСН:ФБ (10 мМ, рН 7.0) 90:10 об. % 90:10	кетопрофен	0.23	0.55	2.4
АСН:ТРИС (10 мМ, рН 7.0) 10:90 об. %	алпренолол	0.42	0.73	1.7
	окспренолол	0.45	0.75	1.7
	метопролол	0.44	0.76	1.7
АСН:ТЕАА (0.05%, рН 7.0) 95:5 об. %	Бензоил-валин	0.10	0.29	2.9
АСН:ТРИС (10 мМ, рН 7.0) 90:10 об. %	КБЗ-валин	0.58	0.98	1.7
	КБЗ-аланин	0.55	0.89	1.6
АСН:ТРИС (10 мМ, рН 9.1) 90:10 об. %	КБЗ-валин	0.47	0.55	1.2
	КБЗ-лейцин	0.46	0.54	1.2

β -блокаторам, было получено разделение энантимеров алпренолола (рис.4), окспренолола и метопролола в условиях нейтрального рН и преобладании водного компонента в ПФ (табл. 3). Для расширения области применения хирального сорбента также исследовали разделение энантимеров бензоксикарбонил-(КБЗ), бензоил-, третбутоксид- (БОК) производных аминокислот на экспериментальном сорбенте. Такие защитные группы играют ключевую роль в синтезах различного направления, позволяя за-

щитить аминокислотную группу аминокислот. Разделение энантимеров некоторых КБЗ и бензоил производных было получено (табл. 3). Селективность (α) исследуемой колонки высокая, однако эффективность оказалась не велика, достигает 5000 теоретических тарелок на метр, что может быть связано с наличием большого объёма микропор в полимерной матрице и частичным набуханием сорбента.

На исследуемой колонке проведен анализ коммерческого препарата «Кетонал» на энантиомерный состав. Фармацевтический препарат предназначен для

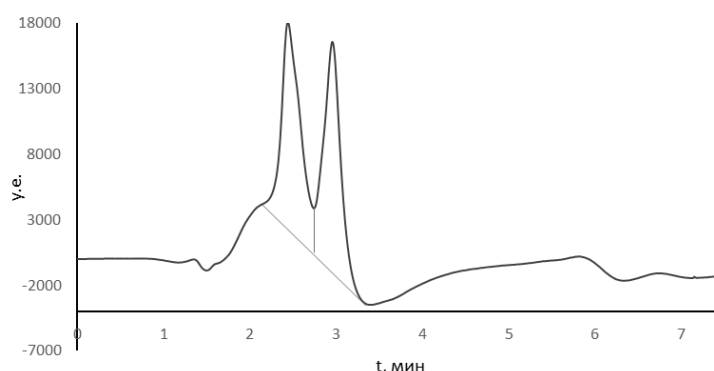


Рис. 4. Хроматограмма разделения алпренолола. ПФ: АСН:ТРИС (10 мМ, рН 7.0) 10:90 об.%.
 Fig. 4. Chromatogram of the separation of alprenolol. MP: АСН:ТРИС (10 мМ, рН 7.0) 10:90 vol.%.

Таблица 4. Хроматографические параметры разделения энантиомеров кетопрофена препарат «Кетонал», ПФ – АСН:ТЕАА (0.05%, рН 7.0) 95:5 об. %

Table 4. Chromatographic parameters of separation of ketoprofen enantiomers preparation "Ketonal", PF – АСН:ТЕАА (0.05%, рН 7.0) 95:5 vol. %

	$k'(1)$	$k'(2)$	α
Вещество кетопрофен препарата «Кетонал»	0.65	1.15	1.76

терапии болезненных и воспалительных процессов. Было подтверждено, что препарат «Кетонал» содержит два энантиомера кетопрофена в равном соотношении (табл. 4).

Заключение

ПС-ДВБ был успешно модифицирован наночастицами золота, стабилизированными эремоницином, его поверхность была охарактеризована с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии, элементного анализа и метода низкотемпературной адсорбции азота. Изучены закономерности удерживания профенов и β -блокаторов на синтезированном сорбенте при различных составах подвижной фазы. Сорбент демонстрирует смешанный характер удерживания, комбинируя обращённо-фазовое, ионообменное и гидрофильное поведение. Для профенов в условиях щелочного рН преобладающими являются гидрофобные взаимодействия. Электростатическое и гидрофильное удержание, по-видимому, иг-

рает роль, в условиях кислого и нейтрального значениях рН, в удержании профенов на неподвижной фазе. Постепенное увеличение удержания β -блокаторов при увеличении добавки ацетонитрила в подвижную фазу указывает на вклад гидрофильного взаимодействия, усиленного растворителем. Хотя гидрофобные взаимодействия не являются полностью доминирующими на исследуемой неподвижной фазе, они играют существенную роль в удерживании. Показано, что порядок выхода как профенов, так и β -блокаторов коррелирует с их полярностью ($\log P$). Полученный сорбент проявляет энантиоселективность к различным группам органических веществ, что демонстрирует его потенциал в качестве хиральной неподвижной фазы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.



Список литературы/References

1. Bushra R., Chapter 15. Functionalized Nanomaterials for Chromatography. Elsevier Inc., 2018; 403-414. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812792-6/00015-7>
2. Wang Z. Review Applications of nanomaterials in liquid chromatography: Opportunities for separation with high efficiency and selectivity. *J. Sep. Sci.* 2006; 29: 1872-1878. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600154>
3. Gorbunova M., Apyari V., Dmitrienko S., Zolotov Y. Gold nanorods and their nanocomposites: synthesis and recent applications in analytical chemistry. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2020; 130: 115974. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115974>
4. Ananieva I.A., Polyakova Y.A., Shapovalova E.N., Shpigun O.A. Using adsorbents modified by gold nanoparticles in chromatography (review). *Journal of Analytical Chemistry.* 2017; 72(8): 714-726. <https://doi.org/10.7868/S0044450217080023>
5. Li Y., Wei M., Chen T., Zhu N., Ma Y. Self-assembled cyclodextrin-modified gold nanoparticles on silica beads as stationary phase for chiral liquid chromatography and hydrophilic interaction chromatography. *Talanta.* 2016; 160: 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.07.016>
6. Shapovalova E.N., Golubova A.D., Ananieva I.A., Baygildiev T.M., Shpigun O.A. Sorbent for the separation of enantiomers of amino acids based on silica gel modified with stabilized Au nanoparticles. *Mendeleev Commun.* 2019; 29: 702-704. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2019.11.035>
7. Ananieva I.A., Polyakova Y.A., Shapovalova E.N., Mazhuga A.G., Shpigun O.A. Separation of β -blocker enantiomers on silica modified with gold nanoparticles with immobilized macrocyclic antibiotic vancomycin. *Journal of Analytical Chemistry.* 2018; 73(2): 162-169. <https://doi.org/10.7868/S0044450218020032>
8. Shapovalova E.N., Fedorova I.A., Ananieva I.A., Shpigun O.A. Macrocyclic antibiotics as chiral selectors in high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry (Zhurnal Analiticheskoi Khimii).* 2018; 73(11): 1064-1075. <https://doi.org/10.1134/S0044450218110117>
9. Staroverov S.M., Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiarov G.G., Katrukha G.S., Fedorova G.B. New chiral stationary phase with macrocyclic glycopeptide antibiotic eremomycin chemically bonded to silica. *J. Chromatogr. A.* 2006; 1108: 263-267. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.073>
10. Reshetova E.N., Asnin L.D. Effect of the Ionic Composition of a Mobile Phase on the Chromatographic Retention of Profen Enantiomers on a Chiral Adsorbent with Grafted Eremomycin Antibiotic. *Russ. J. Phys. Chem.* 2011; 85: 1552-1557. <https://doi.org/10.1134/S0036024411080280>
11. Fedorova I.A., Shapovalova E.N., Shpigun O.A. Separation of β -blocker and amino acid enantiomers on a mixed chiral sorbent modified with macrocyclic antibiotics eremomycin and vancomycin. *J. Anal. Chem.* 2017; 72: 76-82. <https://doi.org/10.1134/S1061934817010075>
12. Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Preparation and chromatographic performance of polymer-based anion exchangers for ion chromatography: A review. *Analytica Chimica Acta.* 2016; 904: 33-50. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.11.012>
13. Huang Z., Yao P., Zhu Q., Wang L., Zhu Y. The polystyrene-divinylbenzene stationary phase hybridized with oxidized nanodiamonds for liquid chromatography. *Talanta.* 2018; 185: 221228. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.03.076>
14. Kobayashi K., Kitagawa S., Ohtani H. Development of capillary column packed with thiol-modified gold-coated polystyrene



particles and its selectivity for aromatic compounds. *J. Chromatogr. A*. 2006; 1110: 95-101.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.094>

15. Gupta V., Kazarian A., Gaskell B., Linford M., Jensen D., Paull B., Nesterenko P. Mixed-mode liquid chromatography on core shell stationary phases based on layer-by-layer nanodiamond/polyamine architecture. *Curr. Chromatogr.* 2018; 5: 5-17. <https://doi.org/10.2174/2213240605666180226114029>

16. Prosuntsova D.S., Plodukhin A.Y., Ananieva I.A., Beloglazkina E.K., Nesterenko P.N. New composite stationary phase for chiral high-performance liquid chromatography. *Journal of Porous Materials*. 2020; 28: 407-414. <https://doi.org/10.1007/s10934-020-00985-y>

17. Prosuntsova D.S., Ananieva I.A., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Microspherical polystyrene-divinylbenzene particles hybridized with eremomycin stabilized gold nanoparticles as a stationary phase for chiral liquid chromatography. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov*. 2022; 88(12): 14-20. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2022-88-12-14-20> (In Russ.)

18. Alpert A.J. Electrostatic Repulsion Hydrophilic Interaction Chromatography for Isocratic Separation of Charged Solutes and Selective Isolation of Phosphopeptides. 2008; 80: 62-76. <https://doi.org/10.1021/ac070997p>

Информация об авторах / Information about the authors

Д.С. Просунцова – аспирант кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

И.А. Ананьева – старший научный сотрудник кафедры аналитической химии, к.х.н., Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

Т.А. Москалева – инженер-лаборант, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

О.А. Шпигун – профессор кафедры аналитической химии, д.х.н., Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

D.S. Prosuntsova – the postgraduate student, department of analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russian Federation, E-mail: inhusoria6@yandex.ru

I.A. Ananieva – Senior Researcher, Ph.D (chemistry), department of analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russian Federation, E-mail: irishan@mail.ru

T.A. Moskaleva – laboratory engineer, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Moscow, Russian Federation, E-mail: moskalyova.tantiana@gmail.com

O.A. Shpigun – prof., grand Ph.D (chemistry), department of analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russian Federation, E-mail : shpiguno@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 22.12.2022; одобрена после рецензирования 16.05.2023; принята к публикации 17.05.2023.

The article was submitted 22.12.2022; approved after reviewing 16.05.2023; accepted for publication 17.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544.7

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11314

Технология создания и исследование газодинамических характеристик микрофлюидных газохроматографических колонок на кремниевых подложках

Игорь Артемьевич Платонов¹, Владимир Игоревич Платонов¹✉, Андрей Николаевич Агафонов¹, Тарас Андреевич Андреев¹, Ксения Игоревна Миланина¹, Николай Алексеевич Дюжев², Максим Юрьевич Чиченков², Владислав Витальевич Парамонов²

¹Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, Самара, Россия, rovvv@yandex.ru✉

²Микросистемная техника и электронная компонентная база, Зеленоград, Россия

Аннотация. В статье представлена технология создания микрофлюидных газохроматографических колонок на плоскости кремниевых подложек с длиной канала 1 м и сечением канала 150x240 мкм. Канал формировался методом плазмохимического травления, герметизация канала проводилась при помощи анодного бондинга. Представлены результаты моделирования и экспериментального изучения газодинамических характеристик изготовленной колонки, показано, что результаты математического моделирования отличаются от экспериментальных данных менее чем на 1%, что делает возможным использование построенной модели для расчетов оптимального расположения пилларов внутри микрофлюидного канала, с целью получения максимальной загрузочной емкости и эффективности изготавливаемой газохроматографической колонки.

Ключевые слова: газохроматографическая колонка, МЭМС, микротехнологические системы, газодинамические характеристики.

Для цитирования: Платонов И.А., Платонов В.И., Агафонов А.Н., Андреев Т.А., Миланина К.И., Дюжев Н.А., Чиченков М.Ю., Парамонов В.В. Технология создания и исследование газодинамических характеристик микрофлюидных газохроматографических колонок на кремниевых подложках // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 3. С. 343-350. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11314>

Original article

Technology for the production and studying the gas-dynamic characteristics of microfluidic gas chromatographic columns on silicon substrates

Igor A. Platonov¹, Vladimir I. Platonov¹✉, Andrey N. Agafonov¹, Taras A. Andreev¹, Kseniya I. Milanina¹, Nikolay A. Dyuzhev², Maxim Yu. Chichenkov², Vladislav V. Paramonov²

¹Korolev Samara National Research University, Samara, Russian Federation, rovvv@yandex.ru✉

²Microsystem Technology and Electronic Component Base, Zelenograd, Russian Federation

Abstract. The article presents a technology for the production of microfluidic gas chromatographic columns on the plane of silicon substrates with a channel length of 1 m and a channel cross section of 150x240 μm. The channel was formed by plasma-chemical etching and it was sealed using anode bonding. The results of the



modelling and experimental study of the gas-dynamic characteristics of the manufactured column are presented, it was shown that the results of mathematical modelling differ from the experimental data by less than 1%, which allows using the constructed model to calculate the optimal location of the pillars inside the microfluidic channel in order to obtain the maximum loading capacity and efficiency of the manufactured gas chromatographic column.

Keywords: gas chromatographic column, MEMS, microtechnological systems, gas-dynamic characteristics.

For citation: Platonov I.A., Platonov V.I., Agafonov A.N., Andreev T.A., Milanina K.I., Dyuzhev N.A., Chichenkov M.Yu., Paramonov V.V. Technology for the production and studying the gas-dynamic characteristics of microfluidic gas chromatographic columns on silicon substrates. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 343-350. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11314>

Введение

Современной тенденцией развития аналитической химии является миниатюризация и упрощение устройств, а также интеграция структур с дополнительным функциональным назначением. Такая тенденция обусловлена необходимостью в проведении экспресс-диагностики, экономии сырья и энергии, увеличении эффективности тепло- и массообмена и т.д.

Газохроматографическая колонка считается «сердцем» газового хроматографа. Большинство существующих хроматографов оснащаются классическими колонками, представляющими собой трубку из диоксида кремния или нержавеющей стали, содержащую иммобилизованную или шитую неподвижную фазу, связанную с внутренней поверхностью. Однако, за последние три десятилетия характер и конструкция колонок значительно изменились.

Терри и др. [1] были первой группой, которая представила концепцию «миниатюрного газового хроматографа» и «планарной колонки», получаемой путем травления каналов в подложке, а не с использованием капилляров традиционной технологии. Однако эта новаторская работа не привела к дальнейшему развитию соответствующих навыков или технологий до начала 1990-х годов.

Развитие процессов микротехнической обработки способствовало появлению миниатюрных газовых хроматографов, основным рабочим элементом которых является микрофлюидная газохроматографическая колонка.

Микрофлюидные системы представляют собой устройства, позволяющие управлять микро- и нано-объемами жидкостной или газообразной пробы исследуемого вещества [2]. В частности, микрофлюидная газохроматографическая колонка представляет собой реализованный на кремниевой подложке канал глубиной порядка 150-300 мкм и длиной порядка 1-3 м, герметизированный кремниевой или стеклянной крышкой (чаще всего, неструктурированной). Внутренняя поверхность создаваемых таким образом каналов модифицируется с целью предания заданных селективных и хроматографических свойств создаваемых разделительных колонок. Изготовление подобных микрофлюидных колонок базируется на применении таких широко известных технологий как химическое травление, фотолитография, анодный бондинг и т.д.

Современные технологии микроструктурирования позволяют внедрить в канал микрофлюидной газохроматографической колонки дополнительные элементы в виде периодически расположенных вертикальных столбцов (пилларов). Преимущества пилларных колонок заключаются в лучшей управляемости параметрами потока внутри канала, а также большей площадью контакта компонентов анализируемой пробы со стенками [3]. В конечном счете, перечисленные параметры приводят к большей эффективности разделения газовой смеси внутри пилларных микрофлюидных колонок по сравнению с обычными микрофлюидными газохроматографическими колонками.

Применение микрофлюидных газохроматографических колонок вместо классических позволит значительно сократить массогабаритные параметры аналитического прибора, а также повысить эффективность разделительного процесса.

Экспериментальная часть

В рамках данной работы была разработана экспериментальная методика изготовления микрофлюидных газохроматографических колонок, которая состоит из следующих основных этапов:

1. подготовка кремниевой подложки и формирование топологии канала на ее поверхности при помощи фотолитографии;
2. глубокое плазмохимическое травление канала на кремниевой подложке (Bosch-процесс);
3. герметизация полученных каналов неструктурированной стеклянной пластиной при помощи технологии анодного бондинга;
4. формирование фитингов для подключения газовых линий к каналу газохроматографической колонки.

Одним из ключевых этапов изготовления газохроматографической колонки является формирование рельефа канала

глубиной 150-300 мкм на кремниевом кристалле. Наиболее подходящим способом для выполнения данной задачи является глубокое анизотропное плазменное травление, в частности Bosch процесс. Данный процесс широко применяется в микроэлектронике при работе с кремниевыми кристаллами благодаря своему преимуществу в реализации канавок и отверстий с высокими аспектными отношениями более 100:1 [4, 5]. Глубокое анизотропное плазменное травление (ГАПТ) позволяет получать высокий показатель анизотропии, минимальные уходы линейных размеров, предотвращать латеральный подтрав под маску и обеспечивать незначительную шероховатость боковых стенок, не влияющую в значительной на работу изделия.

Для изготовления экспериментальных образцов были использованы кремниевые пластины КДБ-12 диаметром 100 мм толщиной 1 мм, с кристаллографической ориентацией (100).

Поэтапная визуализация технологического процесса формирования канала газохроматографической колонки в кремниевой подложке представлена на рисунке 1.

Далее на внутреннюю поверхность канала наносились тонкие пленки оксида

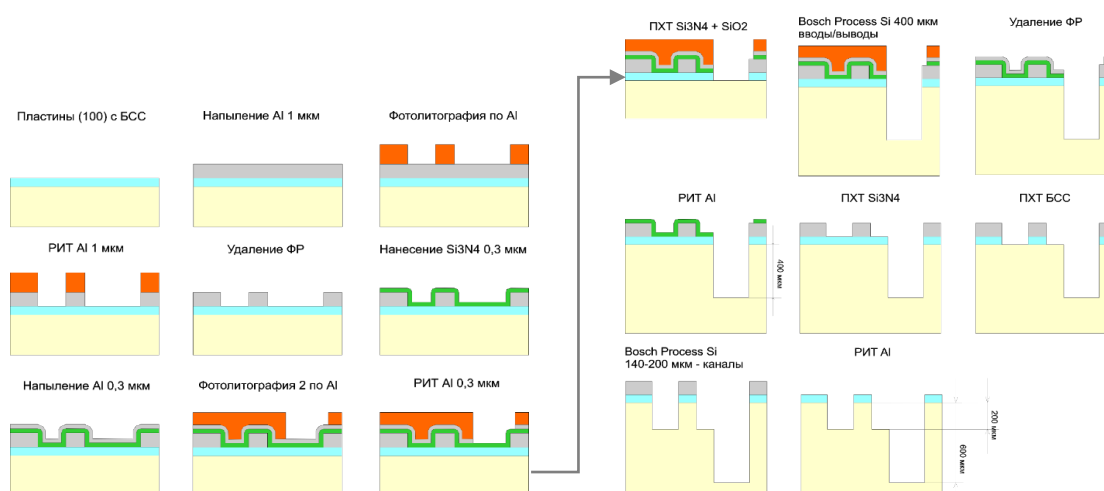


Рис. 1. Формирование канала газохроматографической колонки в кремниевой подложке

Fig. 1. Formation of the channel of the gas chromatographic column in a silicon substrate

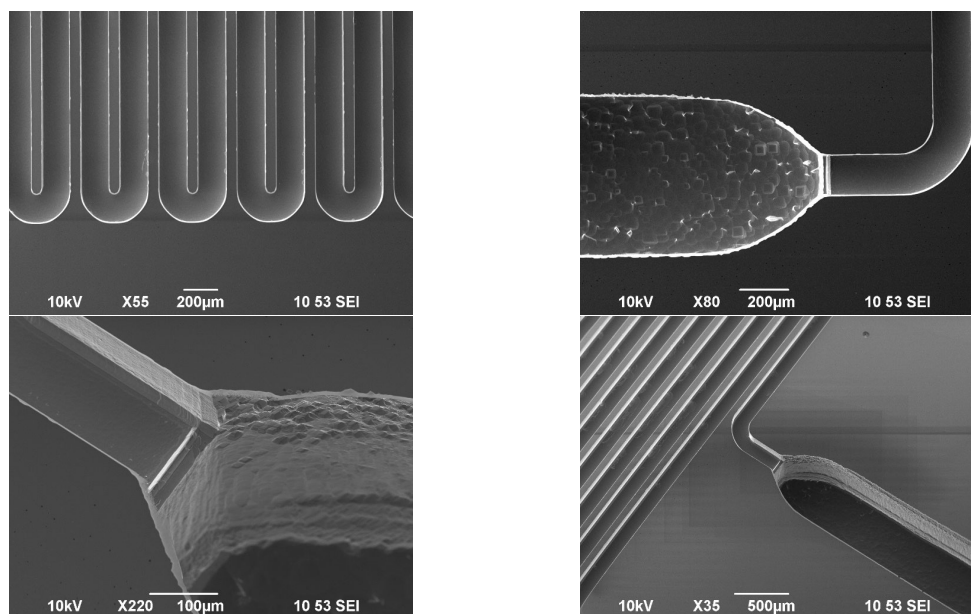


Рис. 2. Канал газохроматографической колонки до герметизации стеклянной пластиной
Fig. 2. Channel of the gas chromatographic column before sealing with a glass plate

алюминия с целью повышения эффективности последующего нанесения неподвижной фазы на стенки канала. Нанесение изолирующих наноразмерных пленок Al_2O_3 осуществлялось на оборудовании Picosun Sunale ALD R-200. Полученные на данном этапе каналы были исследованы при помощи растрового электронного микроскопа FEI Quanta 200 (рис. 2).

Для герметизации полученного канала газохроматографической колонки использовалось стекло марки ЛК105, так как его коэффициент линейного расширения приближен к значениям для кремния. Для сращивания подложек в вакууме использовалась установка SUSS MicroTec SB6e, обеспечивающая температуру процесса до 550°C , максимальную силу прижатия 3 кН, и напряжение смещения до 2 кВ.

При герметизации экспериментального образца газохроматографической колонки с помощью анодного бондинга были использованы следующие параметры: напряжение смещения $U_{\text{см}} = -1.5$ кВ, сила прижатия $P_{\text{пр}} = 200$ кг, температура нагрева нижнего электрода $T = 350^\circ\text{C}$.

В результате проделанных технологических работ по изготовлению микрофлюидной газохроматографической колонки было получено четыре экспериментальных образца, один из которых изображен на рисунке 3.

Для подтверждения работоспособности полученных экспериментальных образцов газохроматографической колонки был проведен эксперимент по определению их газодинамических характеристик, а именно, объемного расхода газовой пробы. Данный эксперимент проводился с использованием детектора газа Agilent G3388A, который подключался к выходам каналов. При этом, на вход каналов подавался гелий при различном избыточном давлении.

Кроме того, в рамках данной работы было проведено численное моделирование газовой динамики в канале с целью получения расчетных параметров топологии, обеспечивающих требуемые для работы газохроматографической колонки характеристики потока газа носителя и пробы.

Для проведения численных экспериментов был использован пакет Comsol Multiphysics. Для расчета газодинамических характеристик потока использо-

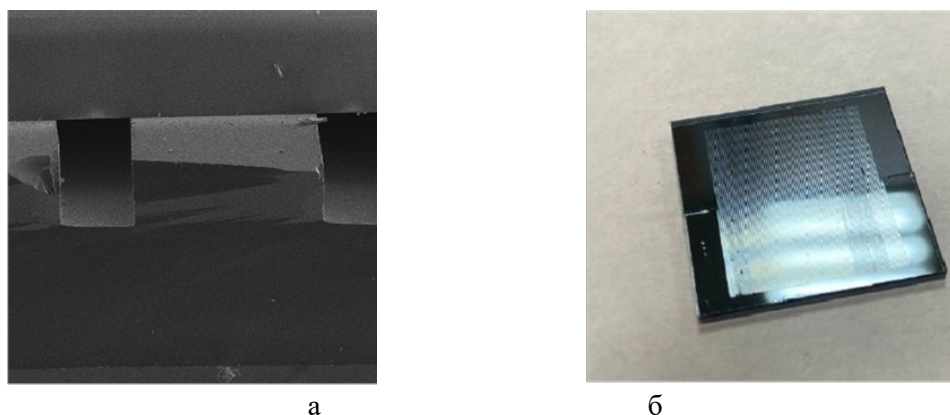


Рис. 3. экспериментальный образец микрофлюидной газохроматографической колонки после герметизации: а – снимок места соединения на РЭМ; б – общий вид структуры
Fig. 3 Experimental sample of a microfluidic gas chromatographic column after sealing:
a – photograph of the junction on the SEM; b – general view of the structure

вался модуль Laminar Flow, для расчета динамики поля концентрации пробы в потоке использовался модуль Transport of Diluted Species. Взаимодействие пробы с внутренними поверхностями канала описывалось кинетическим уравнением адсорбции при допущениях модели Лэнгмюра [6].

В рамках численного эксперимента проводилась верификация модели путем сравнения расчетного объемного расхода канала прямоугольного сечения с полученными в ходе натурных экспериментов результатами. Моделирование проводилось для стационарного случая.

Обсуждение результатов

В ходе экспериментальных исследований для четырех экспериментальных образцов газохроматографических колонок были получены значения объемного расхода газовой пробы, свидетельствующие о газовой проходимости изготовленных макетных образцов и соответствующие современным коммерческим газохроматографическим колонкам (порядка 0.5-1 см³/мин). Результаты экспериментальных испытаний представлены в таблице 1.

Согласно экспериментальным данным, приведенным в таблице 1, отклонение значений объемного расхода газа для разных образцов при одинаковых

давлениях не превышает 5%, что говорит о хорошей повторяемости технологических операций.

На рисунке 4 приведены результаты численных и натурных экспериментов по определению зависимости объемного расхода газа от давления на входе канала.

Как видно из представленных данных, разработанная модель с высокой точностью описывает зависимость объемного расхода аргона от давления на входе канала в сравнении с экспериментальными данными (отклонение менее 1%), что позволяет использовать ее для предварительных расчетов с целью определения оптимальной топологии канала газохроматографической колонки, в том числе, пилларной.

На рисунке 5 приведен пример расчетной зависимости объемного расхода от радиуса пиллара типа «цилиндр».

В рамках численных экспериментов, направленных на выявление наиболее эффективных с хроматографической точки зрения конфигураций канала, проводилось моделирование распространения концентрационного пика примеси по области моделирования, также вычислялось количество вещества в адсорбированном и свободном

Таблица 1. Результаты экспериментального определения объемного расхода аргона
 Table 1. Results of experimental determination of the volumetric flow rate of argon

№ п/п (образца)	Давление газа на входе в канал, атм.	Допустимое отклонение, атм.	Наименование значения	Измеренное значение, см ³ /мин.
1	1	±0.05	Объемный расход газа	0.060
	2			0.120
	3			0.185
2	1			0.064
	2			0.125
	3			0.186
3	1			0.059
	2			0.120
	3			0.180
4	1			0.062
	2			0.121
	3			0.183

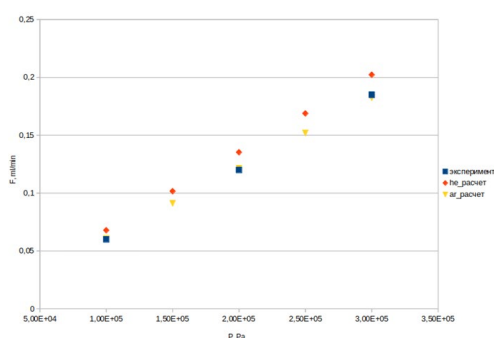


Рис. 4. Объемный расход в зависимости от давления на входе микроканала
 Fig. 4. Volume flow depending on the pressure at the inlet of the microchannel

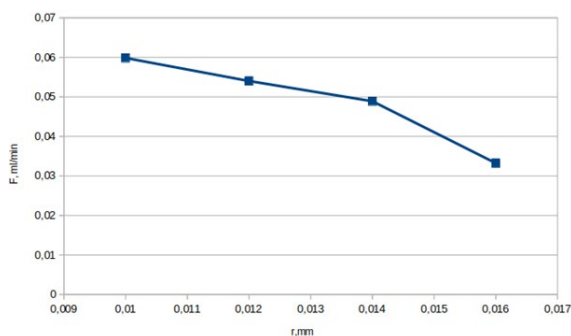


Рис. 5. Расчетная зависимость объемного расхода от радиуса пиллара типа «цилиндр»
 Fig. 5. Calculated dependence of volume flow on the radius of the "cylinder"-type pillar

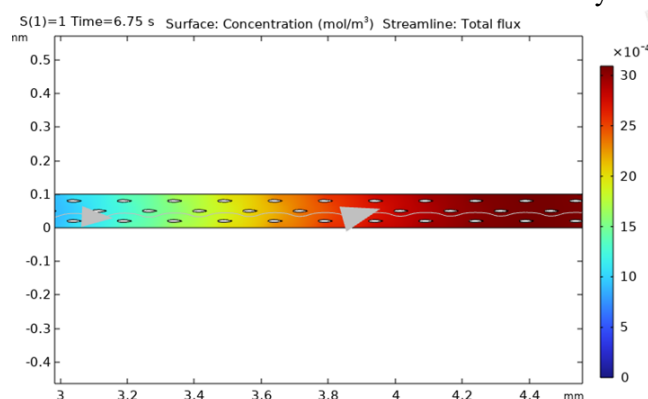


Рис. 6. Распределение концентрации пробы на участке микроканала с пилларами типа «капля» в условиях ламинарного течения газа носителя

Fig. 6. Distribution of sample concentration in the section of the microchannel with pillars of the "drop" type under conditions of laminar flow of the carrier gas

состоянии, что позволяет оценить взаимодействия с пробой. На рисунке 6 эффективность топологии с точки зрения приведено распределение концентрации

пробы в один из произвольных моментов времени на участке микроканала с пилларами типа «капля». Моделирование проводилось во временной области (time dependent).

Полученные в ходе моделирования результаты показывают, что при параметрах топологии, обеспечивающих одинаковые объемные расходы, количество вещества пробы, вступающего во взаимодействие с поверхностью для микроканалов с пилларами типа «капля» выше, чем для микроканалов с пилларами типа «цилиндр», что позволяет сделать вывод о потенциально большей эффективности колонок такого типа.

Заключение

Была разработана технология создания микрофлюидных газохроматографических колонок на плоскости кремниевых подложек с длиной канала 1 м и сечением канала 150x240 мкм. Показано, что результаты математического моделирования отличаются от экспериментальных данных менее чем на 1%, что делает

Список литературы/References

1. Terry SC, Jerman JH, Angell JB., A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer. *IEEE Transactions on Electron Devices*. 1979; 26(12): 1880-1886. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1979.19791>
2. Agafonov A.N., Platonov V.I., Batalova A.M., Potienko K.I., Gorovenko T.A., Eremin A.V., Development of the manufacturing technology of microfluidic systems on glass plates. *AIP Conference Proceedings*. 2020; 2276: 020038. <https://doi.org/10.1063/5.0026170>
3. Azzouz I., Bachari K., MEMS Devices for Miniaturized Gas Chromatography, *MEMS Sensors - Design and Application*. 2018; Ch.7: 149-169. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74020>
4. Chang B., Leussink P., Jensen F.,

возможным использование построенной модели для расчетов оптимального расположения пилларов внутри микрофлюидного канала, с целью получения максимальной загрузочной емкости и эффективности изготавливаемой газохроматографической колонки. Полученные в ходе моделирования результаты показывают, что при параметрах топологии, обеспечивающих одинаковые объемные расходы, количество вещества пробы, вступающего во взаимодействие с поверхностью для микроканалов с пилларами типа «капля» выше, чем для микроканалов с пилларами типа «цилиндр», что позволяет сделать вывод о потенциально большей эффективности колонок такого типа.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

- Hübner J., Jansen H., DREM: Infinite etch selectivity and optimized scallop size distribution with conventional photoresists in an adapted multiplexed Bosch DRIE process. *Microelectronic Engineering*. 2018; 191: 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2018.01.034>
5. Mu J., Chou X., He T., Ma Z., He J., Xiong J., Fabrication of high aspect ratio silicon micro-structures based on aluminum mask patterned by IBE and RIE processing. *Microsyst. Technol*. 2016; 22(1): 215-222. <https://doi.org/10.1007/s00542-015-2661-x>
 6. Agafonov A.N., Eremin A.V., Milanina K.I. Gavrillov V.M., Application of molecular dynamics for modeling processes in microfluidic devices. *J. of Physics: Conference Series*. 2021; 1745: 012076. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1745/1/012076>



Информация об авторах / Information about the authors

И.А. Платонов – профессор кафедры химии, д.т.н., Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

В.И. Платонов – доцент кафедры химии, к.х.н., Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

А.Н. Агафонов – доцент кафедры инженерии, к.т.н., Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

Т.А. Андреев – инженер кафедры наноинженерии, Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

К.И. Миланина – ассистент кафедры наноинженерии, Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

Н.А. Дюжев – директор ЦКП МСТ и ЭКБ, к.ф.-м.-н., Центр коллективного пользования «Микросистемная техника и электронная компонентная база», Зеленоград, Россия

М.Ю. Чиченков – директор центра проектирования изделий «Нано – и микросистемной техники», к.ф.-м.н., Центр коллективного пользования «Микросистемная техника и электронная компонентная база», Зеленоград, Россия

В.В. Парамонов – аспирант кафедры интегральной электроники и микросистем, Центр коллективного пользования «Микросистемная техника и электронная компонентная база», Зеленоград, Россия

I.A. Platonov – prof., grand Ph.D (technics), department of Chemistry, Samara National Research University, e-mail: pia@ssau.ru

V.I. Platonov – Ph.D. (chemistry), associate prof., department of Chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: rovvv@yandex.ru

A.N. Agafonov – Ph.D. (technics), associate prof., department of Nanoengineering, Samara National Research University named after academician S.P. Korolev, Samara, Russian Federation

T.A. Andreev – engineer, department of Nanoengineering, Samara National Research University named after academician S.P. Korolev, Samara, Russian Federation

K.I. Milanina – assistant lecturer, department of Nanoengineering, Samara National Research University named after academician S.P. Korolev, Samara, Russian Federation

N.A. Dyuzhev – Director of the CCU of MST and EKB, Ph.D. (physics and mathematics), Center for Collective Use "Microsystem Technology and Electronic Component Base", Zelenograd, Russian Federation

M.Yu. Chichenkov – Director of the Center for Product Design "Nano - and Microsystem Technology", Ph.D. (physics and mathematics), Center for Collective Use "Microsystem Technology and Electronic Component Base", Zelenograd, Russian Federation

V.V. Paramonov – post-graduate student, Department of Integrated Electronics and Microsystems, Center for Collective Use "Microsystem Technology and Electronic Component Base", Zelenograd, Russian Federation

Статья поступила в редакцию 09.04.2023; одобрена после рецензирования 04.05.2023; принята к публикации 17.05.2023.

The article was submitted 09.04.2023; approved after reviewing 04.05.2023; accepted for publication 17.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11315

Определение антоцианинов методами ВЭЖХ (обзор)

Александр Яковлевич Яшин¹, Яков Иванович Яшин²✉

¹Институт аналитической токсикологии», Москва, Россия, yashin@scietegra.com ✉

²Интерлаб, Москва, Россия

Аннотация. В кратком обзоре рассмотрены основные методы ВЭЖХ с разными детектирующими системами для определения антоцианинов. Основные применяемые детекторы: ультрафиолетовый, масс-спектрометрический, диодматричный, электрохимический и их сочетания. В обзоре приведены данные по суммарному содержанию антоцианинов в пищевых продуктах, а также приведен перечень фруктов, ягод, овощей, зерновых, напитков в которых определен состав антоцианинов разными методами ВЭЖХ. Приведен перечень болезней, риск которых снижается при регулярном потреблении антоцианинов. К ним относятся: сердечно-сосудистые, онкологические, диабет, нейродегенеративные и др. В некоторых работах показано, что антоцианины обладают терапевтическим эффектом.

Ключевые слова: антоцианины, методы ВЭЖХ, детекторы, антиоксидантная активность, пищевые продукты, влияние на здоровье человека.

Для цитирования: Яшин А.Я., Яшин Я.И. Определение антоцианинов методами ВЭЖХ (обзор) // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 351-359.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11315>

Original article

Determination of anthocyanins by HPLC methods (review)

Alexander Ya. Yashin¹, Yakov I. Yashin²✉

¹Institute of Analytical Toxicology, Moscow, Russian Federation, yashin@scietegra.com ✉

²Interlab, Moscow, Russian Federation

Abstract. In a brief review, the main HPLC methods with different detection systems for the determination of anthocyanins were considered. The main detectors used were: ultraviolet, mass spectrometric, diode array, electrochemical and their combinations. The review provides data on the total content of anthocyanins in food products, as well as a list of fruits, berries, vegetables, grains, drinks in which the composition of anthocyanins was determined by different HPLC methods. A list of diseases, the risk of which is reduced with regular consumption of anthocyanins was provided. These diseases include: cardiovascular, oncological, diabetes, neurodegenerative diseases, and others. Some studies have shown that anthocyanins have a therapeutic effect.

Keywords: anthocyanins, HPLC methods, detectors, antioxidant activity, food products, impact on human health.

For citation: Yashin A.Ya., Yashin Ya.I. Determination of anthocyanins by HPLC methods (review). *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy. 2023. 23(3): 351-359. (In Russ.)*. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11315>

Введение

Антоцианы (антоцианидины и антоцианины) относятся к классу флавоноидов, они природные красители (красные,

оранжевые, пурпурные, голубые, фиолетовые). Они содержатся во многих цветных ягодах, фруктах, овощах. Антоцианы – сильные антиоксиданты, их основное отличие заключается в том, что они

имеют в положении 1 около атома кислорода положительный заряд. Известны 21 антоцианидинов - агликонов без сахарных заместителей, широко распространены 6 типов: цианидин, пеларгонидин, дельфинидин, пеонидин и малвинидин. Антоцианидины различаются природой заместителей в положениях 1-7. Это атомы водорода, гидроксильные группы и метоксигруппы.

Антоцианины различаются природой присоединенных сахарных остатков к агликону и их положением. Возможные сахарные заместители: ксилоза, арабиноза, галактоза, глюкоза. В растениях идентифицировано свыше 600 разных антоцианинов. Как сильные антиоксиданты антоцианины обладают многими оздоровительными эффектами. Их применяют как пищевые добавки в качестве природных красителей под номером E163, они не токсичны. Антоцианины хорошо растворимы в воде. Они широко применяются в функциональной пище.

Определение антоцианинов методами ВЭЖХ

Антоцианины содержатся в пищевых продуктах в виде сложных смесей, поэтому для их разделения и определения применяют, в основном, хроматографические методы, чаще всего методы ВЭЖХ. Общее содержание антоцианинов в пищевых продуктах приведено в таблице 1. Последние достижения в анализах антоцианинов разными методами приведены в работах [3-6]. В таблице 2 приведен перечень методов ВЭЖХ с разными детекторами для определения антоцианинов. Прежде всего, надо указать на обращенно-фазовые варианты ВЭЖХ, самые распространенные, а также альтернативные методы гидрофильной хроматографии, которые весьма эффективны для сильнополярных соединений. Быстрее и эффективнее метода ВЭЖХ метод ультра ВЭЖХ. Самые применяемые детекторы: УФ, МС, МС/МС, ЭХД и ДМД. Иногда

используется и комбинация диодно-матричного и масс-спектрометрического детекторов. Перед анализом применяются классические методы экстракции жидкостно-жидкостные и твердофазные. Разработаны современные методы валидации конкретных методик ВЭЖХ.

В типичных методиках определения антоцианинов с использованием классического обращенно-фазового варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) применяют колонки с силикагелем с привитой алкильной цепью C18 [11-13], реже C6 и фенильные группы и еще реже перфторированные C18, на последнем разделении короче, а пики симметричнее. Колонки длиной от 150 до 250 мм с внутренним диаметром в пределах от 1 до 4.6 мм, размер частиц 5 мкм. Капиллярные колонки диаметром 0.1-1 мм. Подвижная фаза смесь воды, ацетонитрила или метанола с добавкой примеси одной из кислот муравьиной, уксусной, фосфорной или трифторуксусной кислоты, скорость потока 1-2 см³/мин, величина дозы 5мкл, температура 35 град. Детектирование обычно УФ-вид 520 нм.

Ультра ВЭЖХ [23-25] обеспечивает лучшее качество разделения, повышенную скорость разделения, высокую эффективность разделения, чем обычная ВЭЖХ. Идентификация антоцианинов производится с использованием следующих детекторов: масс-спектрометрический (МС), МС/МС, диодноматричный (ДМД) или сочетание МС И ДМД, ЯМР, ИКС (400-2500 нм).

В двумерных вариантах хроматографии [27] чаще используется сочетание обращенно-фазовой и гидрофильной хроматографии. В последние годы альтернативой ОФ ВЭЖХ становится гидрофильная хроматография. Гидрофильная хроматография – это сочетание нормально-фазового и обращенно-фазового вариантов хроматографии. В гидрофильной хроматографии полярны как неподвижные,

Таблица 1. Содержание антоцианинов в ягодах, фруктах и овощах [5, 6].

Table 1. The content of anthocyanins in berries, fruits and vegetables [5, 6].

Пищевые продукты	Содержание в мг/100г
Артишок	1480
Бузина	1375
Ежевика	750
Малина черная	687
Черная смородина	360-590
Баклажан	400
Черника	400
Голубика дикая	487
Голубика садовая	300-450
Капуста красная	280-360
Вишня	320
Апельсин	200
Клюква	110-168
Слива черная	101-146
Красный редис	70-130
Виноград	15-120
Малина красная	72-112
Красный лук	48,5
Черные бобы	44,5
Клубника	20-42
Слива светлая	14.6-23.4
Яблоки	1,3-14
Красная смородина	13
Крыжовник	0.7-10

так и подвижные фазы. Механизм удерживания в гидрофильной хроматографии очень сложен. В типичных методиках по определению антоцианинов методом гидрофильной хроматографии чаще используют такие сорбенты как силикагель, диольный силикагель, аминопропильный и цианопропильные силикагели [26]. В качестве подвижной фазы применяют ацетонитрил до 60-90%, вода, метанол, этанол и изопропанол. За счет низкой вязкости ацетонитрила можно использовать колонки большей длины (до 45 см) для увеличения общей эффективности. Добавляют буфер до 1% воды – она самый сильный элюент, увеличение ее доли уменьшает удерживание полярных веществ. Как уже указывалось выше, гидрофильная хроматография имеет перспективы в двумерных вариантах хроматографии для разделения сложных смесей.

Пищевые продукты, в которых определен состав антоцианинов (таблица 3), это ягоды, фрукты, овощи, злаки. Среди отдельных ягод и фруктов следует выделить виноград, бруснику, чернику, клюкву, малину, черную смородину, редкую ягоду асай, гранат. Много антоцианинов в цветных злаках: черной ржи, пурпурной пшенице, цветном рисе, цветном картофеле. Из напитков больше всего антоцианинов в красном вине за счет кожицы и зерен красного винограда. Много работ по определению антоцианинов в черноплодной рябине-аронии. Вызывает интерес содержание антоцианинов в цветках растений и в самих растениях, в частности, в каркаде, производимого из суданской розы.

Влияние антоцианинов на здоровье человека. Антоцианины оказывают общеоздоровительные эффекты на человека, на эту тему опубликовано много об



Таблица 2. Методы ВЭЖХ, применяемые для определения антоцианинов
Table 2. HPLC methods used for the determination of anthocyanins

Методы	Ссылки
ВЭЖХ – общие обзоры	7-9
ВЭЖХ-УФ	10
ОФ ВЭЖХ	11-13
ВЭЖХ-МС	14-16
ВЭЖХ-МС/МС	17
ВЭЖХ-ДМД	18, 19
ВЭЖХ-ДМД-МС	20, 21
ВЭЖХ – МС ВР	15
ВЭЖХ – ЭХД	22
УльтраВЭЖХ	23
УльтрВЭЖХ-МС	24, 25
Гидрофильная ВЭЖХ	26
Двумерная ВЭЖХ	27
Валидация ВЭЖХ	28
Экстракция антоцианинов	29-32
УльтраВЭЖХ-МС физиологических жидкостей	33
ВЭЖХ – MALDI-MS	34

Таблица 3. Пищевые продукты, в которых определено содержание антоцианинов
Table 3. Food items in which with anthocyanin content was determined

Пищевые продукты	Ссылки
Фрукты, овощи, злаки	35
Фрукты, овощи	32, 36
Шелковица – тутовые ягоды	37
Виноград	38
Брусника, черника	39
Красная малина	40
Вишня	41
Калина	42
Жимолость	43
Черника	44-46
Растения	47
Окрашенная рожь	48
Каркаде	49, 50
Пурпурная пшеница	51
Черноплодная рябина (арония)	52
Ягоды асай	53
Гранат	54
Цветной рис	55
Кожица красного винограда	56
Черная смородина	28
Красные и розовые вина	57
Бобы	58
Прочие пищевые источники	59
Чайные листья	60
Ячмень цветки	61
Клюква	10
Апельсиновый сок	62



Пищевые продукты	Ссылки
Функциональная пища	63
Голубика	64
Соки фруктов и овощей	65

Таблица 4. Влияние антоцианинов на здоровье человека

Table 4. The effect of anthocyanins on human health

Болезни, риск которых уменьшается при потреблении антоцианинов	Ссылки
Общие обзоры и книги о влиянии антоцианинов на здоровье	66-74
Сердечно-сосудистые заболевания	75, 76
Онкологические болезни	77-82
Диабет	83, 84
Нейродегенеративные болезни	85
Окислительный стресс	86
Ожирение	87
Болезни печени, замедление старения	88
Воспалительные болезни	89
Болезни глаз	90, 91
Ишемия мозга	92
Биодоступность антоцианинов	93, 94
Фармакокинетика антоцианинов	95
Влияние на микробиоту	96, 97

зоров и книг [66-74]. В таблице 4 приведен список болезней, риск которых снижается при регулярном потреблении антоцианинов, среди них самые распространенные и опасные: сердечно-сосудистые, онкологические, нейродегенеративные, диабет, воспалительные болезни, болезни печени, глаз. Способствует этим болезням окислительный стресс, который нейтрализуется антоцианинами. Антоцианины обладают даже терапевтическим эффектом [90]. Антоцианины ягод особенно помогают при многих болезнях [72, 73]. Для профилактики и лечения рака применяют окрашенные злаковые: красный сорго [77], черный рис [78-80], пурпурный картофель [81]. Против полноты - черная соя [87].

Список литературы/References

1. Andersen O.M. The Anthocyanins In: Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Eds Oyvind M. Andersen, Kenneth R. Markham, CRC Press Boca Raton FL. 2004. 1252 p.
2. Wu X., Beecher G.R. et al. Prior Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in

Заключение

В обзоре обобщены сведения об определении антоцианинов в пищевых продуктах методами ВЭЖХ с разными детекторами. Кроме фруктов и овощей больше всего определений антоцианинов в ягодах. Также антоцианины ягод больше всего позволяют снижать риск многих болезней, в том числе и самых опасных: сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных и др.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

the United States and Estimation of Normal Consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006; 54: 4069-4075.

3. Martin Bueno J., Suez-Plaza P. et al. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part 2. Chemical structure, color and intake of anthocyanins. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2012; 42: 126-151.



4. Teng Z., Jiang X., He F., Bai W. Qualitative and quantitative methods to evaluate anthocyanins. *Food*. 2020; 5: 339-346.
5. Valls J., Millan S., Marti M.P. et al. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *J. Chrom. A*. 2009; 1216: 7143-7172.
6. Aprelev A.V., Davydova E.V., Smirnov V.A., Panasyuk A.L. Antociany. Metody opredeleniya antocianov. *Nauka i mir*. 2018; 55: 32-39. (In Russ.).
7. Zhang Z., Kou X., Fugal K., Melaughlin J. Comparison of HPLC methods for determination of anthocyanins and anthocyanidins in bilberry extracts. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52: 688-691.
8. Durst R.M., Wrolstad R.E. Separation and characterization of anthocyanin by HPLC. *Current Protocols in Food Anal. Chem.* 2001; 1: F1.3.1-F1.3.13.
9. Trang Y.T., Hoang L., Hoai N. et al. Multiseparation of anthocyanins and anthocyanidins by HPLC combined with response surface methodology. *Health risk analysis*. 2019; 3: 14-21.
10. Brown P.N., Shipley P.R. Determination of anthocyanins in cranberry fruit and cranberry fruit product by HPLC with ultraviolet detection: single laboratory validation. *JAOAC Int.* 2011; 94: 459-466.
11. Luczkiewicz M. The RP-HPLC analysis of anthocyanins. Springer. 1998: 360-364.
12. Deineka V.I., Deineka L.A., Saenko I.I. Regularities of anthocyanins retention in RP-HPLC for «water-acetonitrile-phosphoric acid» mobile phases. *J. Anal. Met. Chem.* 2015; 2015: 1-6.
13. Yang G-X., Fan H., Li Y., Zheng Y. RP-HPLC determination of anthocyanins content in cultivated blueberries varieties. *Chinese J. Pharmaceutical Analysis*. 2005; 25: 1222-1224.
14. Sun J., Lin L., Chen P. Recent application of HPLC-MS analysis of anthocyanins in food materials. *Curr. Anal. Chem.* 2013; 9: 397-416.
15. Roa C.O. Scope and limitations of HPLC-HRES/MS for the analysis of anthocyanins from tropical fruits. *National Meeting*. 2016; 18-26.
16. Karaaslan N.M., Yannan M. Determination of anthocyanins in cherry and cranberry by HPLC-electrospray ionization - mass spectrometry. *Eur. Food Res. Techn.* 2015; 242: 127-135.
17. Liu J., Song J., Huang K. et al. HPLC-MS/MS analysis of anthocyanins in human plasma and urine protein precipitation and dilute-and-sheet sample preparation methods, respectively // *Biomed. Chromat.* 2018; 32: 20-25.
18. Hong V., Wrolstad R.E. Use of HPLC separation/ photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 1990; 38: 708-715.
19. Karaaslan-Ayhan N., Yaman M. Determination of anthocyanins and anthocyanidins in the wild grape by HPLC-diode array detection (HPLC-DAD). *Instrumentation Science and Technology*. 2022; 50: 31-36.
20. Stefanut M.N., Cata A., Pop R. et al. Anthocyanins HPLC-DAD and MS characterization, total phenolics and antioxidant activity of some berries extracts. *Anal. Letters*. 2011; 44: 118-123.
21. Hong H.T., Netzel M.E., O-Hare T.J. Optimization of extraction procedure and development of LC-DAD-MS methodology for anthocyanin analysis in anthocyanin-pigmented corn kernels. *Food Chem.* 2020; 38: 126515.
22. Dejneka L.A., Makarevich S.L., Dejneka V.I., Chulkov A.N. VEZHKH antocianov s amperometricheskimi detektorom: oценка antioksidantnoy aktivnosti. *ZHurnal analiticheskoy himii*. 2015; 70(8): 870-877. (In Russ.).
23. Shim Y.S., Kim S., Seo D., Parc M.J. Rapid method for determination of anthocyanin glucosidus and free delphinidin in grapes using UHPLC. *J. Chrom. Sci.* 2014; 52: 629-635.
24. A variety of Agilent Zorbax RRHD Phases offers selectivity options for the determination of anthocyanins in blueberries with UHPLC/MS. The Application Notebook Anne E. Mack, Agilent Technologies, 2011; 8.
25. Muller D., Shantz M., Richling E. HPLC analysis of anthocyanins in bilberries, blueberries and corresponding juices. *J. Food Sci.* 2012; 77: 340-345.
26. Willemse C.M., Stanger M.A., de Villiers A. Hydrophilic interaction chromatography analysis of anthocyanins. *J. Chrom. A*. 2013; 1319: 127-140.
27. Willemse C.M., Stander M.A., Tredoux A.C.J. et al. Comprehensive two-dimensional liquid chromatographic analysis of anthocyanins. *J. Chrom. A*. 2014; 359: 189-201.
28. Chen X., Parker J., Kzueger C.G. et al. Validation of HPLC assay for the identification and quantification of anthocyanins in black currants. *Anal. Methods*. 2014; 6: 8141-8147.



29. Silva S., Costa E., Calhau C. et al. Anthocyanin extraction from plant tissues. A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017; 57: 3072-3083.
30. Ongkowijoyo P., Luna-Vital D.A., de Mejica E.G. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry. An update. *Food Chem.* 2018; 250: 113-126.
31. Wang E., Yin Y., Xu. C., Liu J. Isolation of high-purity anthocyanin mixtures and monomers from blueberries using combines chromatographic techniques. *J. Chrom. A.* 2014; 1327: 39-48.
32. Lin L., Li J., Ding C. Determination of anthocyanins in fruits of lycium ruthenicum Murr. by HPLC. *Food Science.* 2013; 34: 164-166.
33. Kaiser M., Muller-Ehl L., Passon M., Schieber A. Development and validation of methods for the determination of Anthocyanins in physiological fluids via UHPLC-MS. *Molecules.* 2020; 24: 518-523.
34. Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T. i dr. Izuchenie antocianov plodov vi-nograda kul'turnogo s pomoshch'yu metodov VEZHKKH i MALDI/TOF/MS. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2013; 5: 1-6. (In Russ.)
35. Massa G., Miniati E. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. *CRC Press Boca Raton FL.* 1993; 362 p.
36. Horbowicz M., Kossen R., Gczesiuk A., Debski H. Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition. *Veg. Crops. Res. Bull.* 2008; 15: 5-22.
37. Kim I., Lee J. Variations in anthocyanin profiles and antioxidant activity of 12 genotype of mulberry fruits and their changes during processing. *Antioxidants.* 2020; 9: 242-249.
38. Mazza G. Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1995; 35: 241-271.
39. Brown E., Gill C., Stewart D., Mc Dougall E. Lingonberries and blueberries contain discrete epicatechin anthocyanin derivatives linked by ethyl bridges. *J. Berry Res.* 2016; 6: 13-23.
40. Wu X., Sun J., Ahuja J. et al. Anthocyanins in processed red raspberries on the US market. *J. Berry Res.* 2019: 603-613.
41. Dejneka L.A., Chulkov A.N., Dejneka V.I., Sorokopudov V.N., Shevchenko S.M. Antociany plodov vishni i rodstvennykh rastenij. *Regional'nye geosistemy.* 2011; 9-1 (104)^367-373.
42. Dejneka V.I., Chulkov A.N., Dejneka L.A., Zhandarmova P.A., Sorokopudov V.N., Rybickij S.M. Opredelenie antocianov plodov nekotorykh vidov kaliny metodom VEZHKKH. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy.* 2014; 14(3): 434-442.
43. Chulkov A.N., Gostishchev D.A., Dejneka L.A., Dejneka V.I., Pisarev D.I., Sorokopudov V.N., Sazonov S.A. Plody zhimolosti sineplodnoj kak istochnik antocianov. *Himiya rastitel'nogo syr'ya.* 2011; 4: 173-176.
44. Liu Y., Zhang D., Wu Y. Stability and absorption of anthocyanins from blueberries subjected to a simulated digestion process. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2014; 65: 440-448.
45. Mueller D., Jung K., Winter M. Encapsulation of anthocyanins from bilberries. Effects on bioavailability and intestinal accessibility in humans. *Food Chem.* 2018; 248: 217-224.
46. Schantz M., Mohn C., Baum M., Richling E. Antioxidative efficiency of an anthocyanin rich bilberry extract in the human colon tumor cell lines Caco-2 and HT-29. *J. Berry Res.* 2010; 1: 25-33.
47. De Pasenul-Teresa S., Sanchez-Ballesta M.T. Anthocyanins from plant to health. *Phytochem. Rev.* 2008; 7: 281-299.
48. Zykin P.A., Andreeva E.A., Lykholay A.N. et al. Anthocyanin composition and content in Rye plants with different grain colors. *Molecules.* 2018; 23: 948-953.
49. Molagoda I.M.N., Le K.T., Choi Y.H., Kim G.Y. Anthocyanins from Hibiscus syriensis Z. inhibit oxidative stress-mediated apoptosis by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Antioxidants.* 2020; 9: 42-49.
50. Choong Y.K., Mohd Yousof N.S.A., Jamal J.A., Wasiman M.T. Determination of anthocyanin content in two varieties of Hibiscus Sabdariffa from Selanor Malaysia using a combination of chromatography and spectroscopy. *J. Plant Sci. Phytopath.* 2019; 3: 67-75.
51. Abdel-Aal E.S.M., Huel P., Rabalski I. Compositional and antioxidant properties of anthocyanin-rich products prepared from purple wheat. *Food Chemistry.* 2018; 254: 13-19.
52. Rousseau K. Method Development for the Analysis of Anthocyanins in Aronio Berries via HPLC. 2014. Honors College. 176 p.
53. de Rosso V.V., Hillebrand S., Montilla E.C. et al. Determination of anthocyanins from



- acerola and acai by HPLC-PDA-MS/MS. *J. Food Compos. Anal.* 2008; 21: 291-299.
54. de Araujo Santiago M.C.P., Gouvea A.C. et al. Analytical standards production for the analysis of pomegranate anthocyanins by HPLC. *Braz. J. Food Technol.* 2014; 17: 43-47.
55. Kim M.K., Kim H.A., Koh K. et al. Identification and quantification of anthocyanin pigments in colored rice. *Nutrition Res. Practice.* 2008; 2: 46-49.
56. Benmezi F., Cadot Y., Djamaï R. et al. Determination of major anthocyanin pigments and flavonols in red grape skin of some table grape varieties (*Vitis vinifera* sp.) by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection (HPLC-DAD). *OENO One.* 2016; 50: 125-135.
57. HPLC-Determination of nine major anthocyanins in red and rose wines (Type 11) <https://www.oiv.int/standards/annex-a-methods-of-analysis-of-wines-and-musts/section-3-chemical-analysis/section-3-1-organic-compounds/section-3-1-5-other-organic-compounds/hplc-determination-of-nine-major-anthocyanins-in-red-and-rose-wines-%28type-ii%29>
58. Kan L., Nie S., Hu J. et al. Comparative study on the chemical composition anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food Chem.* 2018; 260: 317-326.
59. Clifford M.N. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary sources. *J.Sci.Food Agric.* 2000; 80: 1063-1072.
60. Kawashima M. Quantitative analysis of anthocyanins in tea leaves and barley. Shimadzu, Application News. 2021: 2.
61. Dejneka V.I., Kul'chenko Yu.Yu., Sidorov A.N. Opredelenie vidovogo sostava antocianov cvetkov. *Analitika i kontrol'.* 2019; 23: 103-109.
62. Mondello L., Cotroneo A., Errante G. Et al. Determination of anthocyanins in blood orange juices by HPLC analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2000; 23: 191-195.
63. Tsuda T. Anthocyanins as functional food factors chemistry, nutrition and health promotion. *Food Sci. Technol Res.* 2012; 18: 315-324.
64. Yang W., Guo Y., Liu M. et al. Structure and function of blueberry anthocyanins. A review of recent advances. *J. Func. Foods.* 2022; 88: 104864.
65. Matute A., Tabart J., Cheramy-Bien J.P. Ex Vivo antioxidant capacities of fruits and vegetables juices. Potential in vivo extrapolation. *Antioxidants.* 2021; 10: 770-778.
66. Wallace T.C., Ginsti M.M. Anthocyanins in health and disease. CRC Press. Boca Raton FL. USA. 2014: 368.
67. Rias M., Zia-Ul-Hag M., Saad B. Anthocyanins and human health. Biomolecular and therapeutic aspects. Springer. New York. NY. USA 2016; 12: 138.
68. Speer H., Cunha N.H., Alexopoulos N.I. Anthocyanins and human health – A Focus in oxidative stress, inflammation and disease. *Antioxidants.* 2020; 9: 366-375.
69. Li D., Wang P., Luo Y. et al. Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms-update from recent decade. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017; 37: 1729-1741.
70. Tsuda T. Dietary anthocyanin-rich plants. Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Mol. Nutr. Food Res.* 2012; 56: 159-170.
71. Tena N., Martin J., Asuero A.G. State of the art of anthocyanins-antioxidant activity, sources, bioavailability and therapeutic effect in human health. *Antioxidants.* 2020; 9: 451-461.
72. Kalt W., Cassidy A., Howard L.R. et al. Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. *Adv. Nutr.* 2019; 11: 224-236.
73. Zafra-Stone S., Yosmin T., Bagchi M. et al. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 675-683.
74. Khor H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M. Anthocyanidins and anthocyanins. Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food Nutr. Res.* 2017; 61: 1361779.
75. Cassidy A. Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. *Mol. Aspects Med.* 2018; 61: 76-82.
76. Cassidy A., Bertoia M., Chiuve S. et al. Habitual intake of anthocyanins and flavanones and risk of cardiovascular disease in men. *Am. J. Clin Nutr.* 2016; 104: 587-594.
77. Devi P.S., Kumar M.S., Das S.M. Evaluation of antiproliferation activity of red sorghum bran anthocyanins on human breast cancer cells line (mcf). *Int. J. Breast Cancer.* 2011; 891481.
78. Hui C., Bin Y., Xiaoping Y. et al. Anti-cancer activity of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro



- and in vivo. *Nutr. Cancer*. 2010; 62: 1128-1136.
79. Chen X.Y., Zhou J., Luo L.P. et al. Black rice anthocyanins suppress metastasis of fruit cancer cells. *Biomed. Res. Int.* 2015; 414250.
80. Chen P.N., Kuo W.H., Chiang C.L. et al. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMP AND v-PA expression. *Chem Biol. Interact.* 2006; 163: 218-229.
81. Lim S., Xu J., Kim J. et al. Role of anthocyanin-enriched purple-fleshed sweet potato in colorectal cancer prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013; 57: 1905-1917.
82. Nang L.S., Stoner G.D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Lett.* 2008; 269: 251-290.
83. Ghosh D., Konishi T. Anthocyanins and anthocyanidins-rich extracts. Role in diabetes and eye function. *Asian Pac. J. Clin. Nutr.* 2007; 16: 200-208.
84. Kang M.K., Lim S.S., Li J.V. et al. Anthocyanin-rich purple corn extract diabetes-associated glomerular angiogenesis. *PLoS ONE*. 2013; 8: 79823.
85. Winter A.N., Bickford P.C. Anthocyanins and their metabolites as therapeutical agents for neurodegenerative disease. *Antioxidants*. 2019; 8: 333-339.
86. Wang H., Cao G., Prior R.L. Oxygen Radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric Food Chem.* 1997; 45: 304-309.
87. Kwan S.H., Ahn I.S., Kim S.C. et al. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. *J. Med. Food*. 2007; 10: 552-556.
88. Wei J., Zhang G., Zhang X. et al. Anthocyanins delay ageing-related degenerative changes in the liver. *Plant food Hum Nutr.* 2017; 72: 425-431.
89. Miguel M.G. Anthocyanins. Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2011; 1: 7-15.
90. Nomi Y., Iwasaki-Kurasnige K., Matsumoto H. Therapeutic effects of anthocyanins for vision and eye health. *Molecules*. 2019; 24: 3311-3315.
91. Paik S.S., Jeong E., Jung S.W. et al. Anthocyanins from the seed coat of black soybean reduce retinal degeneration. *Exp. Eye Res.* 2012; 97: 55-62.
92. Snemiene K., Pampusecuko K., Rekuviene E. et al. Protective effects of anthocyanins against brain ischemic damage. *J. Biol. Membr. Biomembr.* 2020; 52: 71-82.
93. Fang J. Bioavailability of anthocyanins. *Drug Metab. Rev.* 2014; 46: 508-520.
94. Kay C.D., Pereira-Caro G., Ludwig I.A. et al. Anthocyanins and flavanones are more bioavailable than previously perceived. A review of recent evidence. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2017; 8: 155-180.
95. Kay C.D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in human. *Nutr. Res. Rev.* 2006; 19: 137-146.
96. Tian L., Tan Y., Chen G. et al. Metabolism of anthocyanins and consequent effects on the gut microbiota. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019; 59: 982-991.
97. Peng Y., Yen Y., Wan P. et al. Effects of long-term intake of anthocyanins from Murray on the organism health and gut microbiota in vivo. *Food Res. Intern.* 2020; 130: 108952.
98. Ogawa K., Sakakibara H., Iwata R. et al. Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry and other berries. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56: 4457-4462.
99. Dejneka V.I., Saenko I.I., Blinova I.P. Hidrofil'naya hromatografiya kak al'ternativa obrashchenno-fazovoj VEZHKH dlya opredeleniya antocianov i betacianinov. *ZH. analit. himii.* 2016; 71: 310-314.

Информация об авторах / Information about the authors

Яшин Яков Иванович – д.х.н., профессор, научный консультант компании «Интерлаб», Москва, Россия

Яшин Александр Яковлевич – к.х.н., старший научный сотрудник ООО «Институт аналитической токсикологии», Москва, Россия

Yashin Yakov I. – Dr.Sci. (chemistry) professor, Scientific Consultant of Interlab, Moscow, Russian Federation

Yashin Alexander Ya. – Dr.Sci. (chemistry), Senior Researcher, Institute of Analytical Toxicology, Moscow, Russian Federation

Статья поступила в редакцию 03.02.2023; одобрена после рецензирования 11.04.2023; принята к публикации 19.04.2023.

The article was submitted 03.02.2023; approved after reviewing 11.04. 2023; accepted for publication 19.04.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11316

Сорбционные процессы в системе «6-метилурацил – сверхсшитый полимер»

Ирина Викторовна Шкутина¹✉,

Наталья Владимировна Мироненко², Владимир Федорович Селеменев²

¹Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия, irn55@mail.ru✉

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. В работе приводятся результаты исследования процессов сорбции 6-метилурацила (МУ) низкоосновным анионообменником А-100 и высокоосновным анионообменником А-500R, которые имеют макропористую структуру. Выявлено, что максимальная сорбция наблюдается при pH 3.2-3.5, т.е. в области, когда 6-метилурацил (6-метил-2,4-диоксо-пиримидин) находится в растворе в виде лактама. Проведен анализ полученных изотерм сорбции. Отмечено, что формирование мономолекулярных слоев 6-метилурацила (МУ) на ионообменниках А-100 и А-500R может быть описано уравнением изотермы Ленгмюра. С увеличением концентрации МУ во внешнем растворе процесс сорбции обусловлен за счет таких взаимодействий, как ассоциирование «сорбат-сорбат». На основе литературных данных и данных ИК-спектроскопии показано, что в макропорах и на поверхности анионообменников происходит формирование полимолекулярных слоев метилурацила, которое описывается уравнением Брунауэра-Эммета-Теллера (БЭТ). Сделано предположение, что при этом имеет место формирование супрамолекулярных структур в виде ионов и молекул 6-метилурацила. Наибольший вклад в процесс поглощения МУ сорбентами вносят водородные связи и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. Наряду с этим, во взаимодействии между сорбированными ионами 6-метилурацила возможно проявление электростатических сил.

Рассмотрены возможные перспективы использования сверхсшитых анионообменников для выделения и концентрирования 6-метилурацила из пищевых производственных растворов. Для этого изучена сорбция МУ в кинетических условиях с учетом кислотности раствора. На основании полученных в ходе эксперимента кинетических данных сделано предположение, что процесс сорбции лимитируется, главным образом, стадией внутренней диффузией. Коэффициенты диффузии МУ составляют на А-100 $1.12 \cdot 10^{-9}$ см²/с; для А-500R – $2.45 \cdot 10^{-9}$ см²/с. Время достижения равновесия на рассматриваемых сорбентах составляет в среднем 60 минут.

Ключевые слова: метилурацил, сверхсшитый сорбент, анионообменник, кинетическая кривая, изотерма сорбции, ИК спектроскопия.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект FZGU-2023-0009

Для цитирования: Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф. Сорбционные процессы в системе «6-метилурацил–сверхсшитый полимер» // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 3. С. 360-372. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11316>

Original article

Sorption processes in the "6-methyluracil-super-cross-linked polymer" system

Irina V. Shkutina¹✉, Natalia V. Mironenko², Vladimir F. Selemenev²

¹Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation, irn55@mail.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation



Abstract. The study presents the results of investigation of the processes of sorption of 6-methyluracil (MU) by low basic anion exchanger A-100 and high basic anion exchanger A-500R, which have a macroporous structure. It was found that the maximum sorption was observed at pH 3.2-3.5; in the area when 6-methyluracil (6-methyl-2,4-dioxo-pyrimidine) was in the lactam form in the solution. The obtained sorption isotherms were analysed. It was noted that the formation of monomolecular layers of 6-methyluracil (MU) on A-100 and A-500R ion exchangers can be described by the Langmuir isotherm equation. With an increase in the MU concentration in the external solution, the sorption process was due to such interactions as the "sorbate-sorbate" association. Based on the literature data and IR spectroscopy data, it was shown that in macropores and on the surface of anion exchangers, polymolecular layers of methyluracil were formed. These layers were described by the Brunauer-Emmett-Teller (BET) equation. It has been suggested that in this case the formation of supramolecular structures in the form of ions and molecules of 6-methyluracil occurred. Hydrogen bonds and van der Waals interactions made the greatest contribution to the absorption of MC by sorbents. Along with this, the manifestation of electrostatic forces is possible in the interaction between the sorbed ions of 6-methyluracil. Possible prospects for the use of hypercrosslinked anion exchangers for the isolation and concentration of 6-methyluracil from food production solutions were considered. For this, the sorption of MU under kinetic conditions was studied taking into consideration the acidity of the solution. Based on the kinetic data obtained during the experiment, it was suggested that the sorption process is limited mainly by the internal diffusion stage. The diffusion coefficient of MU on A-100 was $1.12 \cdot 10^{-9}$ cm²/s; for A-500R it was $2.45 \cdot 10^{-9}$ cm²/s. The time to reach equilibrium on the considered sorbents was on average 60 minutes.

Keywords: methyluracil, hypercrosslinked sorbent, anion exchanger, kinetic curve, sorption isotherm, IR spectroscopy.

Acknowledgments: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of state order to higher education institutions in the sphere of scientific research for 2023-2025, project FZGU-2023-0009..

For citation: Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenev V.F. Sorption processes in the "6-methyluracil-super-cross-linked polymer" system. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 360-372. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11316>

Введение

Селективность сорбционных процессов в большой степени зависит от ионообменных, сольватационных (гидратационных) свойств, поверхностных и структурных характеристик сорбента и сорбата [1-3]. При разработке новых лекарственных препаратов по-прежнему актуальным остается применение известных фармакологически активных веществ (ФАВ) как основы модификации и получения целевого вещества.

6-метилурацил (6-метил-2,4-диоксопиримидин или 2,4-диоксо-6-метил-1,2,3,4-тетрагидропиримидин) стимулирует лейко- и эритропоэз, клеточные и гуморальные факторы, активизирует биоэнергетические процессы, проявляет антиоксидантное действие [4-6]. Подтверждено, что 6-метилурацил (МУ) обладает анаболической активностью, способствует процессам клеточной регенерации и заживлению ран, воздействует на органы желудочно-кишечного тракта, что объясняет его применение при гастритах, патологии печени, заживлению язв [7].

Исследуются синтезированные комплексы соединения производных МУ с янтарной, фумаровой, аскорбиновой, лимонной кислотами, сукцинатом натрия, обладающие высокой антигипоксической активностью [8, 9].

К настоящему времени известен широкий спектр сорбентов, позволяющий существенно расширить область их применения для производства лекарственных средств [1-3, 10-14]. Для изучения возможности выделения 6-метилурацила из растворов вторичного сырья были исследованы сверхсшитые полимерные сорбенты на основе стирола с дивинилбензолом макропористой структуры, обладающие высокой сорбционной емкостью и селективностью по отношению к органическим веществам. В качестве объектов исследования использованы сорбенты фирмы Purolite: низкоосновный анионообменник А-100 (содержащий преимущественно третичные $=N^+(CH_3)_2$ аминогруппы) и высокоосновный анионообменник А-500R (с четвертичными аммониевыми основаниями $-N^+(CH_3)_3$) [11].

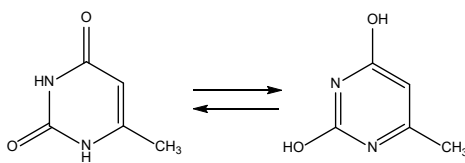


Рис. 1. Лактам-лактимная формы метилурацила.
 Fig 1. Laktam-lactimal forms of methyluracil.

Поскольку 6-метилурацил относится к главной группе пиримидиновых оснований, содержащих в цикле атомы азота, он обладает специфическими свойствами, которые (по мнению авторов) необходимо учитывать при рассмотрении процессов его сорбции. Во-первых, в зависимости от кислотности среды раствора 6-метилурацил находится в лактамной или в лактимной форме (рис.1). Известно, что в интервале $\text{pH}=1-6$ МУ существует в лактамной (кето) – форме; в интервале $\text{pH}=6-9$ – как в лактамной, так и в лактимной формах; при $\text{pH}=9-12$ – преимущественно в лактимной форме [15]. Во-вторых, в связи с вышесказанным, представлялось важным рассчитать с помощью программы MarvinSketch 22.14 (ChemAxon) распределение в зависимости от pH среды ионных форм 6-метилурацила (схема 1) (рис. 2). $\text{pK}_{\text{a}}(1)$ и $\text{pK}_{\text{a}}(2)$ 6-метилурацила равны 8,22 и 13,36 соответственно.

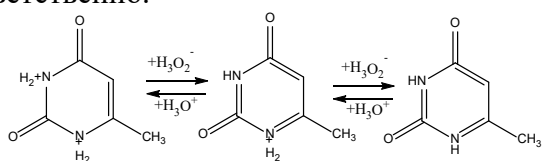


Схема 1.

Из рис.2 видно, что данное пиримидиновое основание существует в виде двухзарядных, однозарядных катионов и в виде нейтральных молекул.

Учитывая два вышеуказанных фактора, авторы посвятили значительный объем экспериментов изучению особенностей поглощения двухзарядных катионов 6-метилурацила. В этом случае ионообменные взаимодействия между анионообменниками А-100 и А-500R, имеющими положительно заряженные функ-

циональные аминогруппы, с двухзарядными катионами МУ сведены к минимально значимым параметрам [12, 16, 17].

В-третьих, 6-метилурацил (как и другие главные и минорные пиримидиновые основания) способен в результате самоассоциации объединяться в димеры и в тетрамеры посредством Н-связей и сил Ван-дер-Ваальса [18, 19]. Однако, в приведенных работах авторы уделили основное внимание ассоциации нейтральных молекул пиримидинов. Считаем, что процессы самоассоциации 6-метилурацила могут быть характерны и для его катионов (при сорбции МУ анионитами). Поэтому целью данной работы явилось установление закономерностей сорбции молекул и ионов 6-метилурацила на сверхсшитых макропористых анионообменниках А-100 и А-500R в равновесных и кинетических условиях.

Экспериментальная часть

Для получения изотерм сорбции 6-метилурацила на ионообменниках использовали метод переменных концентраций. Навески сорбента (1.0000 ± 0.0002 г) заливали растворами разной концентрации МУ ($0.25 \cdot 10^{-2} - 2.80 \cdot 10^{-2}$ ммоль/дм³) при различных значениях pH . Содержимое колб выдерживали при перемешивании в течение 60 минут до установления равновесия в системе, которое было определено ранее. Далее отбирали аликвоты и анализировали растворы на содержание 6-метилурацила спектрофотометрическим методом. Анализ проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 при длине волны $\lambda=260$ нм. Количество 6-метилурацила в фазе сорбента вычисляли по разности концентраций исходного и

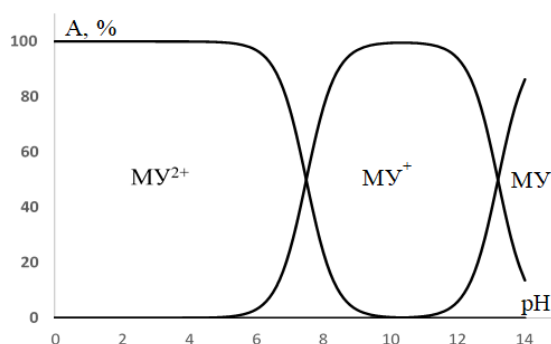


Рис. 2. Диаграмма распределения ионных форм 6-метилурацила в зависимости от pH раствора (рассчитана в программе MarvinSketch 22.14, ChemAxon).
 Fig. 2. Diagram of the distribution of ionic forms of 6-methyluracil depending on the pH of the solution (calculated in the program MarvinSketch 22.14, ChemAxon).

равновесного растворов. При подборе условий сорбции варьировали значение кислотности среды. Для создания необходимого значения pH использовали 1M растворы соляной кислоты и гидроксида натрия. Стандартное отклонение полученных в ходе эксперимента результатов не превышало величину 0.01 [12,24].

Анализ образцов 6-метилурацила, исходных сорбентов и сорбентов, насыщенных МУ, проводили методом ИК-спектроскопии в виде таблеток с KBr. ИК-спектры регистрировали на приборе «Инфралюм ФТ-02» в интервале частот 4000-400 см^{-1} [12, 20, 21].

Кинетические опыты проводили в статических условиях при температуре 293 ± 2 K методом ограниченного объема при непрерывном перемешивании раствора. В конические колбы с притертой пробкой объемом 1000 см^3 помещали навески воздушно-сухого сорбента массой 1.0000 ± 0.0002 г и заливали раствором 6-метилурацила с концентрацией $2.00 \cdot 10^{-2}$ ммоль/ дм^3 . Через определенные промежутки времени отбирали аликвоты по 5.00 см^3 . Определение равновесной концентрации сорбата в водных растворах проводили спектрофотометрическим методом, как описано выше при получении изотерм сорбции [12-14, 20].

Обсуждение результатов

Изучение зависимости количества сорбированного анионообменниками 6-

метилурацила при различных значениях кислотности среды позволило установить, что наибольшее поглощение сорбата наблюдается при pH 3.1-3.5 (рис.3).

Из рис. 3 следует, что анионит А-500R по сравнению с анионитом А-100 более эффективно сорбирует 6-метилурацил во всем интервале изученных pH. Предположительно, данный эффект может быть связан с особенностями структуры поверхности и размерами пор в анионите А-500R [20, 22, 23]. Ведь способ сшивки полистирола 4,4'-(хлорметилдифенилом) (ХМДФ) по реакции Фриделя-Крафтса [22] приводит к образованию сшивающих мостиков между двумя стирольными цепями, которые на два фенильных кольца длиннее, чем исходные сшивающие агенты (схема 2).

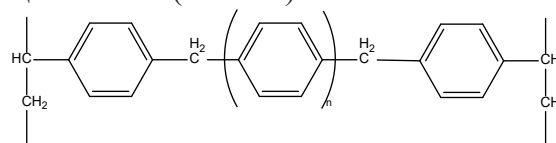


Схема 2.

Авторы [22] полагают, что полученная таким образом структура А-500R относится к изопористому типу. Поскольку при pH 3.1-3.5 среды равновесие в растворе 6-метилурацила сдвинуто преимущественно в сторону образования лактама (рис.1) и сродство органической фазы к кето-форме выше [15], то можно утверждать, что полимерные сорбенты будут поглощать именно данную форму.

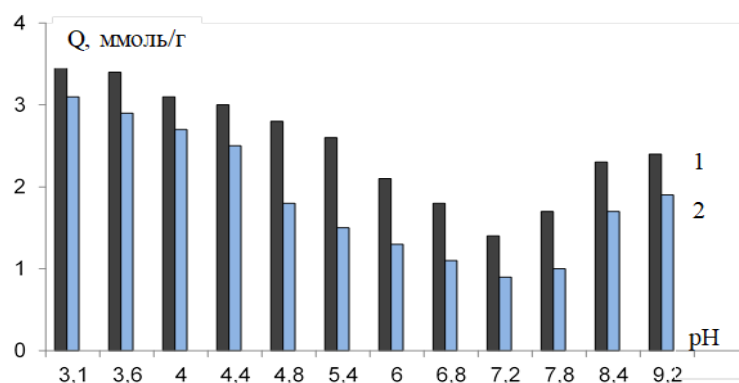


Рис. 3. Зависимость количества сорбированного 6-метилурацила на А-500R (1) и А-100 (2) от рН раствора. Концентрация исходного раствора МУ – $2.00 \cdot 10^{-2}$ ммоль/см³.
 Fig. 3. Dependence of the amount of methyluracil sorbed on A500R (1) and A100 (2) on the pH of the solution. Concentration of the initial solution MU – $2.00 \cdot 10^{-2}$ mmol/cm³.

Изотермы сорбции 6-метилурацила на рассматриваемых полимерах (рН внешнего равно 3.2) приведены на рис. 4. В области низких концентраций на изотермах сорбции наблюдается практически линейная зависимость с последующим выходом на плато. Данное обстоятельство можно рассматривать как формирование мономолекулярного слоя сорбата [20, 23, 24]. Высокая удельная поверхность анионообменников обуславливает возможность π - π электронного взаимодействия между гетероциклами и стирольными фрагментами матрицы полимера [20].

Известно, что молекулы 6-метилурацила в лактамной форме могут образовывать четыре водородные связи: две за счет NH-групп и две за счет C=O групп [16, 18, 19]. Кристаллическая структура МУ представляет собой ассоциаты молекул ленточного или сеточного типа, связанные между собой водородными связями различной прочности [18]. Следует отметить, что в ассоциатах молекул сеточного типа присутствуют чередующиеся гидрофильные и гидрофобные полости, именуемые «центрами распознавания». Авторы [19], исследуя механизм «наследования» раствором элементов структуры исходных кристаллов 6-метилурацила, пришли к выводу, что в растворе его молекул могут существовать более или менее крупные обрывки сеток или лент с достаточной стабильностью.

Устойчивость подобных фрагментов обусловлена, в основном, наличием водородных связей [19,20], что следует учитывать при обосновании механизма сорбции 6-метилурацила анионитами.

Можно полагать, что первый перегиб на изотерме сорбции МУ объясняется взаимодействием димеров 6-метилурацила с бензольными кольцами сорбентов с образованием стэкинг-структур за счет дисперсионных сил. После модификации сорбентов 6-метилурацилом их поверхность в макропорах анионитов становится более полярной из-за наличия в ионах сорбата двух кето-групп и двух аминогрупп в пиримидиновом цикле.

На схеме 3 представлен один из вариантов образования монослоя двухзарядных катионов 6-метилурацила на поверхности макропор анионообменников А-100 и А-500R. Штрихами обозначены дисперсионные связи между сорбентом и сорбатом.

В дальнейшем сорбция происходит за счет ассоциации ионов 6-метилурацила друг с другом. Это обстоятельство приводит к образованию на поверхности сорбента и в макропорах анионита полимолекулярных слоев (рис.5) [16, 17, 20].

Определяющую роль на данном этапе играют, в основном, Н-связи между ионами МУ²⁺, ведущие к образованию супрамолекулярных комплексов, подобных

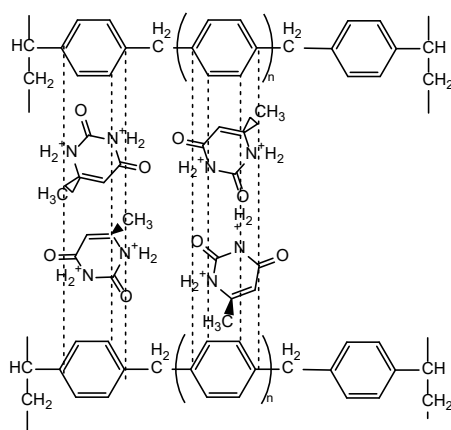


Схема 3.

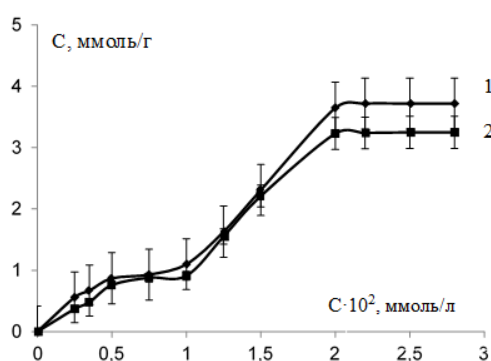


Рис.4. Изотермы сорбции метилурацила на А-500R (1) и А-100 (2).
 Fig.4. Isotherms of methyluracil sorption on A-500R (1) and A-100 (2).

ассоциатам в [18]. Структура этих агрегатов напоминает кристаллическую структуру 6-метилурацила с чередующимися полостями. Очевидно, что определенную роль при ее формировании играют молекулы воды, заполняющие гидрофильные полости с образованием гидратных комплексов (конгломератов). В связи с тем, что трехмерная структура сверхсшитых полистиролов представляет полимерную сетку, обладающую развитой внутренней поверхностью (до $1500 \text{ м}^2/\text{г}$) и определенной подвижностью, то это способствует самоорганизации структурированных фаз с ионами 6-метилурацила (что отмечено при сорбции ряда органических ионов и молекул [25-28]).

В кристаллической форме фармакопейного препарата МУ молекулы объединены в димеры благодаря Н-связям. Димеры далее ассоциируются в слои за счет сил Ван-дер-Ваальса и водородных свя-

зей [17-19]. Согласно термодинамическим исследованиям, димеризация дает значительный выигрыш в свободной энергии, и при растворении димеры амидного типа сохраняют термодинамическую стабильность [19]. В растворах наряду с димерами могут находиться также и фрагменты ассоциатов, существующие в растворяемом кристалле [18]. Поэтому, при возрастании концентрации 6-метилурацила в растворе выше $1.00 \cdot 10^{-2}$ моль/дм³, сорбция отдельных ионов и молекул становится энергетически менее выгодна, чем сорбция ассоциатов.

Проведено сравнение ИК-спектрограмм образцов 6-метилурацила, исходных анионитов А-100 и А-500R и ионитов, насыщенных катионами МУ²⁺. В ИК-спектрах сорбентов после контакта с сор-

Таблица 1. Значения сорбционных параметров, рассчитанных с использованием уравнений Ленгмюра и БЭТ

Table 1. Values of sorption parameters calculated using the Langmuir and BET equations

Сорбент	Модель Ленгмюра			
	Q_{∞} , ммоль/г	K_L , дм ³ /ммоль	R^2	
A-100	0.95	2.65	0.98	
A500R	0.78	2.17	0.98	
Сорбент	Модель БЭТ			
	Q_{∞} , ммоль/г	K_L , дм ³ /ммоль	K_S , дм ³ /ммоль	R^2
A-100	0.91	4.75	0.35	0.96
A500R	0.82	3.97	0.18	0.97

где Q_{∞} – предельное количество сорбированного метилурацила (емкость монослоя), ммоль/г; K_L – константа сорбционного равновесия, характеризующая интенсивность процесса сорбции, л/ммоль; K_S – константа сорбционного равновесия для полимолекулярного слоя, л/ммоль; R^2 – коэффициент детерминации.

батов отмечается появление интенсивных полос поглощения, характерных пиримидиновому основанию. Полоса поглощения 1720 см⁻¹ характерна валентным колебаниям ν C=O карбонильной группы [21]. Следует отметить, что обычно колебания C=O группы в циклах проявляются при 1750-1740 см⁻¹ [20, 21]. Это свидетельствует об участии группы C=O в образовании межмолекулярных Н-связей. Данный эффект подтверждается наличием полос 3307 и 3200 см⁻¹, указывающих на ассоциацию =N⁺H₂-групп с C=O-группой соседнего иона с образованием группировки [C=O...H-N⁺H]. Наряду с этим, в ИК-спектре присутствуют максимумы при 3341 и 1524 см⁻¹, относящиеся к валентным колебаниям N⁺H₂-групп, связанных с H₂O, и наличием [H₂O...H-N⁺H]-группировок. Полученные ИК-данные подтверждают справедливость ассоциативных процессов на рис. 4, 5. В ИК-спектрах системы «МУ²⁺-анионит» наблюдаются полосы поглощения, характерные колебаниям ν_{as} 3547 см⁻¹ и ν_s 3400; 3380 см⁻¹ слабоассоциированных аминогрупп [20, 21].

Равновесные параметры сорбции 6-метилурацила на рассматриваемых анионитах были рассчитаны с использованием моделей Ленгмюра и БЭТ [23, 24]. Для расчета значений констант (табл. 1), входящих в уравнения изотерм Ленгмюра (4) и БЭТ (5), использовали линеаризованные уравнения данных моделей:

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_{\infty} K_L C_p} + \frac{1}{Q_{\infty}} \quad (1)$$

$$\frac{C_p}{Q(1 - K_S C_p)} = \left(\frac{K_L - K_S}{Q_{\infty} K_L} \right) C_p + \frac{1}{Q_{\infty} K_L} \quad (2)$$

где Q – количество сорбируемого метилурацила, ммоль/г; Q_{∞} – предельное количество сорбированного метилурацила (емкость монослоя), ммоль/г; C_p – равновесная концентрация раствора, ммоль/дм³; K_L – константа сорбционного равновесия, характеризующая интенсивность процесса сорбции, дм³/ммоль; K_S – константа сорбционного равновесия для полимолекулярного слоя, дм³/ммоль.

Полученные с помощью моделей Ленгмюра и БЭТ величины предельной емкости монослоя (Q_{∞}) МУ на анионообменниках сопоставимы, тогда как параметр K_L , характеризующий интенсивность процесса сорбции для рассматриваемых моделей, отличается. Предполагают, что это связано с тем, что в модели Ленгмюра учитываются только мономолекулярные взаимодействия, а в модели БЭТ рассматривается полимолекулярный процесс сорбции. Таким образом, для количественного описания изотермы на начальном участке следует использовать уравнение Ленгмюра; при анализе всей изотермы необходимо использовать соотношение БЭТ.

При концентрировании 6-метилурацила из водных растворов значимым фактором выступает определение времени проведения процесса сорбции. Для этого

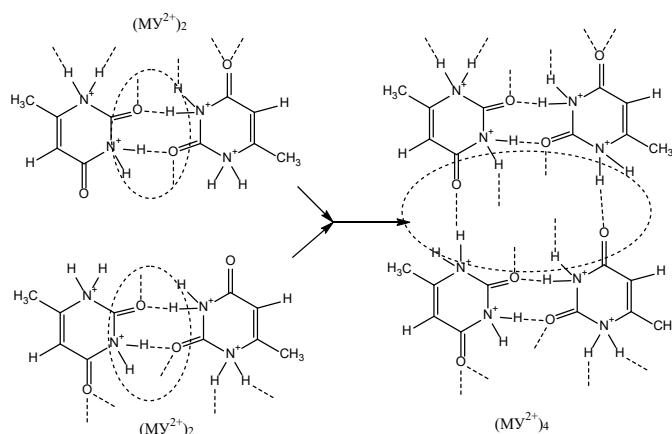


Рис. 5. Один из возможных вариантов ассоциирования двухзарядных катионов 6-метилурацила в фазе анионитов. Штриховыми линиями обозначена образовавшаяся большая полость (MU^{2+}) в фазе анионита в одном из монослоев.

Fig. 5. One of the possible variants of the association of double-charged 6-methyluracil cations in the anionite phase. Dashed lines indicate the formed large cavity (MU^{2+}) in the anionite phase in one of the monolayers

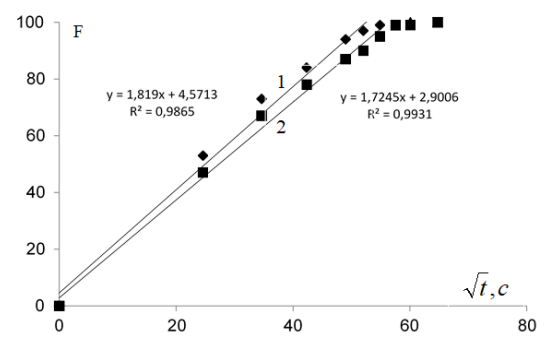


Рис. 6. Зависимость степени заполнения F от \sqrt{t} при сорбции метилурацила на А500R (1) и А100 (2): F – степень достижения равновесия за время t ; t – продолжительность процесса, с.

Fig. 6. The dependence of the degree of F filling on \sqrt{t} during the sorption of methyluracil on A500R (1) and A 100 (2): F is the degree of achieving equilibrium during t ; t is the duration of the process, s.

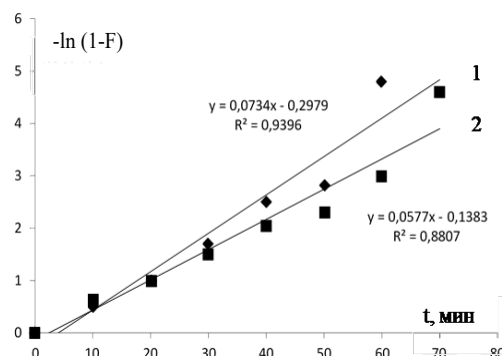


Рис. 7. Кинетические кривые сорбции метилурацила на А500R (1) и А100 (2), построенные в координатах $-\ln(1-F) - t$.

Fig. 7. Kinetic curves of methyluracil sorption on A500R (1) and A100 (2), plotted in coordinates $-\ln(1-F) - t$.

наиболее часто используют кинетические опыты, которые к тому же позволяют установить лимитирующую стадию поглощения вещества [12-14]. На рис. 6-7 представлены результаты исследования кинетики сорбции 6-метилурацила полимерными сорбентами. Время установления равновесия при сорбции MU^{2+} на анионите А-500R составило 50 минут, а на анионите А-100 – 60 минут. Величины

коэффициентов детерминации и уравнений прямых на начальных участках кривых, представленных в координатах степени заполнения F от \sqrt{t} полимерных сорбентов, больше, чем аналогичные величины уравнений кривых, построенных в координатах $-\ln(1-F) - t$. Этот факт позволяет предположить, что лимитирующей стадией процесса является внутренняя диффузия [13,14], а соответствующие значения эффективных коэффициентов в

Таблица 2. Кинетические параметры сорбции метилурацила на сверхсшитых анионообменниках

Table 2. Kinetic parameters of methyluracil sorption on super-crosslinked anion exchangers

Сорбент	Среднее время сорбции, $\bar{t}_{cp.} \cdot 10^2, c$	Коэффициент диффузии, $\bar{D}, cm^2/c$
A-100	36.65	$1.12 \cdot 10^{-9}$
A500R	30.07	$2.45 \cdot 10^{-9}$

фазе анионитов можно рассчитать по уравнениям внутридиффузионной кинетики, используя метод моментов [13]. При этом среднее время сорбции ($\bar{t}_{cp.}$) вычисляли методом графического интегрирования значения t , численно равного площади, ограниченной кинетической кривой в координатах $F - \sqrt{t}$:

$$\bar{t}_{cp.} = \int_0^{\infty} t \left(\frac{dF}{dt} \right) dt = \int_0^{\infty} t dF, \quad (3)$$

где F – степень достижения равновесия за время t .

$$\bar{t}_{cp.} = \frac{r^2}{15D}, \quad (4)$$

где r – радиус зерна сорбента в набухшем состоянии (мкм), \bar{D} – эффективный коэффициент диффузии (cm^2/c).

Макропористая структура обеспечивает высокую механическую прочность анионообменников, способствует хорошей кинетике обмена и сорбции. Порядок значений рассчитанных коэффициентов диффузии составил $10^{-9} cm^2/c$ (табл.2), что соответствует величине коэффициентов диффузии подобных органических молекул, сопоставимых по размерам с исследуемыми [14].

Заключение

Установлены параметры рН, при которых происходит максимальная сорбция

Список литературы

1. Иванов В.А., Горшков В.И. 70 лет истории производства ионообменных смол // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2006. Т. 6, № 1. С.5-31.
2. Берснева В.С., Бакулев В.А. Сорбционные методы выделения продуктов

6-метилурацила (рН 3.1-3.5) на анионообменниках макропористого типа А-100 и А-500R. Показано, что в этих условиях 6-метилурацил находится в виде двухзарядного катиона (MU^{2+}). Поэтому наибольший вклад в сорбционный процесс [$MU^{2+} \div R-N^+(CH_3)_3Cl^-$] или [$MU^{2+} \div R-N^+H(CH_3)_2Cl^-$] вносят водородные связи и силы Ван-дер-Ваальса.

Отмечено, что формирование мономолекулярных слоев 6-метилурацила на анионитах А-100 и А-500R может быть описано согласно изотерме Ленгмюра. При более высоких концентрациях 6-метилурацила во внешнем растворе происходит формирование полимолекулярных слоев 6-метилурацила по типу «сорбат-сорбат», которое описывается уравнением Брунауэра-Эммета-Теллера.

Процесс поглощения 6-метилурацила анионообменниками лимитируется внутренней диффузией сорбата. Коэффициенты диффузии 6-метилурацила на А-100 составляют $1.12 \cdot 10^{-9} cm^2/c$ и для А-500R – $2.45 \cdot 10^{-9} cm^2/c$.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

биосинтеза. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2018. 80 с.

3. Бондарев А.В., Жиликова Е.Т. Использование сорбционных процессов в технологии систем доставки лекарственных веществ // *Фармация и фармакология*. 2019. Т. 7, № 1. С. 4-12.



4. Студенцов Е.П., Рамш С.М., Казурова Н.Г., Непорожнева О.В., Гарабджиу А.В., Кочина Т.А., Воронков М.Г., Кузнецов В.А., Криворотов Д.В. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов – 50 лет поисков // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013. Т.11, №4. С. 3-43.
5. Кривоногов В.П., Чернышенко Ю.Н., Козлова Г.Г., Яковлева А.И., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б., Плечев В.В., Сивкова Г.А., Батталов Э.М. Синтез 2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-5-пиримидинил-2-метилакрилатов // *Журн. орг. химии*. 2005. Т. 41, № 1. С. 141-143.
6. Белоусова Т.А. Фармакологические свойства метилурацила (обзор литературы) // *Альманах Ретиноиды*. 2009. № 28. С. 11-43.
7. Plecheva D.V., Alekhin E. K. Oxymethyluracil stimulates reparative regeneration of skin in rats // *Experimental clinical pharmacology*. 2004. Vol.67, no 5. P. 63-66.
8. Терентьев А.О., Борисова Н.С., Хамитов Э.М., Зимин Ю.С., Мустафин А.Г. Экспериментальное и квантово-химическое исследования взаимодействий 6-метилурацила с янтарной и фумаровой кислотами // *Журн. физ. химии*. 2014. Т.88, №12. С. 1908-1913.
9. Репина Э.Ф., Мышкин В.А., Каримов Д.О., Тимашева Г.В., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А., Байгильдин С.С., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р. Антигипоксическая активность комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой // *Токсикологический вестник*. 2018. №4 (151). С. 20-23.
10. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Hypercrosslinked polymeric networks and adsorbing materials, synthesis, structure, properties and application. New York: Elsevier, 2011, 648 p.
11. Tsyurupa M.P., Davankov V.A. Hypercrosslinked polymers: basic principle of preparing the new class of polymeric materials // *Reactive and Functional Polymers*. 2002. Vol. 53, no 2-3. P.193-203.
12. Селеменев В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю., Иванов В.А., Горшков В.И., Тимофеевская В.Д. Практикум по ионному обмену. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2004, 160 с.
13. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Богданова Л.П., Муравьева Т.Д. Ионно-гидрофобное взаимодействие эремомицина с сетчатыми структурно сегрегированными биосорбентами // *Журн. прикл. химии*. 1993. Т.66, №11. С. 2825-2828.
14. Кокотов Ю.А., Пасечник В.А. Равновесие и кинетика ионного обмена. Ленинград: Химия. 1970, 336 с.
15. Джилкрист Т. Химия гетероциклических соединений. М.: Мир. 1996, 464 с.
16. Орос Г.Ю., Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Кальченко О.В. Квазисинергические явления в системе нуклеиновое основание – макропористый анионит // *Журн. физ. химии*. 1998. Т.72, № 11. С. 2041-2045.
17. Гуськов В.Ю., Кудашева Ф.Х., Иванов С.П. Структура и полярность модифицированных производными урацила пористых полимеров // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т.12, № 6. С. 916-921.
18. Иванов С.П., Лысенко К.А., Колядина О.А., Старикова З.А., Муринов Ю.И. Структура и сорбционные свойства 5-гидрокси-6-метилурацила // *Журн. физ. химии*. 2005. Т.79, № 2. С. 278-284.
19. Леонидов Н.Б., Зоркий П.М., Масунов А.Э., Гладких О.П., Бельский В.К., Дзябченко А.В., Иванов С.А. Строение и бионезквивалентность полиморфных форм метилурацила // *Журн. физ. химии*. 1993. Т.67, №12. С. 2464-2468.
20. Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Котова Д.Л., Елисеева Т.В. и др. Межмолекулярные взаимодействия и образование пересыщенных растворов аминокислот в фазе высокоосновного анионита // В кн. «Наследие М.С.Цвета в трудах воронежских химиков». Т.1. Воронеж: Научная книга, 2021. С.89-131.

21. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Высшая школа, 1971. 264 с.

22. Даванков В.А., Навратил Дж., Уолтон Х. Лигандообменная хроматография. М.: Мир, 1990. 294 с.

23. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел. М.: Мир, 1986. 488 с.

24. Amanollah Ebadi, Jafar S. Soltan Mohammadzadeh, Anvar Khudiev What is the correct form of BET isotherm for modeling liquid phase adsorption? // *Adsorption*. 2009. Vol. 15, no 1. P. 65-73.

25. Шафигулин Р.В., Константинов А.В., Буланова А.В., Ильин М.М., Даванков В.А. Сорбция фениламидных производных адамантана на сверхсшитом полистироле из водно-ацетонитрильных элюентов // *Журн. физ. химии*. 2016. Т. 90, №11. С. 1729-1733.

26. Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф. Сорбционное концентрирование фенобарбитала на полимерах различного типа // *Изв. вузов. Серия «Химия и химическая технология»*. 2009. Т.52, №7. С. 29-32.

27. Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selenenev V.F. Application of super-crosslinked polymers as carriers of heterogeneous biocatalysts for inulin hydrolysis reaction // *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2022. Vol. 65, no 8. P. 48-54.

28. Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф. Сорбционные параметры глюкоамилазы на сверхсшитых полимерных носителях // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2019. Т.19, № 1. С.23-29.

References

1. Ivanov V.A., Gorshkov V.I., 70 let istorii proizvodstva ionoobmennyyh smol, *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protssy*, 2006; 6 (1): 5-31. (In Russ.)

2. Bersneva V.S., Bakulev V.A., Sorbcionnye metody vydeleniya produktov

biosinteza. Ekaterinburg, Ural University Publishing House, 2018, 80 p. (In Russ.)

3. Bondarev A.V., Zhiljakova E.T., Ispol'zovanie sorbcionnyh processov v tehnologii system dostavki lekarstvennyh veshhestv, *Pharmacy and Pharmacology*, 2019; 7(1): 4-12. (In Russ.)

4. Studencov E.P., Ramsh S.M., Kazurova N.G., Neporozhneva O.V., Garabadzhiu A.V., Kochina T.A., Voronkov M.G., Kuznecov V.A., Krivorotov D.V., Adaptogeny i rodstvennyye gruppy lekarstvennyh preparatov – 50 let poiskov, *Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2013; 11(4): 3-43. (In Russ.)

5. Krivonogov V.P., Chernyshenko Ju.N., Kozlova G.G., Jakovleva A.I., Spirihin L.V., Abdrahmanov I.B., Plechev V.V., Sivkova G.A., Battalov Je. M., Sintez 2,4-dioksol-1,2,3,4-tetragidro-5-pirimidinil-2-metilakrilatov, *Journal of Organic Chemistry*, 2005; 41(1): 141-143. (In Russ.)

6. Belousova T.A., Farmakologicheskie svoystva metiluracila (obzorliteratury), *Almanac of Retinoids*, 2009; 28: 11-43. (In Russ.)

7. Plecheva D.V., Alekhin E.K., Oxymethyluracil stimulates reparative regeneration of skin in rats, *Experimental clinical pharmacology*, 2004; 67(5): 63-66. (In Russ.)

8. Terent'ev A.O., Borisova N.S., Hamitov Je.M., Zimin Ju.S., Mustafin A.G., Jeksperimental'noe i kvantovo-himicheskoe issledovanija vzaimodejstvij 6-metiluracila s jantarnoj I fumarovoj kislotami, *Journal of Physical Chemistry*, 2014; 88 (12): 1908-1913. <https://doi.org/10.7868/s004445371412036x> (In Russ.)

9. Repina Je.F., Myshkin V.A., Karimov D.O., Timasheva G.V., Husnutdinova N. Ju., Smoljankin D.A., Bajgil'din S.S., Bakirov A.B., Gimadieva A.R., Antigipoksicheskaja aktivnost' kompleksnogo soedinenija oksimetiluracila s askorbinovoj kislotoj, *Toxicological Bulletin*, 2018; 151 (4): 20-23. (In Russ.)



10. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Hypercrosslinked polymeric networks and adsorbing materials, synthesis, structure, properties and application. New York, Elsevier, 2011, 648 p. [https://doi.org/10.1016/s0166-526x\(11\)56007-6](https://doi.org/10.1016/s0166-526x(11)56007-6)
11. Tsyurupa M.P., Davankov V.A., Hypercrosslinked polymers: basic principle of preparing the new class of polymeric materials, *Reactive and Functional Polymers*, 2002; 53(2-3): 193-203. [https://doi.org/10.1016/s1381-5148\(02\)00173-6](https://doi.org/10.1016/s1381-5148(02)00173-6)
12. Selemenev V.F., Slavinskaja G.V., Hohlov V.Ju., Ivanov V.A., Gorshkov V.I., Timofeevskaja V.D. Praktikum po ionnomu obmenu. Voronezh, Voronezh University Publishing House, 2004, 160 p. (In Russ.)
13. Pisarev O.A., Samsonov G.V., Bogdanova L.P., Murav'eva T.D., Ionno-gidrofobnoe vzaimodejstvie jeremomicina s setchatymi strukturnosegregirovannymi biosorbentami, *Journal of Applied Chemistry*, 1993; 66 (11): 2825-2828.
14. Kokotov Ju.A., Pasechnik V.A. Ravnovesie i kinetika ionnogo obmena. Leningrad, Chemistry Publ., 1970, 336 p. (In Russ.)
15. Dzhilkrist T. Himija geterociklicheskikh soedinenij. Moscow, Mir Publ., 1996, 464 p.
16. Oros G.Ju., Selemenev V.F., Hohlov V.Ju., Kal'chenko O.V., Kvazisinergicheskie javlenija v sisteme nukleinoe osnovanie – makroporistyj anionit, *Journal of Physical Chemistry*, 1998; 72 (11): 2041-2045. (In Russ.)
17. Gus'kov V.Ju., Kudasheva F.H., Ivanov S.P., Struktura i poljarnost' modificirovannyh proizvodnyh uracila poristyh polimerov, *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy*, 2012; 12 (6): 916-921. (In Russ.)
18. Ivanov S.P., Lysenko K.A., Koljadina O.A., Starikova Z.A., Murinov Ju.I., Struktura i sorbcionnye svojstva 5-gidroksi-6-metiluracila, *Journal of Physical Chemistry*, 2005; 79(2): 278-284. (In Russ.)
19. Leonidov N.B., Uspenskaja S.I., Tolmachev A.M., Zhuravlev V.I., Korableva E.Ju., Usacheva T.M., Stroenie i bionejektivnost' polimorfnyh form metiluracila, *Journal of Physical Chemistry*, 1993; 67(12): 2464-2468. (In Russ.)
20. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Kotova D.L., Eliseeva T.V. i dr. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija i obrazovanie perysshennyh rastvorov aminokislot v faze vysokoosnovnogo anionita. «Nasledie M.S. Cveta v trudah voronezhskih himikov». Part.1. Voronezh, Nauchnaja kniga Publ., 2021, p. 89-131. (In Russ.)
21. Kazicyna L.A., Kupletskaja N.B. Primenenie UF-, IK- i JMR-spektroskopii v organicheskoy himii. Moscow, Vysshaja shkola. Publ. 1971, 264 p.
22. Davankov V.A., Navratil Dzh., Uolton H. Ligandoobmennaja hromatografija. M.: Mir Publ., 1990, 294 p.
23. Parfit G., Rochester K. Adsorbpcija iz rastvorov na poverhnosti tverdyh tel. Moscow, Mir Publ., 1986, 488 p. (In Russ.)
24. Amanollah Ebadi, Jafar S. Soltan Mohammadzadeh, Anvar Khudiev, What is the correct form of BET isotherm for modeling liquid phase adsorption? *Adsorption*, 2009; 15(1): 65-73.
25. Shafigulin R.V., Konstantinov A.V., Bulanova A.V., Il'in M.M., Davankov V.A., Sorbcija fenilamidnyh proizvodnyh adamantna na sverhshhitom polistirole iz vodno-acetonitril'nyh eljuevov, *Journal of Physical Chemistry*, 2016; 90 (11): 1729-1733. <https://doi.org/10.7868/s0044453716110236> (In Russ.)
26. Shkutina I.V., Stojanova O.F., Selemenev V.F., Sorbcionnoe koncentrirovanie fenobarbitala na polimerah razlichnogo tipa, *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*, 2009; 52(7): 29-32.
27. Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenev V.F., Application of super-crosslinked polymers as carriers of heterogeneous biocatalysts for inulin hydrolysis reaction, *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*, 2022; 65(8):



48-54. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226508.6559> (In Russ.)
28. Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenev V.F., Sorbcionnye parametry glju-koamilazy na sverhsshityh polimernyh nositeljah, *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy*, 2019; 19(1): 23-29. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

И.В. Шкутина – к.б.н., доцент кафедры общей и медицинской химии им. проф. В.В. Хорунжего, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Н.В. Мironenko – к.х.н., ассистент кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

В.Ф. Селемев – д.х.н., проф. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

I.V. Shkutina – assistant professor of general and medical chemistry department named after prof. V.V. Khorunzhii, State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: irn55@mail.ru

N.V. Mironenko – assistant of analytical chemistry department of chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: natashamir@yandex.ru

V.F. Selemenev – DSci in chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: common@chem.vsu.ru

Статья поступила в редакцию 07.04.2023; одобрена после рецензирования 04.05.2023; принята к публикации 17.05.2023.

The article was submitted 07.04.2023; approved after reviewing 04.05.2023; accepted for publication 17.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Original article

UDK 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11317

Extraction of information about the molecule structure directly from GC-MS data

Dmitry D. Matyushin, Anastasiya Yu. Sholokhova[✉]

Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS (IPCE RAS), Moscow, Russian Federation, shonastya@yandex.ru[✉]

Abstract. Gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) is a very important method of chemical analysis. GC-MS can be used for non-target chemical analysis and preliminary screening of completely unknown compounds. Electron ionization mass spectrometry is commonly used in GC-MS. Some information can be extracted directly from GC-MS data using machine learning methods. There are several previous works in which machine learning models extract information about the presence or absence of given substructures in a molecule directly from the electron ionization mass spectrum. Rarely, the additional data such as molecular weight and retention index are used together with the mass spectrum as input features of such models, however, no systematic comparison of how the use of such data increases the accuracy of the prediction was previously conducted. In this work, gradient boosting was used for prediction of the presence or absence of given substructures in a molecule. The following substructures were considered: aromatic ring, 5-membered aromatic ring, 6-membered aromatic ring without heteroatoms (benzene ring), nitrogen-containing aromatic ring, primary, secondary, and tertiary amino groups, nitrile, hydroxyl, carbonyl, methoxy, methyl, and carboxyl groups. Three types of additional features were used: molecular weight and neutral loss spectra (molecular weight also allows for the neutral loss spectra computation), retention index for the non-polar stationary phase, and retention index for the polar stationary phase. A total of 8 feature sets were considered. In most cases, the molecular weight and neutral loss spectrum considerably improve the accuracy. Retention indices also allow for further accuracy increase. For polar functional groups such as carbonyl and hydroxyl, the effect of using retention indices is maximal. The use of retention indices for two stationary phases allows for the achievement of the best accuracy. The best accuracy of prediction was achieved for the benzene ring and aromatic ring, the worst (but still high) accuracy was observed for the secondary amino group. The achieved accuracy was compared with the previous results. In addition to the classification tasks, the regression tasks were considered. The gradient boosting models that predict the number of aromatic atoms, methyl groups, and benzene rings were developed. It was observed that the use of additional features considerably improves the accuracy in this case. Finally, it should be noted that the regression models underestimate the number of occurrences when the number is high.

Keywords: mass spectrometry, gas chromatography, non-target analysis, machine learning, gradient boosting.

Acknowledgments: the research is supported by the Russian Science Foundation (project No. 22-73-10053), <https://rscf.ru/project/22-73-10053/>

For citation: Matyushin D.D., Sholokhova A.Yu. Extraction of information about the molecule structure directly from GC-MS data. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 373-383. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11317>

Научная статья

Извлечение информации о структуре молекул непосредственно из данных ГХ-МС

Дмитрий Дмитриевич Матюшин, Анастасия Юрьевна Шолохова[✉]

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия, shonastya@yandex.ru[✉]

Аннотация. Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) – очень важный метод химического анализа. ГХ-МС можно использовать для нецелевого химического анализа и предварительного скрининга совершенно неизвестных соединений. В ГХ-МС обычно используется масс-спектрометрия с ионизацией электронами. Возможно извлечение информации непосредственно из данных ГХ-МС с использованием методов машинного обучения. Есть несколько ранее опубликованных работ, в которых модели машинного обучения извлекают информацию о наличии или отсутствии заданных подструктур в молекуле непосредственно из масс-спектра электронной ионизации. Дополнительные данные, такие как молекулярная масса и индекс удерживания, изредка используются вместе с масс-спектром в качестве входных данных для таких моделей, однако ранее не проводилось систематического сравнения того, как использование таких данных повышает точность предсказания. В этой работе для предсказания наличия или отсутствия заданных подструктур в молекуле использовался градиентный бустинг. Были рассмотрены следующие подструктуры: ароматическое кольцо, 5-членное ароматическое кольцо, 6-членное ароматическое кольцо без гетероатомов (бензольное кольцо), азотсодержащее ароматическое кольцо, первичные, вторичные и третичные аминогруппы, нитрил, гидроксил, карбонил, метокси, метил и карбоксильные группы. Использовались три типа дополнительных входных данных: молекулярная масса и спектры нейтральных потерь (молекулярная масса позволяет вычислять спектры нейтральных потерь), индекс удерживания для неполярной неподвижной фазы и индекс удерживания для полярной неподвижной фазы. Всего было рассмотрено 8 наборов входных данных. В большинстве случаев молекулярная масса и спектр нейтральных потерь значительно улучшают точность. Индексы удерживания также позволяют дополнительно повысить точность. Для полярных функциональных групп, таких как карбонил и гидроксил, эффект от использования индексов удерживания максимален. Использование индексов удерживания для двух стационарных фаз позволяет добиться наилучшей точности. Наилучшая точность предсказания достигнута для бензольного и ароматического колец, наихудшая (но все же высокая) – для вторичной аминогруппы. Достигнутая точность была сравнена с результатами из предыдущей работы. Помимо задач классификации были рассмотрены регрессионные задачи. Были разработаны модели на основе градиентного бустинга, которые предсказывают количество ароматических атомов, метильных групп и бензольных колец. Было замечено, что использование дополнительных входных данных значительно повышает точность и в этом случае. Наконец, следует отметить, что регрессионные модели недооценивают количество вхождений, когда это число велико.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, газовая хроматография, нецелевой анализ, машинное обучение, градиентный бустинг.

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-73-10053), предоставленного Институту физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук, <https://rscf.ru/project/22-73-10053/>

Для цитирования: Матюшин Д.Д., Шолохова А.Ю. Извлечение информации о структуре молекул непосредственно из данных ГХ-МС // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 373-383.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11317>

Introduction

Gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) is a widely used analytical method for both targeted and non-targeted analysis of complex mixtures of volatile compounds. It is widely used in industry, pharmaceuticals, environmental analysis [1-2], and in metabolomics studies [3-4]. The most widely used approach for non-target GC-MS analysis is the library search in MS databases [5], such as the NIST 17 database [6]. Unfortunately, the majority of organic molecules are absent in all MS databases, and standard samples also are not available. Qualitative screening of such molecules is a complex task [7-8]. Fortunately, there are

software and machine learning approaches that facilitate this task. There are many tools for prediction of mass spectra from the structure of a molecule [8-10]. There are also tools for prediction of the presence or absence of substructures (fragments of a molecule) in a molecule based on the mass spectra [4, 11-16]. There are many such tools [17-18]. Some of them predict the so-called “molecular fingerprint” (a long vector of bits; each bit corresponds to the presence or absence of a structural feature) [4, 11, 12]. Others predict the presence or absence of specific fragments and functional groups that are of most interest to the researcher.

The accuracy of prediction of “molecular fingerprint” even by the most modern tools

is not very high. For example, in the work [11], for approximately half of the bits constituting the fingerprint, the accuracy is less than 0.9. Such a molecular fingerprint can be used for automated search in the database of possible candidates. Many works are devoted to prediction of the presence or absence of common substructures and functional groups. For example, in the work [13], the presence or absence of several structural features such as a benzene ring, a dimethylamine group, etc., was predicted. The observed classification accuracy lies in the range of 76-95 for all considered fragments (except trimethylsilyl groups). Another similar work is the well-known work by Varma et al. [14]. Several classifying models of common substructures were developed. The majority of such works [13, 14], including the MOLGEN-MS software [18], use only the mass spectrum as a source of features (Figure 1A).

In the work [17], the model predicts the presence or absence for many common functional groups, such as $-NH_2$, $-OH$, $=O$. In that work, unlike the majority of other works, the molecular weight (determined in a mass spectral experiment) is used for creation of features. In another work [15], the Golm Metabolome Database is used for training and validation, and the authors predict the presence or absence of many functional groups with relatively high probability. The authors use information about the retention index as an additional feature. The vast majority of these works provide only binary classifications: predicting the presence or absence of fragments, while determining the

number of occurrences can be a valuable task.

The aims of this work are (I) to study how the additional use of information about retention (on different stationary phases) and molecular weight (Figure 1B) together with the mass spectrum affect the accuracy of prediction, and (II) to consider not only classification, but also regression models that predict not only the presence or absence of a given structural feature but also the number of such features in a molecule.

Methods

The NIST 17 database was used for training and validation of developed models. Molecules containing elements other than H, B, C, N, O, F, P, S, Cl, Br, I were excluded from the data sets, as well as molecules with a molecular weight (MW) of more than 300 and molecules for which the retention index cannot be predicted using a 1D convolutional neural network (CNN) [19]. Spectra with peaks with m/z more than 300 and spectra without peaks with m/z less than 50 were excluded from the data set. The absence of peaks with m/z less than 50 highly likely means that the scanning range starts from high m/z values. Such spectra are not suitable enough for the considered task. The data set contained 132489 spectra. The initial data set was split into training, validation, and test data sets containing 105871, 13367, and 13251 mass spectra, respectively.

Gradient boosting was used for prediction of the number and presence of substructures. The models were trained using the XGBoost [20] library (version 1.5.1) using our own

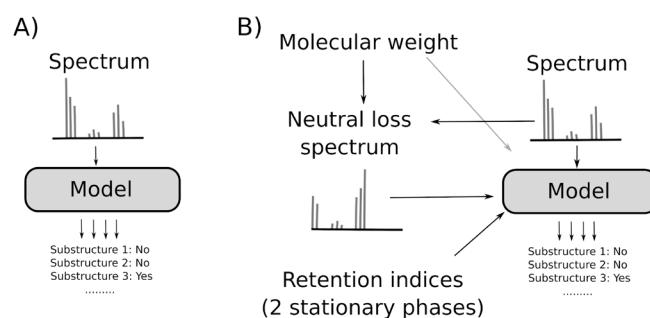


Fig. 1. Extraction of information about the structure from the electron ionization mass spectrum (A) and from all available GC-MS data (B)

Table 1. Hyperparameters of the XGBoost library used in this work

Parameter	Value
Learning rate (eta)	0.01
Minimum loss reduction required for a split (gamma)	0.01
L2 regularization term on weights (lambda)	7
Subsample ratio (subsample)	0.6
Maximum tree depth (maxDepth)	11
Minimum sum of weight needed (minChildWeight)	1
Objective function for classification tasks	Logistic regression for binary classification (binary:logitraw)
Objective function for regression tasks	Mean squared error (reg:squarederror)
Number of trees (classification tasks)	6000
Tree construction algorithm	Faster histogram algorithm (hist)

program (the Java Programming language was used). The used hyperparameters are given in Table 1. For regression tasks, the early stopping was used: if the accuracy for a validation set is not improved for 250 iterations, the training is stopped. The following features were used with the gradient boosting model: mass spectrum (scaled to a range of 0-1 intensities of peaks for each integer m/z in the range 1-300), neutral loss spectrum (see below), MW (divided by 1000), retention indices (RI) for polar (RI_{polar}) and non-polar ($RI_{\text{non-polar}}$) stationary phases (SP), as well as the difference between RI for polar and non-polar SP ($RI_{\text{polar}} - RI_{\text{non-polar}}$). The RI values were divided by 1000. The neutral loss spectrum is interrelated with the mass spectrum by the following equation:

$$N_n = \begin{cases} I_{M-n}, n < M \\ 0, n \geq M \end{cases} \quad (1)$$

where I_n – intensity of mass spectra corresponding to $m/z = n$; N_n – intensities of the neutral loss spectrum, M – MW of a molecule.

Because NIST 17 contains information about RI only for few molecules, RI predicted using 1D CNN were used as features. These RI values are close to the experimental ones [19]. For prediction of RI, 1D CNN with the following hyperparameters was used: 2 CNN layers with 300 output channels; 2 fully connected layers (kernel = 6) with 600 and 1 output nodes; rectified lin-

ear activation function was used for all layers except the linear output layer; early stopping using a validation set was used. More information about 1D CNN for retention index prediction is given in our previous work [19]. The mean and median absolute errors of prediction were 45.5 and 17.2, respectively, for non-polar SP. For polar SP, these values were 67.7 and 29.5, respectively. The error values are given for test sets. As the initial values of the trainable parameters (weights and biases) of the neural network for polar SP, the parameters obtained for non-polar SP were used.

The following accuracy measures were considered for binary classification tasks:

$$\text{True positive rate (TPR or recall)} = \frac{TP}{TP+FN} \quad (2)$$

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP+FP} \quad (3)$$

$$\text{False positive rate (FPR)} = \frac{FP}{FP+TN} \quad (4)$$

$$F_1 \text{ score } (F_1) = \frac{2 \cdot TP}{2 \cdot TP + FN + FP} \quad (5)$$

$$\text{Accuracy} = \frac{TP+TN}{TP+FP+TN+FN} \quad (6)$$

$$C = -\left(\frac{1}{N}\right) \sum_{i=1}^N Y_i \log(y_i) + (1 - Y_i) \log(1 - y_i) \quad (7)$$

where TN, FN, TP, FP – number of true negative, false negative, true positive, false positive predictions; y_i , Y_i – prediction and correct answer for the i -th sample; N – number of samples, C – binary cross-entropy (CE). For computation of TN, FN, TP, FP, the float predictions numbers were rounded up to 0

Table 2. Additional features that are used together with the raw mass spectrum

Additional features	Feature set							
	1	2	3	4	5	6	7	8
MW and neutral loss spectrum	-	+	-	+	-	+	-	+
RI _{non-polar}	-	-	+	+	-	-	+	+
RI _{polar}	-	-	-	-	+	+	+	+
RI _{polar} - RI _{non-polar}	-	-	-	-	-	-	+	+

Table 3. Area under the receiver operating characteristics curves (ROC-AUC) for various regression tasks and various sets of features (see Table 2)

Substructure	Feature set							
	1	2	3	4	5	6	7	8
-NH-	0.915	0.917	0.919	0.922	0.919	0.921	0.921	0.924
Aromatic 5-membered ring	0.909	0.913	0.914	0.917	0.913	0.916	0.917	0.920
-CH ₃	0.953	0.968	0.958	0.973	0.959	0.973	0.960	0.973
-NH ₂	0.932	0.952	0.937	0.958	0.938	0.956	0.940	0.957
Tertiary sp ³ nitrogen atom	0.967	0.968	0.968	0.969	0.968	0.969	0.969	0.970
Nitrile	0.929	0.957	0.928	0.956	0.934	0.960	0.940	0.963
Aromatic nitrogen	0.968	0.970	0.971	0.974	0.970	0.972	0.973	0.976
-O-CH ₃	0.972	0.982	0.972	0.982	0.973	0.982	0.974	0.982
-C(=O)-O- (carboxyl, ester, or anhydride)	0.957	0.978	0.959	0.980	0.961	0.980	0.965	0.983
Aromatic ring	0.993	0.994	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995
Carbonyl	0.926	0.943	0.929	0.945	0.932	0.948	0.938	0.952
Hydroxyl	0.903	0.930	0.918	0.942	0.941	0.960	0.960	0.968
Benzene ring (6-membered aromatic ring without heteroatoms)	0.993	0.994	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995

or 1. ROC (Receiver Operating Characteristics) curves were also considered, and the area under such curves (ROC-AUC) was used as an additional measure.

For regression tasks, the root mean square error (RMSE) was used. RMSE was used for early stopping for regression. The validation set was used for early stopping, all accuracy measures given below were calculated for the test set.

Results and discussion

In order to study how the use of various features (neutral loss spectrum, RI) affects the accuracy of prediction of the presence or absence of a given substructure in a molecule based on the electron ionization mass

spectrum, the series of computational experiments were conducted (see Table 2). For 13 substructures (see Table 3), the gradient boosting model was trained with 8 sets of features and the accuracy was evaluated. In all 8 cases, the intensities corresponding to m/z 1-300 in the raw mass spectrum were used as features with or without additional features. The area under the ROC curve [21] was considered as the primary accuracy measure. The XGBoost predictor predicts a float value in the range [0, 1] instead of a binary value. This value characterizes the probability of the presence or absence of the given fragment. The accuracy measures such as TPR (recall), precision, FPR (see equations (2)-(4)) depend on what is considered a threshold value above which the XGBoost

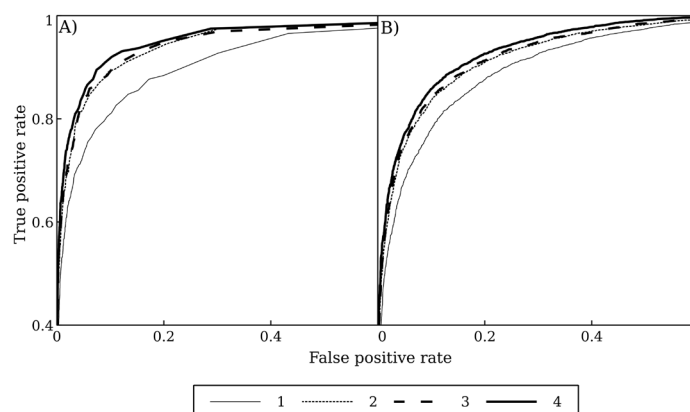


Fig. 2. ROC (Receiver Operating Characteristics) curves for classification models that predict the presence of nitrile (A) and carbonyl (B) groups. The curves denoted as 1-4 correspond to the feature sets (see Table 2) 1, 2, 4, 8, respectively

Table 4. Accuracy of prediction of the presence or absence of aromatic rings in a molecule from GC-MS data for different feature sets (see Table 2)

Accuracy measure	Feature set							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Recall (TPR)	0.733	0.824	0.748	0.832	0.750	0.830	0.770	0.848
Precision	0.934	0.931	0.925	0.930	0.929	0.930	0.931	0.933
F ₁ score	0.821	0.874	0.827	0.878	0.830	0.877	0.843	0.889
Accuracy	0.908	0.931	0.909	0.933	0.911	0.933	0.917	0.938
Binary cross-entropy	0.235	0.172	0.229	0.167	0.226	0.167	0.213	0.154

prediction is considered as positive. The ROC-AUC measure [21] does not depend on the threshold value and characterizes such a predictor well. The perfect ROC curve passes through the points (0,0), (0,1), (1,1). The closer the ROC curve passes to the point (0,1), the closer it is to the perfect one.

As an example, Figure 2 shows ROC curves for prediction of the presence or absence of nitrile and carbonyl groups. Note that for better readability, the axis range in Figure 2 is not [0, 1]. Figure 2 clearly shows that the use of the neutral loss spectrum and molecular weight as additional features considerably improves the prediction accuracy. The use of RI_{non-polar} as an additional feature does not greatly improve the accuracy, but the use of information about RI for two SP causes an additional growth of the accuracy. Table 3 demonstrates that for all substructures, the use of MW and neutral loss spectrum considerably improves the accuracy, and the use of RI for two SP allows for the achievement of the best accuracy. In some

cases, the use of RI for only one SP gives the accuracy growth comparable to the use of RI for two SP (for example, -CH₃, -NH₂, benzene ring), in other cases, the use of RI for two SP gives considerably better accuracy (for example, -OH, aromatic nitrogen). The complete data are given in Table 3. For other than ROC-AUC accuracy measures, the situation is similar. For example, Table 4 shows various accuracy measures for prediction of the presence or absence of aromatic atoms in a molecule using various feature sets. The precision is almost constant for various feature sets, while the recall increases. It means that the overall accuracy improves. Note that for all accuracy measures except CE, the value 1.0 corresponds to the perfect model, and for CE, the value 0.0 corresponds to the perfect model.

In addition to the classification task: the prediction of the presence or absence of a given substructure, the regression task was also considered: the prediction of how many times a substructure is present in a molecule

Table 5. Accuracy of prediction of the number of various substructures in a molecule from GC-MS data using different feature sets (see Table 2)

Substructure	Feature set							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Aromatic atoms	1.93	1.75	1.70	1.60	1.79	1.67	1.66	1.57
-CH ₃ groups	0.84	0.77	0.81	0.71	0.80	0.71	0.78	0.70
Benzene rings	0.28	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25

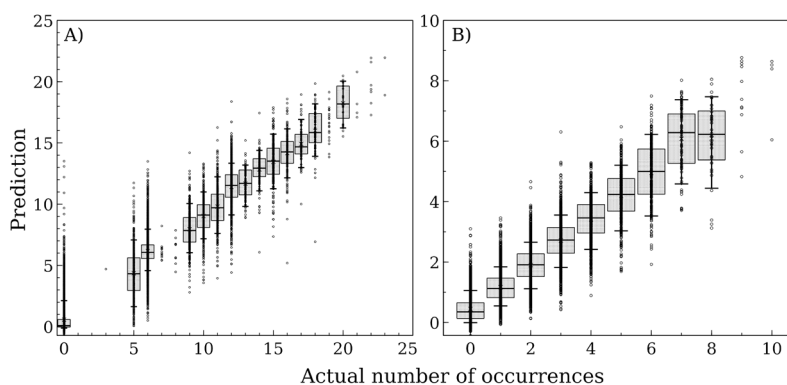


Fig. 3. Actual vs predicted plots for prediction of the number of aromatic atoms (A) and CH₃ groups (B) in a molecule. The boxes show the range containing the half of the predictions, and the whiskers demonstrate the ranges containing 90% of the predictions

for 3 substructures (see Table 5). In this case, the effect of additional features is even larger than for classification tasks. Figure 3 shows the actual vs predicted plots for prediction of the number of aromatic atoms and CH₃ groups in a molecule. The prediction accuracy is quite high for a low number of occurrences, however, Figure 3 clearly shows that in cases when the correct answer is high, this value is considerably underestimated. As an additional example, the ROC curve for prediction of the presence or absence of a benzene ring (6-membered ring containing only carbons) and the actual vs predicted plot for the number of benzene rings are shown in Figure 4. Figures 3-4 show the data for the full set of features.

We also tried to tune the XGBoost hyperparameters for each feature set and task separately and to make such comparisons using various sets of hyperparameters (other than given in Table 1). However, the same patterns are observed for various sets of hyperparameters, and the same hyperparameters are nearly optimal for various sets of features and various tasks. Taking this fact

into account, all comparisons were made using the same set of hyperparameters. The accuracy of classification was also compared with the accuracy given in the work of Stein et al. [17]. Because such measures as recall and precision depend on the probability threshold (and as the threshold increases, the precision increases and the recall decreases), the comparison was made at the fixed precision value of 0.9. Table 6 contains such a comparison. Since the work [17] does not use information about RI, we considered only feature sets 1 and 2 (see Table 2) in this comparison. It can be concluded that the considered classifiers in most cases have the same or better accuracy compared with the described in the work [17]. The worse accuracy was observed only for the worst predicted substructures: non-aromatic nitrogens. However, that work [17] uses a much older version of the NIST library, and this comparison is not completely correct. The correct comparison of the machine learning methods should be made using the same data set.

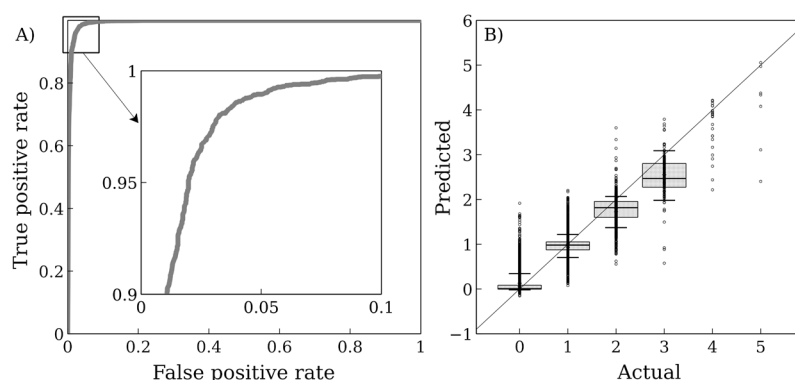
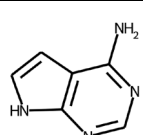
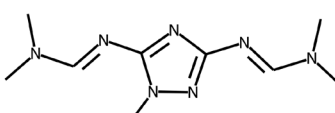
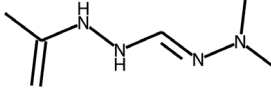


Fig. 4. ROC (Receiver Operating Characteristics) curve and the actual vs predicted plot for prediction of the presence (A) and number (B) of benzene rings in a molecule

Table 6. Comparison of the classification accuracy achieved in this work with the accuracy from the work [17]. The values of recall at precision = 0.9 are given

Substructure	Feature set (this work)		Previous results [17]	
	1 (without MW)	2 (with MW)	Without MW	With MW
Hydroxyl	0.42	0.56	0.40	0.58
Carbonyl	0.72	0.79	0.70	0.76
-C(=O)-O- (carboxyl, ester, or anhydride)	0.77	0.86	0.36	0.47
-NH-	0.13	0.14	0.28	0.28
-NH ₂	0.23	0.24	0.25	0.40
Aromatic ring	0.997	0.998	0.98	0.99
-O-CH ₃	0.76	0.84	0.49	0.74

Table 7. Application of models to UDMH transformation products

Structure	Methyl	Aromatic ring	Number of aromatic rings
	Absent	Present	2
	Present	Present	1
	Present	Absent	0

The models developed in this work were applied to the mass spectra and retention indices of the recently identified transformation products of unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH). These compounds are not available in mass spectral databases, and elucidating their structure using only

chromatography and mass spectrometry is a very difficult task [22]. Table 7 shows the structures of the three UDMH transformation products and model predictions for them. The first compound contains two conjugated aromatic rings. Previously, prior to the publication of work [22] by our team,



similar transformation products of UDMH were not known. The models developed in this work receive the retention indices for two stationary phases and mass spectra as an input and make it possible to obtain preliminary information about the structure and limit the number of possible candidates. This is an excellent starting point for further elucidation of the structure [22], for which the observed experimental data are consistent with the results of predicting mass spectra and retention indices. The prediction models developed in this work will be implemented in our previously published free and open-source software [22] that can be obtained by the following link: <https://github.com/mtshn/svekla>

Conclusions

A model that allows for the prediction of the presence and number of given substructures in a molecule based on GC-MS data was built using the XGBoost library. The use of additional data besides the electron ionization mass spectrum allows for the considerable improvement of the prediction accuracy. If the molecular weight is known in addition to the mass spectrum (for example, it

References

1. Ohoro C.R., Adeniji A.O., Okoh A.I., Okoh O.O., Distribution and Chemical Analysis of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Environmental Systems: A Review, *International journal of environmental research and public health*. 2019; 16(17): 3026. <https://doi.org/10.3390/ijerph16173026>
2. Nika M. C., Alygizakis N., Arvaniti O. S., Thomaidis N. S., Non-target screening of emerging contaminants in landfills: A review, *Current Opinion in Environmental Science & Health*. 2023; 32: 100430. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100430>
3. Beale D. J., Pinu F. R., Kouremenos K. A., Poojary M. M. et al., Review of recent developments in GC-MS approaches to metabolomics-based research, *Metabolomics*. 2018; 14(11): 152. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1449-2>

can be determined using a chemical ionization ion source), the prediction accuracy considerably improves. In this case, the neutral loss spectrum can be used as an additional set of features. The retention index is less important, but the use of the retention index allows for the considerable improvement of the prediction of the presence or absence of polar functional groups such as hydroxyl and carbonyl. The use of retention indices for two stationary phases allows for the greater improvement of the accuracy compared with a single retention index. For regression tasks, when models predict the number of occurrences rather than the presence or absence, the use of additional features considerably increases the accuracy.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

4. Qiu F., Lei Z., Sumner L.W., MetExpert: An expert system to enhance gas chromatography–mass spectrometry-based metabolite identifications, *Analytica Chimica Acta*. 2018; 1037: 316-326. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.03.052>
5. Vinaixa M., Schymanski E. L., Neumann S., Navarro M. et al., Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics: State of the field and future prospects, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 78: 23-35. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.09.005>
6. Moorthy A.S., Wallace W.E., Kearsley A.J., Tchekhovskoi D.V., Stein S.E., Combining Fragment-Ion and Neutral-Loss Matching during Mass Spectral Library Searching: A New General Purpose Algorithm Applicable to Illicit Drug Identification, *Analytical chemistry*. 2017; 89(24): 13261-13268. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b03320>



7. Schymanski E.L., Meinert C., Meringer M., Brack W., The use of MS classifiers and structure generation to assist in the identification of unknowns in effect-directed analysis, *Analytica Chimica Acta*. 2008; 615(2): 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.060>
8. Allen F., Pon A., Greiner R., Wishart D., Computational Prediction of Electron Ionization Mass Spectra to Assist in GC/MS Compound Identification, *Analytical chemistry*. 2016; 88 (15): 7689-7697. <https://doi.org/10.1021/acs.anal-chem.6b01622>
9. Wei J.N., Belanger D., Adams R.P., Sculley D., Rapid Prediction of Electron-Ionization Mass Spectrometry Using Neural Networks, *ACS central science*. 2019; 5(4): 700-708. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00085>
10. Zhu R.L., Jonas E., Rapid Approximate Subset-Based Spectra Prediction for Electron Ionization–Mass Spectrometry, *Analytical chemistry*. 2023; 95 (5): 2653-2663. <https://doi.org/10.1021/acs.anal-chem.2c02093>
11. Ji H., Deng H., Lu H., Zhang Z., Predicting a Molecular Fingerprint from an Electron Ionization Mass Spectrum with Deep Neural Networks, *Analytical chemistry*. 2020; 92(13): 8649-8653. <https://doi.org/10.1021/acs.anal-chem.0c01450>
12. Ljoncheva M., Stepišnik T., Kosjek T., Džeroski S., Machine learning for identification of silylated derivatives from mass spectra, *Journal of Cheminformatics*. 2022; 14(1): 62. <https://doi.org/10.1186/s13321-022-00636-1>
13. Yoshida H., Leardi R., Funatsu K., Varmuza K., Feature selection by genetic algorithms for mass spectral classifiers, *Analytica Chimica Acta*. 2001; 446(1-2): 483-492. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)00910-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)00910-2)
14. Varmuza K., Werther W., Mass Spectral Classifiers for Supporting Systematic Structure Elucidation, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1996; 36(2): 323-333. <https://doi.org/10.1021/ci9501406>
15. Hummel J., Strehmel N., Selbig J., Walther D., Kopka J., Decision tree supported substructure prediction of metabolites from GC-MS profiles, *Metabolomics*. 2010; 6(2): 322-333. <https://doi.org/10.1007/s11306-010-0198-7>
16. Xiong Q., Zhang Y., Li M., Computer-assisted prediction of pesticide substructure using mass spectra, *Analytica Chimica Acta*. 2007; 593(2): 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.060>
17. Stein S.E., Chemical substructure identification by mass spectral library searching, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 1995; 6(8): 644-655. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(05\)80054-6](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(05)80054-6)
18. Meringer M., Schymanski E., Small Molecule Identification with MOLGEN and Mass Spectrometry, *Metabolites*. 2013; 3(2): 440-462. <https://doi.org/10.3390/metabo3020440>
19. Matyushin D.D., Sholokhova A.Yu., Buryak A.K., A deep convolutional neural network for the estimation of gas chromatographic retention indices, *Journal of Chromatography A*. 2019; 1607: 460395. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460395>
20. Chen T., Guestrin C., XGBoost: A Scalable Tree Boosting System, 2016, Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining, San Francisco California USA: ACM, pp. 785-794. <https://doi.org/10.1145/2939672.2939785>
21. Jin Huang, Ling C.X., Using AUC and accuracy in evaluating learning algorithms, *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering*. 2005; 17(3): 299-310. <https://doi.org/10.1109/TKDE.2005.50>
22. Sholokhova A.Y., Matyushin D.D., Grinevich O.I., Borovikova S.A., Buryak A.K., Intelligent Workflow and Software for Non-Target Analysis of Complex Samples Using a Mixture of Toxic Transformation Products of Unsymmetrical Dimethylhydrazine as an Example, *Molecules*.



2023; 28(8): 3409.
<https://doi.org/10.3390/molecules28083409>

Информация об авторах / Information about the authors

Д.Д. Матюшин – н.с. лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

А.Ю. Шолохова – с.н.с. лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

D.D. Matyushin – researcher, laboratory of physicochemical principles of chromatography and chromatography – mass spectrometry; Institute of Physical chemistry and electrochemistry, Moscow, Russian Federation, e-mail: dm.matiushin@mail.ru

A.Yu. Sholokhova – researcher, laboratory of physicochemical principles of chromatography and chromatography – mass spectrometry; Institute of Physical chemistry and electrochemistry, Moscow, Russian Federation, e-mail: shonastya@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 27.03.2023; одобрена после рецензирования 20.04.2023; принята к публикации 25.04.2023.

The article was submitted 27.03.2023; approved after reviewing 20.04.2023; accepted for publication 25.04.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11318

Влияние ультразвуковой обработки на сорбционно-поверхностные характеристики березового биоугля

**Елена Викторовна Томина^{1,2}, Наталия Анатольевна Ходосова¹,
Варвара Евгеньевна Мануковская¹, Анатолий Николаевич Лукин²,
Анна Юрьевна Корчагина¹**

¹Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия, tomina-e-v@yandex.ru

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. Интерес к биоуглю как сорбенту для очистки сточных вод, в том числе, и для извлечения ионов тяжелых металлов, определяется его свойствами: устойчивостью к деградации, большой площадью и значительным отрицательным зарядом поверхности, возможностью генерации активных форм кислорода при ультрафиолетовом облучении с последующей деструкцией органических загрязнителей. Целью работы является создание сорбента на основе опилок березы как древесных отходов лесопиления в результате направленного физико-химического модифицирования биоугля, определение его характеристик и сорбционной способности в отношении ионов меди.

По данным растровой электронной микроскопии одновременная активация карбонизата березовых опилок КОН и ультразвуком в течение 30 минут способствует увеличению фракции частиц биоугля размером 20-60 мкм и исчезновению частиц биоугля размером более 100 мкм, отмечается рост насыпной плотности. Методом энергодисперсионного анализа установлено увеличение содержания углерода в биоугле после активации и уменьшение мольного отношения O/C с 0.304 до 0.258. Методом ИК спектроскопии подтверждено наличие ряда поверхностных кислородсодержащих функциональных групп: гидроксильных, карбонильных, карбоксильных, хиноидных.

Сорбция ионов Cu^{2+} модифицированным углем повышается в 2.2 раза по сравнению с исходным карбонизатом березовых опилок. Изотермы сорбции ионов меди как исходным, так активированным биоуглем, удовлетворительно описываются уравнением Ленгмюра. Физико-химическая модификация биоугля КОН и ультразвуком способствует возрастанию емкости адсорбционного моно слоя и константы равновесия. Проведение сорбции при $\text{pH}=5.8$ способствует депротонизации кислородсодержащих функциональных групп $-\text{COOH}$ и $-\text{OH}$, присутствующих на поверхности биоугля, что увеличивает адсорбцию ионов Cu^{2+} .

Образование связи $\text{Cu}-\text{O}$ между карбоксилат-ионами и Cu^{2+} подтверждается сдвигом полос при 1200 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям связи $\text{C}-\text{O}$ в карбоксильной группе, в ИК-спектрах образцов биоугля после сорбции в область меньших частот. Большое смещение характерно для спектра образца $\text{B}+\text{KOH}+\text{U}3+\text{CuSO}_4$, что согласуется с повышением сорбции ионов меди активированным биоуглем.

Ключевые слова: биоуголь, древесина березы, модификация, ультразвук, сорбция, ионы меди $\text{Cu}(\text{II})$.

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00122, <https://rscf.ru/project/23-23-00122/>

Для цитирования: Томина Е.В., Ходосова Н.А., Мануковская В.Е., Лукин А.Н., Корчагина А.Ю. Влияние ультразвуковой обработки на сорбционно-поверхностные характеристики березового биоугля // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 3. С. 384-394. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11318>



Original article

The effect of ultrasonic treatment on the sorption-surface characteristics of birch biochar

Elena V. Tomina^{1,2✉}, Nataliya A. Khodosova¹, Varvara E. Manukovskaya¹, Anatoliy N. Lukin², Anna Yu. Korchagina¹

¹Morozov Voronezh State University of Forestry and Technologies, Voronezh, Russian Federation, tomina-e-v@yandex.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. Interest in biochar as a sorbent for wastewater treatment, including for the extraction of heavy metal ions, is due to its properties: resistance to degradation, large area and significant negative surface charge, the possibility of generating reactive oxygen species under ultraviolet irradiation with the subsequent destruction of organic pollutants.

The purpose of the study was the creation of a sorbent based on birch sawdust as sawmill wood waste as a result of directed physico-chemical modification of biochar, the determination of its characteristics and sorption capacity for copper ions.

According to scanning electron microscopy data, simultaneous activation of birch sawdust carbonizate with KOH and ultrasound for 30 minutes contributed to an increase in the fraction of biochar particles with a size of 20-60 microns and the disappearance of biochar particles larger than 100 microns, an increase in bulk density was noted. An increase in the carbon content in biochar after activation and a decrease in the O/C molar ratio from 0.304 to 0.258 were established using energy dispersive analysis method. IR spectroscopy confirmed the presence of a number of surface oxygen-containing functional groups: hydroxyl, carbonyl, carboxyl, quinoid. The sorption of Cu²⁺ by modified coal increased by 2.2 times compared with the original birch sawdust carbonizate. Sorption isotherms of copper ions both by the initial and activated biochar were satisfactorily described by the Langmuir equation. Physical and chemical modification of biochar with KOH and ultrasound contributed to an increase in the capacity of the adsorption monolayer and the equilibrium constant. The sorption at pH=5.8 contributed to the deprotonization of oxygen-containing functional groups –COOH and –OH present on the biochar surface, which increased the adsorption of Cu²⁺ ions.

The formation of Cu-O bond between carboxylate ions and Cu²⁺ was confirmed by shift at 1200 cm⁻¹, corresponding to the stretching vibrations of the C-O bond in the carboxyl group, to the region of lower frequencies in the IR spectra of biochar samples after sorption. A larger shift was typical for the spectrum of B+KOH+US+CuSO₄ sample, which was consistent with an increase in the sorption of copper ions by activated biochar.

Keywords: biochar, birch wood, modification, ultrasound, sorption, copper ions Cu(II).

Acknowledgments: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-23-00122, <https://rscf.ru/project/23-23-00122/>

For citation: Tomina E.V., Khodosova N.A., Manukovskaya V.E., Lukin A.N., Korchagina A.Yu. The effect of ultrasonic treatment on the sorption-surface characteristics of birch biochar. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2023. 23(3): 384-394. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11318>

Введение

Загрязнение тяжелыми металлами окружающей среды, и особенно водных ресурсов, существенно возросло за последнее десятилетие [1-3]. Применяемые методы очистки сточных вод от металлов весьма разнообразны в зависимости от возможностей и желаемой степени очистки: механические, химические, физико-химические, биологические. Наиболее популярным является сорбционный

метод вследствие его эффективности, экономичности и широкого выбора сорбента [4-9]. Использование биосорбентов на основе биоуглей, полученных термической обработкой отходов деревообрабатывающей промышленности, позволяет осуществлять процесс очистки максимально экологично, решая при этом проблему утилизации древесных отходов. Биоуголь устойчив к деградации, имеет большую площадь поверхности и значительный отрицательный заряд [10],

что делает его эффективным средством для удаления положительно заряженных ионов (например, Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) путем ионного обмена, электростатического притяжения, физической сорбции и осаждения [11].

Свойства биоугля связаны с его структурой, которая во многом определяется микроструктурой используемой для его получения древесины. Механическая прочность древесных углей также зависит от прочности и плотности древесины, используемой для пиролиза. Береза по прочности относится к третьей группе, то есть к породам с высокой плотностью (выше 750 кг/м^3) [12]. Поэтому при получении биоуглей отдается предпочтение твердолиственным породам древесины, например, березе, уголь из которой характеризуется наибольшей прочностью из отечественных промышленных углей [13].

Проведение модификации биоуглей способствует получению более развитой поверхности материала [14, 15]. В процессе активации древесных углей поры образуют хорошо развитую транспортную пористость древесных активированных углей, что обеспечивает еще одно их преимущество перед минеральными активными углями [16]. Одним из современных, «мягких», экологически чистых средств стимуляции физико-химических процессов является ультразвуковое воздействие. Ультразвук используют для получения углеродсодержащих материалов из биомассы. В работах [17, 18] показано, что ультразвуковая обработка способствует получению микро- и мезопористых углеродсодержащих продуктов с большой удельной поверхностью. Кавитация, вызванная высокоинтенсивным ультразвуком, приводит к расслоению в структуре, что значительно влияет на пористость и физические адсорбционные свойства биоугля [19-21].

Целью работы является создание сорбента на основе древесины березы в результате направленного физико-химиче-

ского модифицирования биоугля и определение его характеристик и сорбционной способности в отношении ионов меди.

Экспериментальная часть

Для получения образцов биоуглеродного сорбента в работе использованы отходы лесопиления - опилки березы повислой (лат. *Bétula péndula*), размер которых не превышал 1 мм. Карбонизацию осуществляли при температуре 400°C , в закрытом реакторе, скорость нагрева 10°C/мин . Период карбонизации составляет 5 ч. Выход биоугля при данных параметрах процесса составляет ~38%.

Ультразвуковая модификация способствует изменению удельной поверхности биоугля, но не оказывает заметного влияния на элементный состав и кислородсодержащие функциональные группы на его поверхности, в то время как химическая модификация непосредственно воздействует на функциональные группы на поверхности материала.

Физико-химическую модификацию образцов биоугля осуществляли 2 М раствором гидроксида калия при температуре 21°C , время щелочной модификации составляло 2 часа. Одновременно с обработкой щелочью образец подвергали ультразвуковому воздействию в ультразвуковой ванне ВУ-09-«Я-ФП»-0 мощностью 110 Ватт на частоте 22КГц в течение 30 мин. Модифицированные образцы отмывали дистиллированной водой и высушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре $105-110^\circ\text{C}$.

ИК-спектры получены на ИК-Фурье спектрометре Vertex-70 фирмы Bruker с использованием приставки Platinum ATR с алмазной призмой, позволяющей снимать ИК-спектры в режиме НПВО (нарушенного полного внутреннего отражения) без дополнительной пробоподготовки в интервале волновых чисел $4000-400 \text{ см}^{-1}$. Обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения Opus 8.0.

Таблица 1. Физико-химические характеристики исходного и активированного биоугля
Table 1. Physico-chemical characteristics of the original and activated biochar

Образец	Влажность, W, %	Насыпная плотность, г/дм ³	pH
Б	4.3	141.5	7.1
УБ+КОН+УЗ	5.9	334.6	7.4

Примечание: Б – уголь береза, Б+КОН+УЗ - биоуголь, модифицированный раствором КОН + ультразвуком 30 мин.

Количественный элементный анализ, определение морфологии поверхности образцов проводили методом растровой электронной микроскопии (РЭМ, JSM-6380LV JEOL с системой микроанализа INCA 250). Гистограмму распределения частиц по размерам строили с использованием программы «ImageJ», версия 1.53k.

Сорбцию ионов меди (II) на биоуглях проводили в статических условиях при постоянной температуре 21 °С из модельного раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией ионов Cu^{2+} 0.15 моль/дм³. Фотометрическое определение меди проводили на фотоэлектроколориметре КФК-2 при длине волны 660 нм. В мерные колбы вместимостью 25.0 см³ вносили расчетный объем рабочего раствора, добавляли в каждую колбу 5.0 см³ 5%-ного раствора аммиака и доводили объёмы колб до метки дистиллированной водой. Для приготовления раствора сравнения в колбу на 25.0 см³ приливали 5.0 см³ 5%-ного раствора аммиака и доводили до метки дистиллированной водой. Все приготовленные стандартные растворы фотометрировали относительно раствора сравнения. Для анализа брали образцы биоугля в количестве 0.2 ± 0.0002 г, добавляли 20.0 см³ раствора CuSO_4 с концентрациями ионов меди в интервале $2.0 \cdot 10^{-3}$ – $6.0 \cdot 10^{-2}$ моль/дм³ и выдерживали до установления состояния равновесия (время достижения сорбционного равновесия определено при исследовании кинетики сорбции). Затем раствор фильтровали, определяли равновесную концентрацию ионов металла в растворе (C_p) и рассчитывали равновесную сорбционную емкость:

$$A = \frac{(C_n - C_p) \cdot V}{m},$$

где А – равновесная сорбционная емкость, ммоль/г, C_n – начальная концентрация раствора, моль/дм³, C_p – равновесная концентрация раствора, моль/дм³, V – объем раствора, дм³, m – масса образца, г.

Обсуждение результатов

Сочетание ультразвука и химической модификации способствуют получению биоугля с улучшенными характеристиками [22, 23]. В работе определены некоторые физико-химические характеристики исходного и активированного образцов биоуглей (табл. 1).

Модификация биоуглей раствором КОН под действием ультразвука приводит к значительному росту насыпной плотности биоугля в 2.4 раза, что связано с уменьшением размера частиц биоугля и несколько выше требований ГОСТ к промышленному древесному активированному углю БАУ-А (240 г/дм³) [24]. После активации вследствие роста удельной поверхности незначительно повышается влажность биоугля, оставаясь, тем не менее, в пределах требований ГОСТ (не более 10%).

По данным РЭМ одновременная активация карбонизата березовых опилок щелочью и ультразвуком способствует увеличению фракции частиц размером 20-60 мкм и исчезновению частиц биоугля размером более 100 мкм, тогда как в биоугле до активации присутствовали частицы размером до 160 мкм (рис. 1).

Методом энергодисперсионного анализа установлен элементный состав про-

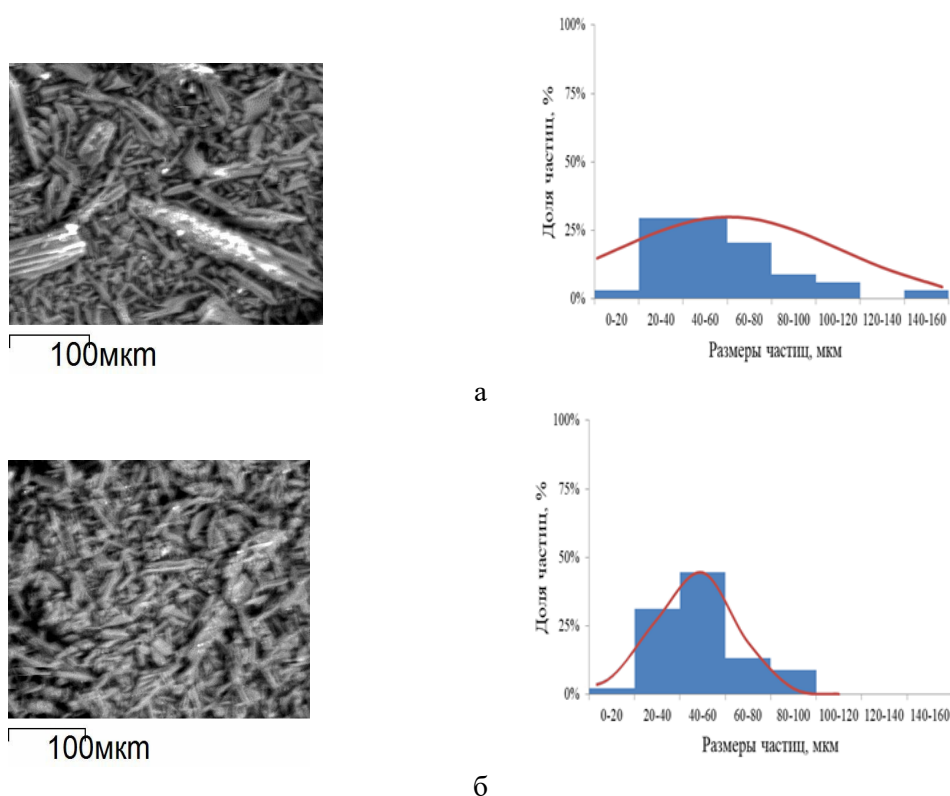


Рис. 1. РЭМ-изображения и гистограммы распределения частиц по размерам биоугля, полученного карбонизацией березовых опилок (а) и после активации биоугля КОН и ультразвуком (б).

Fig. 1. SEM images and histograms of particle size distribution of biochar obtained by carbonization of birch sawdust (a) and after activation of biochar by KOH and ultrasound (b).

Таблица 2. Элементный состав образцов Б и Б+КОН+УЗ
 Table 2. Elemental composition of the samples B and B+KOH+Us

Образец	Б	Б+КОН+УЗ
Элемент	Атомный%	Атомный%
С	76.46	79.04
О	23.22	20.37
Р	0.03	0.04
К	0.02	0.05
Са	0.27	0.50

дуктов пиролиза березовых опилок и биоугля после физико-химической активации, который подтвердил углеродную основу сорбента (76.46 и 79.04 ат.% соответственно). Установлено и наличие таких биогенных элементов как кальций (0.27 и 0.50 ат.%), калий (0.02 и 0.05 ат.%), фосфор (0.03 и 0.04 ат.%). Для биоугля, полученного карбонизацией опилок березы, отношение О/С составляет 0.304. После физико-химической активации этот параметр уменьша-

ется до 0.258, что, как правило, связано, с увеличением числа двойных связей С=С (табл. 2). Информация о поверхностных функциональных группах на различных образцах биоугля получена методом инфракрасной спектроскопии (рис. 2).

Широкий минимум в интервале 3250-3500 см⁻¹ отнесен к валентным колебаниям ОН-группы, в том числе и в кар-

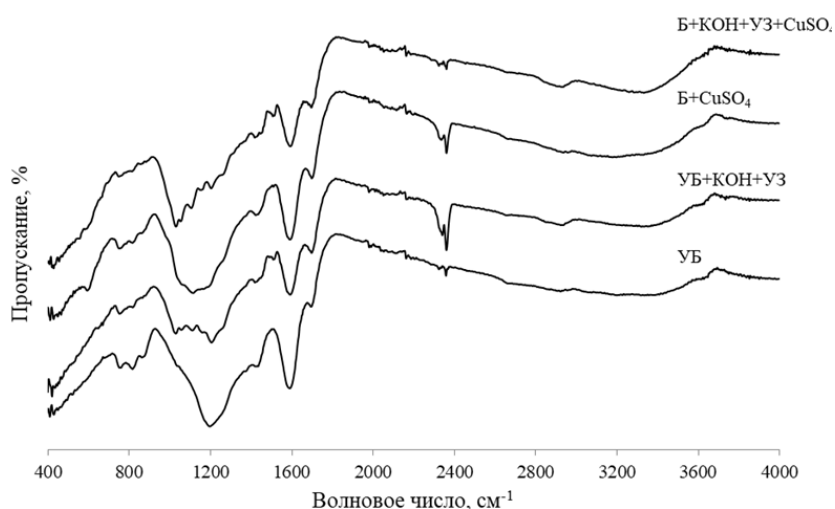


Рис. 2. ИК спектры образцов
Fig. 2 IR-spectra of samples

боксильных группах [25, 26]. Существенное уширение, вероятно, связано с образованием водородных связей между соседними функциональными группами.

Полоса с $\nu=1700\text{ см}^{-1}$, по-видимому, характерна для валентных колебаний карбониллов карбоксильных групп, связанных водородными связями с соседними группировками. Интенсивная и широкая полоса при 1600 см^{-1} относится к колебаниям хиноидных группировок различной природы совместно с колебаниями близлежащих связей $\text{C}=\text{C}$. Полосы в области $1450\text{...}1460\text{ см}^{-1}$ можно отнести к валентным колебаниям связи $\text{C}-\text{OH}$, и они характерны только для древесных углей, что объясняется наличием в матрице угля гуминовых кислот. Полоса при 1200 см^{-1} представляет собой уширенные и перекрывающиеся полосы асимметричных и симметричных колебаний связи $\text{C}-\text{O}$, в том числе в эфирных и в карбоксильных группах. Колебания при $800\text{...}745\text{ см}^{-1}$ относятся к ароматической структуре. Таким образом, сорбционная активность образцов биоугля обеспечивается наличием на поверхности большого числа различных функциональных групп.

Согласно анализу литературных данных [27-29] сорбция ионов металлов зависит от множества факторов: природы

сорбата, структуры сорбента, типа и количества функциональных групп, температуры, величины pH.

В работе [30] в качестве адсорбента для извлечения меди из водной среды взят отработанный коммерческий образец активированного угля фирмы ClassicPure, в состав которого входил уголь из скорлупы кокосового ореха и показано, что эффективность адсорбции во многом зависит от функциональных групп на поверхности сорбента и от pH раствора. В зависимости от изменения pH функциональные группы на поверхности сорбента могут протонироваться или депротонироваться, образуя соединения с ионами меди. Установлено, что адсорбционная способность активированного угля к Cu^{2+} увеличивалась при возрастании pH раствора от 2.0 до 5.5. При низких значениях pH кислородсодержащие функциональные группы, такие как $-\text{COOH}$ и $-\text{OH}$, присутствующие на поверхности биоугля, протонируются и отталкивают ионы Cu^{2+} . С увеличением значения pH ($2 < \text{pH} < 5.5$) содержание H^+ в растворе уменьшается, что ослабляет конкурентную адсорбцию, а кислородсодержащие функциональные группы биоугля могут адсорбировать Cu^{2+} посредством реакции комплексообразования. Подобные выводы получены в работах [31-33].

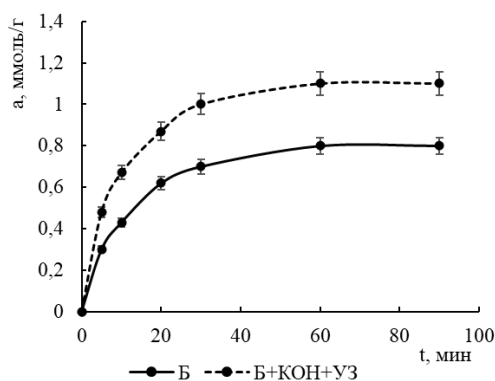


Рис. 3 Кинетика сорбции ионов меди на исследуемых биоуглях
 Fig.3 Kinetics of sorption of copper ions on the biochars

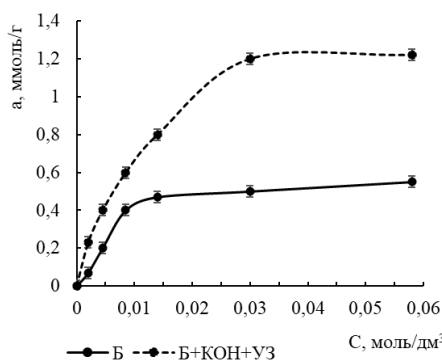


Рис. 4. Изотермы сорбции ионов меди образцами исходного и активированного биоуглей

Fig. 4. Sorption isotherms of copper ions by samples of initial and activated biochars

Таблица 3. Параметры сорбции ионов Cu^{2+} на исследуемых образцах
 Table 3. Sorption parameters of Cu^{2+} ions on the samples under study

Образец	Предельная сорбция, A_{max} , ммоль/г	Константа равновесия, K_p
Б	0.81	41.15
Б+KOH+У3	1.18	65.19

В данной работе рН исследуемых растворов, содержащих ионы меди, составляла 5,8, как до начала, так и в процессе сорбции. При этой величине рН адсорбционная способность угля по ионам меди высокая. Изучение кинетики сорбции ионов на березовом биоугле показало, что сорбция ионов меди достигает максимального значения через 1 час с начала перемешивания фаз (рис. 3).

Скорость реакции максимальна в первые 10 минут. Определена степень извлечения ионов меди на исследуемых образцах биоугля, она составляет 33% на исходном березовом биоугле и 50% на активированном образце угля. В [34] подчеркивается, что адсорбция металлов на поверхности сорбентов обусловлена в основном комплексообразованием между ионами металлов и поверхностными функциональными группами сорбента, а также электростатическим взаимодействием ион металла-поверхность угля, тогда как площадь поверхности и структура пор образца сорбента играют второстепенную роль. В пользу образования связей Cu-O

между карбоксилат-ионами и Cu^{2+} говорит сдвиг полос в ИК-спектрах образцов $\text{B}+\text{CuSO}_4$ и $\text{B}+\text{KOH}+\text{У3}+\text{CuSO}_4$, соответствующих валентным колебаниям связи C-O в карбоксильной группе при 1200 cm^{-1} в сторону меньших частот. Более ярко сдвиг выражен на спектре $\text{B}+\text{KOH}+\text{У3}+\text{CuSO}_4$, что согласуется с большей степенью сорбции ионов Cu^{2+} на этом образце.

В работах [35-37] показано, что изотермы сорбции ионов металлов хорошо описываются в рамках модели Ленгмюра, что указывает на формирование мономолекулярного слоя при взаимодействии ионов металла со специфическими центрами сорбции.

Получены изотермы сорбции ионов меди из водных растворов на исходном и активированном образцах биоугля при 294 К (рис. 4). Экспериментальные кривые также можно удовлетворительно описать уравнением изотермы адсорбции Ленгмюра. Приведение полученных результатов к линейному виду позволяет



определить в уравнении Ленгмюра A_{\max} и K (табл. 3).

Проведение физико-химической активации исходного биоугля способствует возрастанию емкости адсорбционного монослоя, константа равновесия также увеличивается, что свидетельствует о возрастании взаимодействия между ионами меди и активированным биоуглем. Таким образом, щелочная активация с одновременным ультразвуковым воздействием приводит к повышению сорбции ионов меди активированным углем в 2.2 раза по сравнению с исходным карбонизатом березовых опилок.

Заключение

Физико-химическая модификация биоугля из опилок березы приводит к росту насыщенной плотности в 2.4 раза, что связано с уменьшением дисперсии частиц до 100 мкм при увеличении содержания частиц размером 20-60 мкм в активированном биоугле. После активации исходного угля возрастает содержание углерода и уменьшается содержание кислорода в образцах (76.46 и 79.04 ат.%; 23.22 и 20.37 ат.% соответственно). Согласно данным ИК спектроскопии, сорбционная способность активированного биоугля определяется наличием поверхностных гидроксильных, карбонильных, карбоксильных и хиноидных функцио-

Список литературы/References

1. Sharififard H., Nabavinia M., Soleimani M. Evaluation of adsorption efficiency of activated carbon/chitosan composite for removal of Cr (VI) and Cd (II) from single and bi-solute dilute solution. *Advances in Environmental Technology*. 2016; 2: 215-227. <https://doi.org/10.22104/aet.2017.484>
2. Saleh T.A., Gupta V.K. Column with CNT/magnesium oxide composite for lead(II) removal from water. *Environmental Science and Pollution Research*. 2012; 19: 1224-1228. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0670-6>

нальных групп. Изотермы сорбции удовлетворительно описываются уравнением Ленгмюра. Сорбция ионов меди модифицированным углем повышается в 2.2 раза по сравнению с исходным карбонизатом березовых опилок. Физико-химическая модификация биоугля щелочью и ультразвуком способствует возрастанию емкости адсорбционного монослоя и константы равновесия. Степень извлечения ионов меди на исследуемых образцах биоугля составляет 33% на исходном березовом биоугле и 50% на активированном образце.

Образование связи Cu-O между карбоксилат-ионами и Cu^{2+} подтверждается сдвигом полос при 1200 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям связи C-O в карбоксильной группе, в ИК-спектрах образцов биоугля после сорбции в область меньших частот. Большое смещение характерно для спектра образца Б+КОН+УЗ+CuSO₄, что согласуется с повышением сорбции ионов меди активированным биоуглем в 2.2 раза.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

3. Jacob J.M., Karthik C., Saratale R.G., Kumar S.S., Prabakar D., Kadirvelu K., Pugazhendhi A. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature. *Journal of Environmental Management*. 2018; 217: 56-70. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.077>
4. Trivedi P., Axe L. Predicting divalent metal sorption to hydrous Al, Fe, and Mn oxides. *Environmental Science and Technology*. 2001; 35: 1779-1784. <https://doi.org/10.1021/es001644+>
5. Boukhalfa C., Mennour A., Reinert L., Duclaux L. Removal of copper from aqueous solutions by co-precipitation with hy-



- drated iron oxide. *Asian Journal of Chemistry*. 2007; 19: 4267-4276. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.04.010>
6. Ahmad R., Kumar R., Haseeb S. Adsorption of Cu^{2+} from aqueous solution onto iron oxide coated eggshell powder: Evaluation of equilibrium, isotherms, kinetics, and regeneration capacity. *Arabian Journal of Chemistry*. 2012; 5: 353-359. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.003>
7. Feng Y., Gong J.L., Zeng G.M., Niu Q.Y., Zhang H.Y., Niu C.G., Zhang H.Y., Niu C.G., Deng J.H., Yan M. Adsorption of Cd (II) and Zn (II) from aqueous solutions using magnetic hydroxyapatite nanoparticles as adsorbents. *Chemical Engineering Journal*. 2010; 162: 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.05.049>
8. Regmi P., Moscoso J.L.G., Kumar S., Cao X., Mao J., Schafran G. Removal of copper and cadmium from aqueous solution using switch grass biochar produced via hydrothermal carbonization process. *Journal of Environmental Management*. 2012; 109: 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.047>
9. Uchimiya M., Bannon D.I., Wartelle L.H. Retention of heavy metals by carboxyl functional groups of biochars in small arms range soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012; 60: 1798-1809. <https://doi.org/10.1021/jf2047898>
10. Sizmur T., Quilliam R., Puga A.P., Moreno-Jiménez E., Beesley L., Gomez-Eyles J.L. Application of biochar for soil remediation. *Agricultural and Environmental Applications of Biochar: Advances and Barriers*. 2016; 63: 295-324. <https://doi.org/10.2136/sssaspeccpub63.2014.0046.5>
11. Tan X., Liu Y., Zeng G., Wang X., Hu X., Gu Y., Yang Z. Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. *Chemosphere*. 2015; 125: 70-85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.058>
12. Poluboyarinov O.I. Wood density. Leningrad, Chemistry. 1973. 76 p. (In Russ.)
13. Timerbaev N.F., Safina A.V., Khabibullina A.R., Nazarov I.Y. The current state of charcoal production. *Energy problems*. 2017; 19: 13-20. <https://doi.org/10.30724/1998-9903-2017-19-7-8-13-20>
14. Tsyganova S.I., Melnikov A.N., Korolkova I.V., Chesnokov N.V., Kuznetsov B.N. Obtaining porous carbon materials from modified ZnCl_2 birch sawdust. *Journal of Applied Chemistry*. 2007; 80: 943-945
15. Moreno-Castilla C., Carrasco-Marin F., Lopez-Ramon M.V., Alvarez-Merino M.A. Chemical and physical activation of olive-mill waste water to produce activated carbons. *Carbon*. 2001; 39: 1415-1420. [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(00\)00268-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(00)00268-2)
16. Bronzov O.V., Utkin G.K., Kislitsyn A.N. Charcoal. Production, main properties and applications of charcoal. Moscow. Forest Industry. 1979. 137 p.
17. Sajjadi B., Chen W.Y., Egiebor N.O. A comprehensive review on physical activation of biochar for energy and environmental applications. *Reviews in Chemical Engineering*. 2019; 35: 735-776. <https://doi.org/10.1515/revce-2017-0113>
18. Chen F., Ji Y., Deng Y., Ren F., Tan S., Wang Z. Ultrasonic-assisted fabrication of porous carbon materials derived from agricultural waste for solid-state supercapacitors. *Journal of Materials Science*. 2020; 55: 11512-11523. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-04751-y>
19. Peter A., Chabot B., Loranger E. Enhanced activation of ultrasonic pre-treated softwood biochar for efficient heavy metal removal from water. *Journal of Environmental Management*. 2021; 290: 112569. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112569>
20. Chatterjee R., Sajjadi B., Chen W., Mattern D.L., Egiebor N.O., Hammer N., Raman V. Low frequency ultrasound enhanced dual amination of biochar: A nitrogen-enriched sorbent for CO_2 capture. *Energy Fuels*. 2019; 33: 2366-2380.



<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.8b03583>

21. Hazrati S., Farahbakhsh M., Cerda A., Heydarpoor G. Functionalization of ultrasound enhanced sewage sludge-derived biochar: Physicochemical improvement and its effects on soil enzyme activities and heavy metals availability. *Chemosphere*. 2020; 269: 128767. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128767>

22. Sajjadi B., Broome J.W., Chen W.Y., Mattern D.L., Egiebor N.O., Hammer N., Smith C.L. Urea functionalization of ultrasound treated biochar: A feasible strategy for enhancing heavy metal adsorption capacity. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018; 51: 20-30. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.015>

23. Wang C., Wang H., Cao Y. Pb(II) sorption by biochar derived from *Cinnamomum camphora* and its improvement with ultrasound assisted alkali activation. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects*. 2018; 556: 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.08.036>

24. GOST 6217-74 Crushed active charcoal. (In Russ.)

25. Zawadzki J. Infrared Spectroscopy in Surface Chemistry of Carbons. In: Thrower, P.A., Ed., *Chemistry and Physics of Carbon*. N.Y. Marcel Dekker. 1989; 21: 147-369.

26. Xin Zhang, Baowei Zhao, Hui Liu, Yue Zhao, Liujun Li. *Environmental Technology & Innovation*. 2022; 26: 102288. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102288>

27. Aguayo-Villarreal I.A., Bonilla-Petriciolet A., Muniz-Valencia R. Preparation of activated carbons from pecan nutshell and their application in the antagonistic adsorption of heavy metal ions. *Journal of Molecular Liquids*. 2017; 230: 686-695. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.01.039>

28. Lv D., Liu Y., Zhou J., Yang K., Lou Z., Baig S. A., Xu X. Application of EDTA-functionalized bamboo activated carbon (BAC) for Pb(II) and Cu(II) removal from aqueous solutions. *Applied Surface Science*.

2018; 428: 648-658. <https://doi.org/10.1016/j.apusc.2017.09.151>

29. Li H., Dong X., da Silva E.B., de Oliveira L.M., Chen Y., Ma L.Q. Mechanisms of metal sorption by biochars: Biochar characteristics and modifications. *Chemosphere*. 2017; 178: 466-478. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.072>

30. Da'na E., Awad A. Regeneration of spent activated carbon obtained from home filtration system and applying it for heavy metals adsorption. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2017; 5: 3091-3099. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.06.022>

31. Linnikov O. D., Rodina I. V., Baklanova I.V., Suntsov A.Yu. Sorption of copper ions with activated carbon of the BAUA brand. *Sorption and chromatographic processes*. 2018; 18: 554-562. <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2018.18/563>

32. Lozinskaya E. F., Mirakova T. N., Zhilyaeva N. A. Study of sorption properties of natural sorbents with respect to copper (II) ions. *Scientific notes: electronic scientific journal of Kursk State University*. 2013; 2: 329-333.

33. Kostin A.V., Mostalygina L.V. Study of the mechanism of sorption of copper and lead ions on bentonite clay. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2012; 12: 949-957. (In Russ.)

34. Vedenyapina M.D., Kurmysheva A.Yu., Kulaishin S.A., Kryazhev Yu.G. Adsorption of some heavy metals on activated carbons (review). *Chemistry of solid fuel*. 2021; 2: 18-41. <https://doi.org/10.31857/S0023117721020092>

35. Monier M., Nawar N., Abdel-Latif D.A. Preparation and characterization of chelating fibers based on natural wool for removal of Hg (II), Cu (II) and Co (II) metal ions from aqueous solutions. *Journal of hazardous materials*. 2010; 184: 118-125. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.08.013>



36. Aluigi A., Corbellini A., Rombaldoni F., Mazzuchetti G. Wool-derived keratin nanofiber membranes for dynamic adsorption of heavy-metal ions from aqueous solutions. *Textile Research Journal*. 2013; 83; 1574-1586.
<https://doi.org/10.1177/0040517512467060>

37. Yin Z., Chen M., Hu S., Cheng H. Carboxylate functionalized wool fibers for removal of Cu(II) and Pb(II) from aqueous solution. *Desalination and Water Treatment*. 2016; 7: 17367-17376. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1084484>

Информация об авторах / Information about the authors

Е.В. Томина – д.х.н., зав. кафедрой химии, Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Российская Федерация; доцент кафедры материаловедения и индустрии наносистем, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

E.V. Tomina – DSc in Chemistry, Head of the Department of Chemistry, Voronezh State University of Forestry and Technologies Named after G.F. Morozov, Voronezh, Russian Federation; associate professor of the Department of Materials Science and Nanosystem Industry, Voronezh state University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: tomina-e-v@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5222-0756>

Н.А. Ходосова – к.х.н., доцент кафедры химии, Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж, Российская Федерация

N.A. Khodosova – Ph.D (chemistry), Associate Professor at Chemistry department of the Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Voronezh, Russian Federation; e-mail: nhodosova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2809-717X>

В.Е. Мануковская – студентка 2 курса лесопромышленного факультета, Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

V.E. Manukovskaya – 2nd year student of the Faculty of Forestry of the Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Voronezh, Russian Federation; e-mail: varvaramanukovskaya19@gmail.com

А.Н. Лукин – к.ф.-м.н., доцент кафедры физики твердого тела и наноструктур, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

A.N. Lukin – Ph.D (physic and mathematic), Associate Professor of Solid State Physics and Nanostructures department, Voronezh State University., Voronezh, Russian Federation; e-mail: alukin@phys.vsu.ru

А.Ю. Корчагина – младший научный сотрудник лаборатории промышленных биотехнологий, Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

A.Yu. Korchagina – Junior Researcher, Laboratory of Industrial Biotechnology, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Voronezh, Russian Federation; e-mail: nuta10011@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 3.04.2023; одобрена после рецензирования 25.04.2023; принята к публикации 3.05.2023.

The article was submitted 3.04.2023; approved after reviewing 25.04.2023; accepted for publication 3.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543; 543.38; 543.054; 537.622

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11319

Применение магнитных углей, полученных из растительного сырья на основе шелухи риса, для извлечения хлорфеноксиуксусных кислот и их метаболитов

**Ксения Сергеевна Сыпко^{1,2}, Александр Сергеевич Губин¹,
Алексей Алексеевич Кушнир¹, Павел Тихонович Суханов¹✉**

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия, pavel.suhanov@mail.ru✉

²Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Аннотация. Углеродные сорбенты (УС) – одни из наиболее изученных и применяемых в различных областях промышленности (нефтегазовой, химической и др.), также они эффективны для извлечения и концентрирования практически всех групп органических и неорганических соединений. Основой для получения УС служит различное органическое сырье – недорогие сорбционные материалы, полученные из натуральных материалов. Преимущества их состоят в изобилии, доступности, низкой стоимости, высокой сорбционной способности. Одним из современных направлений техники концентрирования является применение магнитных сорбентов по типу «ядро-оболочка».

Цель исследования – изучить возможность получения магнитного сорбента на основе натурального природного материала – шелухи риса (РШ) и дальнейшего применения для извлечения хлорфеноксиуксусных кислот [2,4-дихлорфеноксиуксусная (2,4-D), 2,4-дихлорфеноксимасляная (2,4-DM), 2,4-дихлорфеноксипропионовая (2,4-DP)] и их метаболитов [2,4-дихлорфенола (2,4-DCP) или 4-хлорфенола (4-CP)]. Предложен способ синтеза магнитного угля (Fe_3O_4/C) из отхода растительного происхождения – РШ. Синтез включает сжигание при 600°C, измельчение на планетарной мельнице и перемешивание полученного угля в растворе с $FeCl_3$ и $FeSO_4$ в щелочной среде при температуре 70°C. Размеры магнитного ядра Fe_3O_4/C составили 8 – 22 нм, размеры частиц – 0.5 до 3 мкм. Удельная площадь поверхности сорбента – 892 м²/г, объем пор – 0.2945 см³/г, средний диаметр пор – 2.24 нм.

Синтезированный Fe_3O_4/C показал высокую эффективность по отношению к хлорфеноксиуксусным кислотам и хлорфенолам. Установлены оптимальные условия сорбции: доза сорбента – 2 г/дм³, pH 3 (степень извлечения зависит от заряда поверхности сорбента и сорбата), время достижения сорбционного равновесия – 3-5 мин. Степени извлечения составили 87.5 – 99.9%. В таких условиях получены изотермы сорбции и проведена оценка сорбционной способности изучаемого сорбента по отношению к сорбатам. Изотермы сорбции обрабатывали с помощью уравнений Ленгмюра и Фрейндлиха. Наибольшие коэффициенты корреляции ($r^2 = 0.987-0.993$) установлены при их представлении в координатах Ленгмюра, при этом предельная сорбция 2,4-D, 2,4-DP, 2,4-DM, 2,4-DCP, 4-CP составляет соответственно 318.1, 352.2, 382.5, 512.2, 482.5 мг/г.

Ключевые слова: сорбция, хлорфеноксиуксусные кислоты, хлорфенолы, магнитный сорбент, шелуха риса, углеродные сорбенты.

Благодарности: работа выполнена в рамках гранта «УМНИК-2021». Договор (соглашение) № 17218ГУ/2021 о предоставлении гранта на выполнение научно-исследовательских работ и оценку перспектив коммерческого использования результатов в рамках реализации инновационного проекта от 22 декабря 2021 г.

Для цитирования: Сыпко К.С., Губин А.С., Кушнир А.А., Суханов П.Т. Применение магнитных углей, полученных из растительного сырья на основе шелухи риса, для извлечения хлорфеноксиуксусных кислот и их метаболитов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 3. С. 395-404. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11319>

Original article

The use of magnetic carbons obtained from vegetable raw materials based on rice husks for the extraction of chlorophenoxyacetic acids and their metabolites

Ksenia S. Sypko^{1,2}, Aleksander S. Gubin¹, Aleksei A. Kushnir¹, Pavel T. Sukhanov¹✉

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation,
pavel.suhanov@mail.ru✉

²North Caucasian Federal University, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Carbon sorbents (CS) are one of the most studied and used in various industries (oil and gas, chemical, etc.), they are also effective for extracting and concentrating almost all groups of organic and inorganic compounds. Various organic raw material are the basis for obtaining CS, inexpensive sorption materials obtained from natural materials. Their advantages include abundance, availability, low cost, high sorption capacity. One of the modern areas of concentration technology is the use of "core-shell" magnetic sorbents.

The purpose of the study was the possibility of obtaining a magnetic adsorbent based on natural material - rice husk (RH) and further application for the extraction of chlorophenoxyacetic acids [2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D), 2,4-dichlorophenoxybutyric (2,4-DM), 2,4-dichlorophenoxypropionic (2,4-DP)] and their metabolites [2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) or 4-chlorophenol (4-CP)].

A method for the synthesis of magnetic coal ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$) from RH, waste of plant origin was suggested. The synthesis includes burning at 600°C, grinding in a planetary mill and mixing the resulting coal in solution with FeCl_3 and FeSO_4 in an alkaline medium at a temperature of 70°C. Dimensions of the magnetic core $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ were 8 – 22 nm, particle sizes were from 0.5 to 3 μm . The specific surface area of the adsorbent was 892 m^2/g , pore volume was 0.2945 cm^3/g , the average pore size was 2.24 nm.

Synthesized $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ showed high efficiency in relation to chlorophenoxyacetic acids and chlorophenols. Optimal sorption conditions were established: adsorbent dose - 2 g/dm^3 , pH 3 (the degree of extraction depends on the surface charge of the adsorbent and sorbate), adsorption time was 3–5 min. The recovery rates were 87.5 – 99.9%. Under such conditions, sorption isotherms were obtained and the sorption capacity of the studied adsorbent with respect to sorbates was evaluated. Sorption isotherms were processed using the Langmuir and Freundlich equations. The highest correlation coefficients ($r^2 = 0.987-0.993$) were established when they were presented in Langmuir coordinates, the maximum adsorption capacity of 2,4-D, 2,4-DP, 2,4-DM, 2,4-DCP, 4-CP was 318.1, 352.2, respectively, 382.5, 512.2, 482.5 mg/g .

Keywords: sorption, chlorophenoxyacetic acids, chlorophenols, magnetic adsorbent, rice husk, carbon sorbents.

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the UMNIC-2021 grant. Agreement No. 17218GU/2021 on the provision of a grant for the implementation of research work and an assessment of the prospects for the commercial use of the results as part of the implementation of an innovative project dated December 22, 2021.

For citation: Sypko K.S., Gubin A.S., Kushnir A.A., Sukhanov P.T. The use of magnetic carbons obtained from vegetable raw materials based on rice husks for the extraction of chlorophenoxyacetic acids and their metabolites. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 395-404. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11319>

Введение

Углеродные сорбенты (УС) – одни из наиболее изученных и применяемых в различных областях промышленности (нефтегазовой, химической и др.), например, для очистки сточных вод от загрязнителей [1, 2], очистки и поглощения газов (CO_2 , H_2S) [3, 4]. Также они эффективны для извлечения и концентрирования

практически всех групп органических и неорганических соединений [5, 6]. Основной для получения УС служит различное органическое сырье – недорогие сорбционные материалы, полученные из натуральных материалов, – отходов переработки кукурузы (кукурузный початок), фасоли, гороха, кожура цитрусовых, отрубей пшеницы, скорлупы косточек абрикосов, грецкого ореха, шелухи риса и



т.д. [7-9]. Преимущества их состоят в изобилии, доступности, низкой стоимости, высокой сорбционной способности.

В зависимости от технологии сжигания сырья – физической активации (пироллиз в атмосфере кислорода, инертных газов, CO_2 и без доступа воздуха) возможно получать угли с заданными свойствами, увеличивать или уменьшать размеры пор, удельную площадь поверхности. Для улучшения сорбционных характеристик углей применяют их химическую активацию и модификацию неорганическими кислотами, солями, щелочами, органическими реагентами (поверхностно-активные вещества, функциональные агенты и мономеры). Применение данных реагентов позволяет увеличить на поверхности угля количество функциональных групп, которые способны взаимодействовать с сорбатом, и как следствие, увеличить предельную сорбцию и степень извлечения поллютантов по сравнению с необработанной формой [8, 10].

Одним из направлений техники концентрирования является применение магнитных сорбентов по типу «ядро-оболочка», в которых имеется ядро из железа, Fe_2O_3 или Fe_3O_4 [11]. Наличие такого магнитного ядра обеспечивает быстрое извлечение сорбента из матриц. Применение магнитных сорбентов возможно в статических условиях и в режиме динамической *on-line* сорбции [12]. Оба подхода затруднительны при применении углей (УГ), поскольку сложно получить наноразмерные частицы. Обычно при сжигании органического материала и измельчении образуются частицы размером несколько микрометров. Наличие такой толстой оболочки из углерода вокруг магнитного ядра значительно снижает намагниченность насыщения (обычно она не превышает 10 emu/g) [13]. Однако, несмотря на это, наноконпозиты магнетит/углерод показали хорошую эффективность при сорбции органических поллютантов [13-16].

Хлорфеноксиуксусные кислоты (ХФК) – наиболее применяемая группа гербицидов как в РФ, так и в мире [17]. Данная группа веществ включает 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-D), ее соли и сложные эфиры, 2,4-дихлорфеноксимасляную (2,4-DM) и 2,4-дихлорфеноксипропионовую кислоту (2,4-DP). Среди этих препаратов наибольшее применение находит 2,4-D – хлорированный гербицид (рис. 1), который обычно используется для борьбы с сорняками в садах и на приусадебных участках [18]. В природной среде 2,4-D разлагается с образованием стабильных, более токсичных метаболитов – хлорфенолов (ХФ): 2,4-дихлорфенола (2,4-DCP) или 4-хлорфенола (4-CP) [19].

Цель исследования – изучить возможность получения магнитного сорбента на основе натурального природного материала – шелухи риса (РШ) и дальнейшего применения для извлечения хлорфеноксиуксусных кислот и их метаболитов.

Экспериментальная часть

Приборы, реактивы, материалы. Для исследования свойств полимерных сорбентов (ИК-спектроскопия, удельная площадь поверхности, размер частиц сорбента, элементный и рентгеноструктурный анализ) применялись приборы, реактивы, материалы аналогичные работе [20]. Изучение сорбции проводили с применением растворов, которые готовили из стандартных образцов 2,4-D (ГСО 9105-2008, Эколан РФ), 2,4-DP, 2,4-DM, 2,4-DCP и 4-CP (не менее 98% чистого вещества, Merck, США) (рис. 1).

Получение активированного угля из шелухи риса (РШ). Исходные образцы РШ (Краснодарский край) сжигали в муфельной печи (ПМ-10, Россия) при температуре 600°C с доступом кислорода воздуха. Измельчение полученного УГ производили в два этапа на лабораторной планетарной мельнице с 2 держателями (Pulverisette 5 classic line) при помощи шаров из оксида циркония, легированных

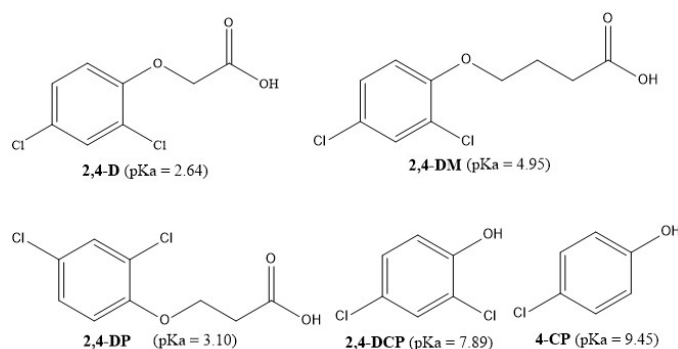


Рис. 1. Значения констант кислотной диссоциации (pK_a) (приведены по данным <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) и структурные формулы дихлорфеноксиуксуных кислот и их метаболитов.

Fig. 1. Dissociation constant (pK_a) values (according to <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) and structural formulas of dichlorophenoxyacetic acids and their metabolites.

оксидом иттрия различного диаметра. Сначала смешивали 10 г УГ, 1 г поливинилпирролидона с 300 г циркониевых шаров ($d=2$ мм) и измельчали 40 мин на планетарной мельнице при 250 об/мин. После гранулометрического анализа, осуществляемого с помощью лазерного анализатора размера частиц (Analysetta 22 MicroTec plus) (оксигидраты с УЗ – 60 сек, количество сканов – 5 раз) отделяли циркониевые шары через сито.

Синтез магнитного углеродного сорбента (Fe_3O_4/C). Измельченные частицы УГ (3.3 г), полученные на втором этапе, добавляли в бидистиллированную воду (300 см^3) и озвучивали 10-15 мин ультразвуком (22 кГц) при 70°C , затем перенесли в колбу и перемешивали (500 об/мин), сохраняя постоянную температуру около 70°C .

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (2.7 г) и $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (1.4 г) растворяли каждый по отдельности в 50 см^3 бидистиллированной воды, нагретой до 70°C . Затем постепенно по $5-7\text{ см}^3$ добавляли в колбу, в которой уже перешивалась суспензия УГ. После добавления последней порции перемешивали еще 10 мин (1000 об/мин). Затем добавляли 11 см^3 25%-ного раствора аммиака и перемешивали 2 ч. Полученный Fe_3O_4/C промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод и консервировали в бидистиллированной воде.

Определение оптимальной дозы сорбента. В пробирки помещали 10 см^3 растворов сорбатов с концентрацией 1 мкг/см^3 и Fe_3O_4/C массой 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 г и перемешивали 30 мин с применением верхнеприводной мешалки. Для отделения сорбента от раствора применяли неодимовый магнит, который прижимали к стенке сосуда. Раствор сливали, равновесные концентрации сорбатов в нем устанавливали с помощью ГХ-МС по методике [19].

Определение оптимального времени сорбции. В пробирки помещали 10 см^3 растворов сорбатов и $0.02\text{ г } Fe_3O_4/C$. Сорбцию проводили в течение 1, 2, 3, 4, 5, 10 и 20 мин.

Определение оптимального значения pH. В пробирки помещали 10 см^3 растворов с pH от 1 до 10 (значения pH устанавливали добавлением соответственно растворов HCl или NaOH), и Fe_3O_4/C массой 0.02 г и перемешивали 30 мин с применением верхнеприводной мешалки.

Изучение сорбции Fe_3O_4/C в статических условиях. 0.02 г сорбента помещали в сосуд, добавляли 10 см^3 растворов, исследуемых сорбатов с исходной концентрацией (c_0) $1-800\text{ мг/дм}^3$ при pH 3. Раствор перемешивали 5 мин. По полученным экспериментальным данным рассчитывали количественные характеристики сорбции: степени извлечения ($R, \%$) и сорбцию ($Q, \text{ мг/г}$) [21].

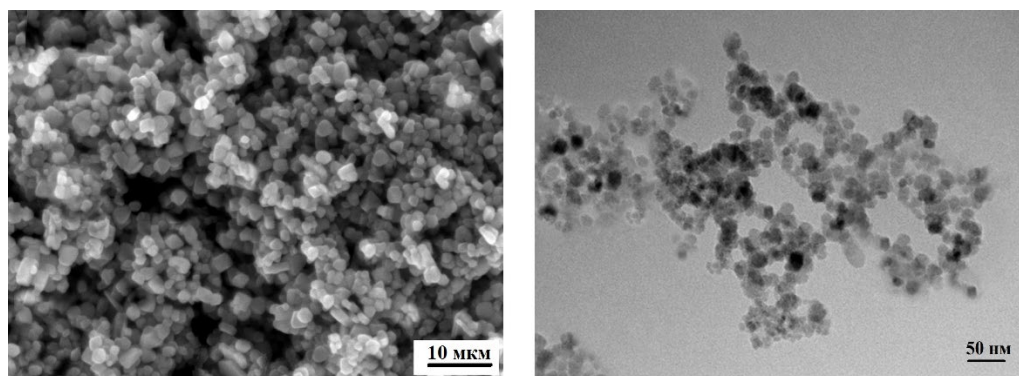


Рис. 2. Микрофотография частиц по данным сканирующей микроскопии сорбента $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ (слева) и наночастиц Fe_3O_4 (справа).

Fig. 2. Micrograph of particles according to scanning microscopy data of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ adsorbent (left) and Fe_3O_4 nanoparticles (on the right).

Обсуждение результатов

По данным просвечивающей микроскопии размеры магнитного ядра составили 8-22 нм (рис. 2). Размеры частиц полученного $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ составили от 0.5 до 3 мкм. Более мелкие частицы имеют шарообразную форму, более крупные частицы – форму многоугольников. Крупные частицы формируют отдельные агрегаты. Известно, что зола РШ содержит значительные примеси SiO_2 [9]. Дифрактограмма нанопорошка Fe_3O_4 содержит пики магнетита ($2\theta = 30.38^\circ, 35.58^\circ, 44.14^\circ, 53.48^\circ, 57.08^\circ$ и 62.66°), соответствующие значениям интенсивностей (2 1 1), (3 1 1), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1) и (4 4 0). Дифрактограмма $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ дополнительно содержит широкие пики при $2\theta = 20 - 29^\circ$, которые появляются при наличии аморфного кремния [19]. На ИК-спектрах установлены характеристические пики при 572 см^{-1} (колебания связей Fe-O); $807, 959, 1075 \text{ см}^{-1}$ (колебания связей Si-O); 1060 и 1725 см^{-1} ($-\text{COO}-$ группы); 1617 и 1635 см^{-1} (колебания $-\text{C}=\text{C}-$ связей); 3395 см^{-1} (OH -группы) [19]. Удельная площадь поверхности сорбента составила $892 \text{ м}^2/\text{г}$, объем пор – $0.2945 \text{ см}^3/\text{г}$, средний диаметр пор – 2.24 нм .

Влияние массы сорбента. Оптимальная доза сорбента составила 0.02 г при объеме раствора сорбата 10 см^3 pH 2 и продолжительности сорбции 5 мин. Дальнейшее увеличение дозы сорбента

незначительно влияет на степени извлечения и соответственно площади хроматографических пиков (рис. 3а).

Влияние времени контакта фаз. Оптимальная продолжительность сорбции изученных сорбатов составляет 5 мин. Вероятно, присутствие SiO_2 в золе значительно ускоряет достижение сорбционного равновесия. Еще быстрее (3 мин) достигается равновесие при сорбции ХФК (рис. 3б), что может быть связано с высоким сродством между ними и карбоксилатными группами мезопористого углерода [18].

Влияние pH раствора. Выбранные для исследования ХФК и их метаболиты различаются значениями констант кислотной диссоциации (pK_a) и наличием различных заместителей в ароматическом ядре (рис. 1). Максимальные R при сорбции 2,4-D, 2,4-DP, 2,4-DM, 2,4-DCP и 4-CP достигаются при pH 2-3 (рис. 3в). 2,4-D – слабая ($\text{pK}_a=2.65$) кислота (рис. 1), которая присутствует в водном растворе в виде депротонированной формы (аниона), поэтому некоторые молекулы находятся в ионизированной форме, когда значение pH раствора выше 2.65, а ее степень диссоциации постепенно увеличивается с повышением pH. Ранее установлено, что заряд поверхности (pH_{PZC}) SiO_2 практически нейтрален в диапазоне pH 1-5 [22]. Заряд поверхности наночастиц Fe_3O_4 положителен в кислой и нейтральной среде [23]. Таким образом,

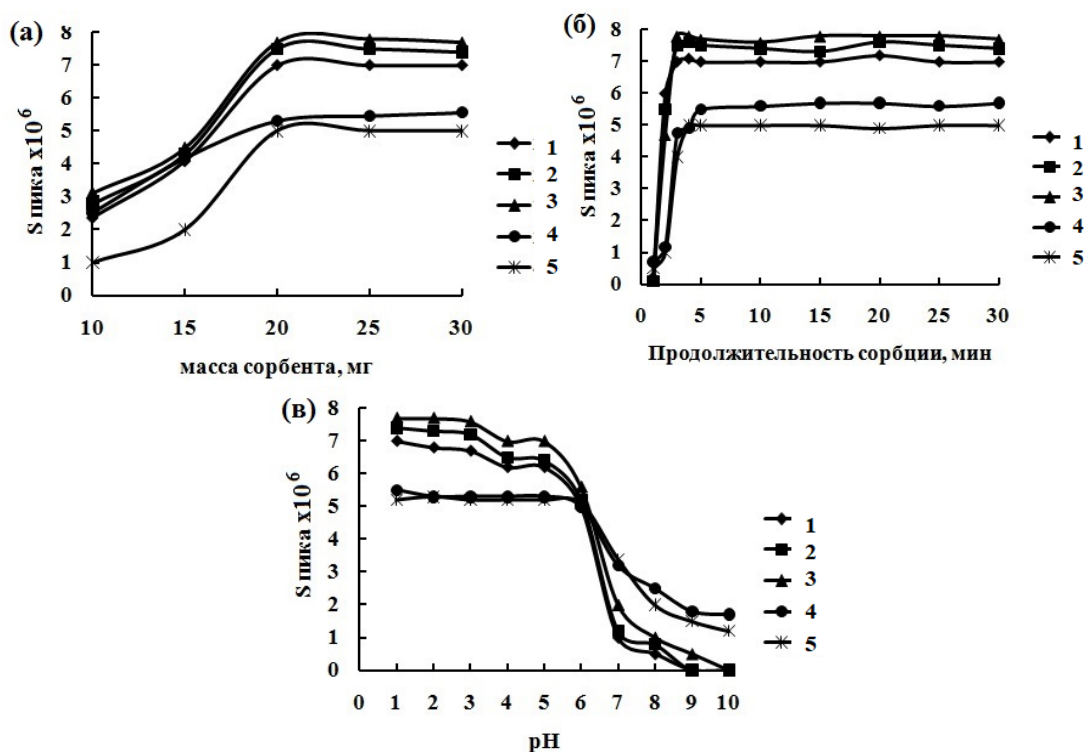


Рис. 3. Зависимость степеней извлечения (выражены через площади хроматографических пиков) 2,4-D (1), 2,4-DP (2), 2,4-DM (3), 2,4-DCP (4), 4-CP (5) от массы сорбента (а), продолжительности сорбции (б) и pH раствора (в).

Fig. 3. Dependence of recovery levels (expressed in terms of chromatographic peak areas) 2,4-D (1), 2,4-DP (2), 2,4-DM (3), 2,4-DCP (4), 4-CP (5) on the mass of the adsorbent (a), the duration of sorption (b), and the pH of the solution (c).

поверхность Fe₃O₄/C заряжена положительно примерно в диапазоне значений pH 1-5 и отрицательно при pH выше 5. Это подтверждается резким снижением площадей хроматографических пиков, которые пропорциональны R, при pH около 6 (рис. 3в). Такая закономерность хорошо выражена для ХФК и в меньшей степени для ХФ. При pH 4-5 извлекается около 82 – 90% 2,4-D, 2,4-DP, 2,4-DM. В интервале значений pH 6-7 происходит скачкообразное снижение эффективности извлечения кислот. При pH 8-9 ХФК практически не сорбируются Fe₃O₄/C, степень извлечения не превышает 11-17%. ХФ характеризуются менее выраженной зависимостью снижения R в нейтральной и слабощелочной среде, поскольку при pH > 7 часть молекул 2,4-DCP и 4-CP находятся в неионизированном состоянии.

Следовательно, R 2,4-D относительно высока в кислых средах за счет электростатического притяжения сорбента с кислородсодержащими функциональными группами сорбента. Аналогичные закономерности прослеживаются при сорбции 2,4-DP и 2,4-DM. 2,4-DCP и 4-CP в кислых средах при pH 2-6 существуют в недиссоциированных (молекулярных) формах, и так как поверхность адсорбента заряжена положительно, то между адсорбатом и адсорбентом отсутствует электростатическое отталкивание, что способствует адсорбции [24]. Кроме этого, данные сорбаты обладают большим сродством к гидрофобному слою сорбента (SiO₂) [25].

Изучение сорбции в статических условиях. В оптимальных условиях сорбции (t=3-5 мин, pH=3, доза сорбента = 2 г/дм³) получены изотермы сорбции и проведена



Таблица 1. Предельная сорбция (Q_{\max}), степень извлечения (R) и параметры изотерм сорбции дихлорфеноксиуксусных кислот и их метаболитов сорбентом Fe_3O_4/C .

Table 1. Maximum adsorption (Q_{\max}), degree of extraction (R) and parameters of sorption isotherms of dichlorophenoxyacetic acids and their metabolites by Fe_3O_4/C adsorbent.

Сорбат	Q_{\max} , мг/г	R , %	Параметры, рассчитанные по уравнениям				
			Ленгмюра		Фрейндлиха		
			K_L	r^2	n	K_F	r^2
2,4-D	318.1	87.5	0.0298	0.993	0.6153	21.509	0.983
2,4-DP	352.2	89.9	0.0346	0.989	0.6162	11.216	0.925
2,4-DM	382.5	90.5	0.0443	0.989	0.6351	36.415	0.933
2,4-DCP	512.2	99.9	0.0247	0.987	0.5721	32.525	0.957
4-CP	482.5	98.3	0.0247	0.987	0.5729	33.602	0.952

Таблица 2. Сравнение сорбции хлорфеноксиуксусных кислот и их метаболитов сорбентом Fe_3O_4/C с мировыми аналогами.

Table 2. Comparison of sorption of chlorophenoxyacetic acids and their metabolites by Fe_3O_4/C adsorbent with world analogues.

Сорбат	Сорбент	Условия сорбции			Q_{\max} , мг/г	Ли- тера- тура
		t , мин	pH	ДЗ, г/дм ³		
2,4-D 2,4-DCP 4-CP	Fe_3O_4/C	3-5	3	2	318.1 512.2 482.5	Дан- ная ра- бота
2,4-D	УС, полученный из водорослей, мо- дифицированный Fe_2O_3	60	3	2	60.6	[14]
2,4-DCP	$Fe_3O_4@AC$	60	6	1	188.7	[15]
4-CP	УС, полученный из шелухи граната, модифицированный солями железа	60	6	1	446.9	[16]
2,4-D	Упорядоченный мезопористый угле- род, функционализированный Fe_3O_4	5	3	1	300.4	[18]
4-CP	Высокоэффективный композит ($SiO_2 - ClPrNTf_2$)	60	1	1	625.3	[25]
2,4-D	Технический углерод, модифициро- ванный аминопропилтриэтоксисила- ном	120	3	2	75.1	[28]
2,4-D	УС, полученный из лигноцеллюлоз- ных материалов	120	3	0.5	592.3	[29]
2,4-D	Коммерческий гранулированный УС (Nuchar WV-H, Westvaco, США)	7500	2	1	518.0	[30]

оценка сорбционной способности изучаемых сорбатов с применением моделей Ленгмюра (описывают многослойную адсорбцию на поверхности) и Фрейндлиха (описывает сорбцию на гетерогенных поверхностях) [26, 27]. Расчетные параметры для каждой из моделей и соответствующие им коэффициенты аппроксимации представлены в табл. 1. Наибольшие коэффициенты корреляции

($r^2=0.987-0.993$) установлены при представлении изотерм сорбции в координатах уравнения Ленгмюра, они применимы для расчета предельной сорбции (Q_{\max}). Предельная сорбция изученных сорбатов варьируется в интервале от 318.1-512.2 мг/г и превосходит Q_{\max} при применении большинства углеродных сорбентов и композитных сорбентов (табл. 2). Несмотря на большее значение

Q_{max} при сорбции сорбентами [25, 29, 30], время достижения равновесия на них более чем в 10 раз выше по сравнению с предложенным в данной работе сорбентом.

Заключение

Предложен способ синтеза магнитного угля ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$) из отхода растительного происхождения – РШ. Синтез включает сжигание при 600°C , измельчение на планетарной мельнице и перемешивание полученного угля в растворе с FeCl_3 и FeSO_4 в щелочной среде при температуре 70°C . Полученный $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ показал высокую

эффективность по отношению к хлорфеноксиуксусным кислотам и хлорфенолам. Степени извлечения составили 87.5-99.9%, величины предельной сорбции 318.1-512.2 мг/г. Наилучшие условия для извлечения создаются при pH 3, массе сорбента 20 мг и продолжительности сорбции 5 мин.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Medeiros D.C.C. da S. Chelme-Ayala P., Benally C., Al-Anzi B.S., Gamal El-Din M. Review on carbon-based adsorbents from organic feedstocks for removal of organic contaminants from oil and gas industry process water: Production, adsorption performance and research gaps. *J. Environ. Manage.* 2022; 320: 115739. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115739>
2. Park H.I., Kang J., Park J.-H., Park J. C., Park J., Lee K.B., Lee C.H. One-pot synthesis of novel porous carbon adsorbents derived from poly vinyl chloride for high methane adsorption uptake. *Chem. Eng. J.* 2022; 440: 135867. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135867>
3. Li Y., Zhang T., Wang Y., Wang B. Transformation of waste cornstalk into versatile porous carbon adsorbent for selective CO_2 capture and efficient methanol adsorption. *J. Environ. Chem. Eng.* 2021; 9(5): 106149. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106149>
4. Greish A.A., Sokolovskiy P.V., Finashina E.D., Kustov L.M., Vezentsev A.I., Chien Nguyen D., Chau Nguyen H. Efficient carbon adsorbent for hydrogen sulfide produced from sugar cane bagasse. *Mendeleev Commun.* 2022; 32(6): 828-830. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2022.11.040>
5. Moon S., Ryu J., Hwang J., Lee C.-G. Efficient removal of dyes from aqueous solutions using short-length bimodal mesoporous carbon adsorbents. *Chemosphere.* 2023; 313: Article 137448. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137448>

6. Neolaka Y.A.B., Riwo A.A.P., Aigbe U.O., Ukhurebor K.E., Onyancha R.B., Darmokoeseoemo H., Kusuma, H.S. Potential of activated carbon from various sources as a low-cost adsorbent to remove heavy metals and synthetic dyes. *Results in Chemistry.* 2023; 5: 100711. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100711>
7. Prabhat K.R. Novel adsorbents in remediation of hazardous environmental pollutants: Progress, selectivity, and sustainability prospects. *Cleaner Materials.* 2022; 3: 100054. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2022.100054>
8. Ahmed M.J., Hameed B.H. Insight into the co-pyrolysis of different blended feedstocks to biochar for the adsorption of organic and inorganic pollutants: A review. *J. Clean. Prod.* 2020; 265: 121762. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121762>
9. Kushnir A.A., Sypko K.S., Gubin A.S., Sizo K.O., Sukhanov P.T. Application of rice pad (*Oryza sativa*) as a sorption material to remove pollutants from aquatic environment. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya.* 2022; 3: 5-26. <https://doi.org/10.14258/jcprpm.20220310943> (in Russ.)
10. Menya E., Olupot P.W., Storz H., Lubwama M., Kiros Y. Production and performance of activated carbon from rice husks for removal of natural organic matter from water: a review. *Chem. Eng. Res. Des.* 2018; 129: 271-296. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2017.11.008>
11. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Proskuryakova E.D. Recovery and preconcentration of phenols from aqueous solutions with a magnetic sorbent based on Fe_3O_4 nanoparticles and hyper-cross-linked polystyrene.



- Russ. J. Appl. Chem. 2018; 91(10): 1626-1634. <https://doi.org/10.1134/S1070427218100099>
12. Dmitrienko S.G., Tikhomirova T.I., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Kochuk E.V., Zolotov Yu.A. Application of hypercrosslinked polystyrenes to the preconcentration and separation of organic compounds and ions of elements. *J. Anal. Chem.* 2018; 73(11): 1053-1063. <https://doi.org/10.1134/S1061934818110047>
13. Moosavi S., Lai C.W., Gan S., Zamiri G., Akbarzadeh Pivezhzani O., Johan M.R. Application of efficient magnetic particles and activated carbon for dye removal from wastewater. *ACS Omega.* 2020; 5(33): 20684-20697. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01905>
14. Vinayagam R., Ganga S., Murugesan G., Rangasamy G., Bhole R., Goveas L.C., Varadavenkatesan T., Dave N., Samanth A., Radhika Devi V., Selvaraj R. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) adsorptive removal by algal magnetic activated carbon nanocomposite. *Chemosphere.* 2023; 310: 136883. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136883>
15. Badu Latip N.M., Gopal K., Suwaibatu M., Hashim N.M., Rahim N.Y., Raoov M., Yahaya N., Mohamad Zain N.N. Removal of 2,4-dichlorophenol from wastewater by an efficient adsorbent of magnetic activated carbon. *Sep. Sci. Technol.* 2020; 56(2): 252-265. <https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1719156>
16. Hadi S., Taheri E., Amin M.M., Fatehizadeh A., Aminabhavi T.M. Adsorption of 4-chlorophenol by magnetized activated carbon from pomegranate husk using dual stage chemical activation. *Chemosphere.* 2021; 270: 128623. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128623>
17. Costa L.G., Aschner M., 2014. Toxicology of Pesticides. Reference Module in Biomedical Sciences. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.00208-7>
18. Tang L., Zhang S., Zeng G.-M., Zhang Y., Yang G.-D., Chen J., Wang J.-J., Wang J.-J., Zhou Y.-Y., Deng Y.-C. Rapid adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by iron oxide nanoparticles-doped carboxylic ordered mesoporous carbon. *J. Colloid Interface Sci.* 2015; 445: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.12.074>
19. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev K.S., Potapov M.A., Kovaleva E.N. Ionic-liquid-modified magnetite nanoparticles for MSPE-GC-MS determination of 2,4-D butyl ester and its metabolites in water, soil, and bottom sediments. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.* 2022; 17: 100652. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100652>
20. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Sannikova N.Y., Konopleva V.O., Nikulina A.V. Determination of phenols in natural and waste waters by capillary electrophoresis after preconcentration on magnetic nanoparticles coated with aminated hypercrosslinked polystyrene. *J. Sep. Sci.* 2021; 44(9): 1978-1988. <https://doi.org/10.1002/jssc.202001177>
21. Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Adsorption of nitrophenols from aqueous media by n-vinylpyrrolidone-based polymeric adsorbents. *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2019; 74(2): 88-92. <https://doi.org/10.3103/s0027131419020081>
22. Xu P., Wang H., Tong R., Du Q., Zhong W. Preparation and morphology of SiO₂/PMMA nanohybrids by microemulsion polymerization. *Colloid Polym. Sci.* 2006; 284(7): 755-762. <https://doi.org/10.1007/s00396-005-1428-9>
23. Wee S.-B., Oh H.-C., Kim T.-G., An G.-S., Choi S.-C. Role of N-methyl-2-pyrrolidone for preparation of Fe₃O₄@SiO₂ controlled the shell thickness. *J. Nanopart. Res.* 2017; 19(4): 143. <https://doi.org/10.1007/s11051-017-3813-y>
24. Ma J.-W., Wang H., Wang F.-Y., Huang Z.-H. Adsorption of 2,4-dichlorophenol from aqueous solution by a new low-cost adsorbent – activated bamboo charcoal. *Sep. Sci. Technol.* 2010; 45(16): 2329-2336. <https://doi.org/10.1080/01496395.2010.504482>
25. Marwani H.M., Bakhsh E.M. Selective adsorption of 4-chlorophenol based on silica-ionic liquid composite developed by sol-gel process. *Chem. Eng. J.* 2017; 326: 794-802. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.030>
26. Gubin A.S., Kushnir A.A., Sukhanov P.T. Sorption concentration of phenols from aqueous media by magnetic molecularly imprinted polymers based on N-vinylpyrrolidone (part 2). *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2022; 22(3): 274-283. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9334> (In Russ.)
27. Sviridova E.S., Voronyuk I.V., Eliseeva T.V., Selemenev V.F., Mukhin V.M. Comparison of the sorption of 4-hydroxybenzaldehyde by activated carbon of different grades under static conditions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie*



protsessy. 2022; 22(1): 50-57. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9020> (In Russ.)

28. Legocka I.; Kuśmierk K.; Swiatkowski A.; Wierzbicka E. Adsorption of 2,4-D and MCPA herbicides on carbon black modified with hydrogen peroxide and aminopropyltriethoxysilane. *Materials*. 2022; 15: Article 8433. <https://doi.org/10.3390/ma15238433>.

29. Doczekalska B., Kuśmierk K., Świątkowski A., Bartkowiak M. Adsorption of

2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid onto activated carbons derived from various lignocellulosic materials. *J. Environ. Sci. Health B*. 2018; 53(5): 290-297. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1421840>

30. Aksu Z., Kabasakal E. Batch adsorption of 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid (2,4-D) from aqueous solution by granular activated carbon. *Sep. Purif. Technol.* 2004; 35(3): 223-240. [https://doi.org/10.1016/s1383-5866\(03\)00144-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5866(03)00144-8)

Информация об авторах / Information about the authors

К.С. Сыпко – старший преподаватель кафедры химической технологии, машин и аппаратов химических производств, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия; аспирант факультета экологии и химической технологии ВГУИТ, Воронеж, Россия

А.С. Губин – к.х.н., доцент кафедры технологии органических соединений, переработки полимеров и техносферной безопасности, ВГУИТ, Воронеж, Россия

А.А. Кушнир – к.х.н., доцент кафедры технологии органических соединений, переработки полимеров и техносферной безопасности, ВГУИТ, Воронеж, Россия

П.Т. Суханов – д.х.н., профессор кафедры физической и аналитической химии, ВГУИТ, Воронеж, Россия

K.S. Sytko – Senior Lecturer of the Department of Chemical Technologies, Machines and Apparatus for Chemical Production, Federal State Autonomous Educational Institution for Higher Education "North-Caucasus Federal University"; PhD student, Department of Ecology and Chemical Technologies, VSUIT, Voronezh, Russian Federation, e-mail: kssypko@mail.ru

A.S. Gubin – Ph.D., Associate Professor, Department of Compound Technology, Polymer Converters and Technosphere Safety, VSUIT, Voronezh, Russian Federation, e-mail: goubinne@mail.ru

A.A. Kushnir – Ph.D., Associate Professor, Department of Compound Technology, Polymer Converters and Technosphere Safety, VSUIT, Voronezh, Russian Federation, e-mail: kushnir_aleksei@mail.ru

P.T. Sukhanov – professor, doctor of science (chemistry), Department of Physical and Analytical Chemistry, VSUIT, Voronezh, Russian Federation, e-mail: pavel.suhanov@mail.ru

Статья поступила в редакцию 21.02.2023; одобрена после рецензирования 27.03.2023; принята к публикации 5.04.2023.

The article was submitted 21.02.2023; approved after reviewing 27.03.2023; accepted for publication 5.04.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11320

Оценка параметров липофильности производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина методом ВЭЖХ с обращенной фазой

Татьяна Ивановна Куликова[✉],

Ольга Владимировна Кузнецова, Максим Вячеславович Арсеньев

Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия,

kulik@iomc.ras.ru[✉]

Аннотация. Липофильность является одним из важных параметров, оказывающих влияние на биологическую активность соединений. На практике этот параметр оценивают с помощью коэффициента распределения ($\log P$) соединения между неполярной фазой (n-октанол) и водой. Основным методом экспериментального определения $\log P$ является метод встряхивания колбы. Однако, в случае плохой растворимости исследуемых соединений в воде определение $\log P$ прямым методом затруднено, что связано со сложностью точного определения слишком низких концентраций. В этом случае для оценки $\log P$ успешно применяют непрямые методы, в том числе жидкостную хроматографию. С помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в работе определена липофильность 12 новых производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина. В качестве подвижной фазы была использована смесь метанол-вода, а в качестве адсорбента Separon Si C18. Известно, что производные пирокатехина обладают широким набором биологической активности, в последние годы, в частности, большое количество исследований посвящено изучению их антиоксидантных свойств. Для каждого производного 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина (1-12) установлена линейная зависимость между фактором удерживания lgk и объемной долей органического модификатора φ в подвижной фазе. Экстраполяцией удерживания к $\varphi = 0$ с помощью линейных зависимостей оценены значения lgk_0 и рассчитаны параметры $\log P$. Обнаружено, что большинство изученных производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатехинов имеют коэффициент распределения октанол/вода $\log P$ в интервале от 6 до 8. Для соединений 1, 3 и 4 значения $\log P$ оказались близкими к 4, что позволяет их рассматривать в качестве перспективных для дальнейшего изучения антиоксидантной активности. Дополнительно была проведена оценка параметров липофильности $\log P$ производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина (1-12) с помощью расчетных методов Kowwin и Molinspiration. Сопоставление экспериментальных и расчетных величин $\log P$ показало хорошую сходимость результатов, при этом для большинства соединений наиболее близкие экспериментальные и расчетные значения показал метод Molinspiration (отклонение не превысило 10%).

Ключевые слова: липофильность, высокоэффективная жидкостная хроматография, обращенная фаза, стерически-затрудненные производные пирокатехина, параметры удерживания.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования России в рамках государственного задания, а также с использованием оборудования центра коллективного пользования «Аналитический центр ИМХ РАН» при поддержке гранта «Обеспечение развития материально-технической инфраструктуры центров коллективного пользования научным оборудованием» (Уникальный идентификатор RF---2296.61321X0017, Номер Соглашения 075-15-2021-670)

Для цитирования: Куликова Т.И., Кузнецова О.В., Арсеньев М.В. Оценка параметров липофильности производных 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина методом ВЭЖХ с обращенной фазой // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 405-412. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11320>



Original article

Estimation of lipophilicity parameters of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol by reverse phase HPLC

Tatyana I. Kulikova[✉], Olga V. Kuznetsova, Maxim V. Arseniev

G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russian Federation, kulik@iomc.ras.ru[✉]

Abstract. Lipophilicity is one of the important parameters influencing the biological activity of compounds. In practice, this parameter is estimated using the distribution coefficient ($\log P$) of the compound between the non-polar phase (*n*-octanol) and water. The main method of experimental determination of $\log P$ is the shaking flask method. However, in the case of the poor solubility of the studied compounds in water, the determination of $\log P$ using direct method is complicated, due to the difficulty of accurate determination of too low concentrations. In this case, indirect methods, including liquid chromatography, are successfully used for the estimation of $\log P$. The lipophilicity of 12 new derivatives of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol was determined using reverse-phase high-performance liquid chromatography. A methanol-water mixture was used as the mobile phase, and Separon Si C18 was used as the adsorbent. It is known that pyrocatechol derivatives have a wide range of biological activity; recently a large number of studies have been devoted to the investigation of their antioxidant properties. For each derivative of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol (1-12) a linear relationship between the retention factor $\lg k$ and volume fraction of organic modifier φ in the mobile phase was established. By extrapolation of the retention to $\varphi=0$ using linear dependences, the $\lg k_0$ values were estimated and $\log P$ parameters were calculated. It was found that most of the studied derivatives of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechols have an octanol/water distribution coefficient $\log P$ in the range from 6 to 8. For compounds 1, 3, and 4 $\log P$ values turned out to be close to 4, which allows them to be considered as being promising for further study of antioxidant activity. Additionally, lipophilicity parameters $\log P$ of derivatives of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol (1-12) were evaluated using the Kowwin and Molinspiration calculation methods. Comparison of experimental and calculated $\log P$ values showed good convergence of the results, while for most compounds the closest experimental and calculated values were shown by the Molinspiration method (the deviation did not exceed 10%).

Keywords: lipophilicity, high performance liquid chromatography, reversed phase, sterically hindered pyrocatechol derivatives, retention parameters.

Acknowledgments: the work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state order, studies were carried out using equipment of Shared Knowledge Centre "Analytical Centre of the G. A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry, Russian Academy of Sciences" with the support of the grant "Provision of the development of the facilities of centres for the collective use of scientific equipment" (Unique identifier RF ----2296.61321X0017, Agreement Number 075-15-2021-670)

For citation: Kulikova T.I., Kuznetsova O.V., Arseniev M.V. Estimation of lipophilicity parameters of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol by reverse phase HPLC. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 405-412. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11320>

Введение

Одним из ключевых дескрипторов с четкой физико-химической интерпретацией, который активно используется для построения корреляционных соотношений «структура – свойство», является липофильность. Липофильность описывает распределение молекул растворенного

вещества между водой и несмешивающимся органическим растворителем (в подавляющем большинстве случаев рассматривается *n*-октанол). Количественно липофильность выражается в виде десятичного логарифма коэффициента распределения ($\log P$) [1]. Экспериментальные методы определения липофильности делятся на прямые и косвенные [2-4]. В прямых экспериментальных



методах коэффициент распределения получают непосредственно из отношения равновесных концентраций соединения, распределенного между водной и органической фазами. Однако, эти методы имеют ряд недостатков, например, ограниченный диапазон применения, неустойчивость растворенных веществ, наличие межмолекулярной ассоциации [2]. Для устранения этих недостатков были разработаны не прямые экспериментальные методы оценки $\log P$ с использованием корреляций, как правило, между коэффициентом удерживания соединения и его коэффициентом распределения. В качестве непрямого метода экспериментального определения липофильности активно привлекается высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ) благодаря своей универсальности [2, 4-6]. Как правило, режим хроматографии с обращенной фазой используется для имитации октанола. Из широкого диапазона доступных стационарных фаз для оценки липофильности рекомендуется силикагель с привитыми C18-группами.

Известно [7-9], что пирокатехины демонстрируют высокую биологическую активность, проявляют антимикробные и антибактериальные свойства, выступают в качестве противоопухолевых и противовоспалительных агентов. Кроме того, производные 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина представляют собой интересные объекты для изучения с точки зрения гидрофобных, электронных и стерических свойств, а также водородных связей. Поскольку исследуемые в работе соединения имеют плохую растворимость в воде, определение $\log P$ прямым методом затруднено. В связи с этим целью настоящей работы являлось определение параметра липофильности производных 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии; а также установление основных закономерностей

влияния структуры на липофильность исследуемых соединений.

Экспериментальная часть

Синтез соединений 1, 4-9, 11 и 12 (таблица 1) проводили по методике, описанной в работе [10], синтез соединений 2, 3 и 10 описан в работах [11-13], соответственно. Достоверность химического строения 1-12 подтверждена ^1H и ^{13}C ЯМР спектрами. Исследования проводили на жидкостном хроматографе Knauer (Германия) со спектрофотометрическим детектором при длине волны (λ) 254 nm. Стальная разделительная колонка размером 100x6 мм была заполнена сорбентом *Separon Si C18* («Tessek», Чехия), размер частиц 10 μm . В качестве элюента использовались смеси метанол – вода в соотношениях 80:20, 85:15, 90:10 (об.%). Расход элюента составлял 1.5 см³/мин. Для определения мертвого объема хроматографической системы применяли нитрит натрия. Все измерения проводили при комнатной температуре. В качестве стандартов использовали коммерчески доступные реагенты: бензол, дифенилкетон, дифениламин, нафталин, дифенил, дибензил, дифенилацетилен, флуорен, антрацен, 1,4-ди-*трет*-бутилбензол, *n*-гексилбензол, диэтилбензол, гексаметилбензол [14]. Все использованные соединения имели квалификацию ч.д.а. или х.ч.

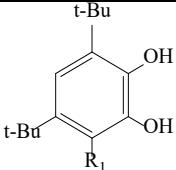
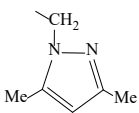
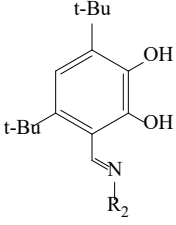
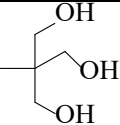
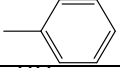
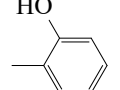
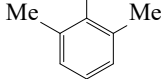
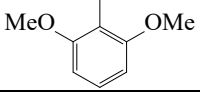
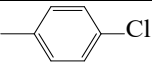
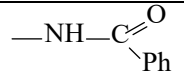
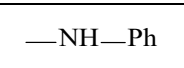
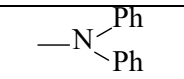
Факторы удерживания сорбатов рассчитывали по формуле (1):

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}, \quad (1)$$

где t_R – время удерживания анализируемого вещества; t_M – мертвое время удерживания (время удерживания несорбирующегося вещества).

Хроматограммы обрабатывали с помощью программы МультиХром (версия 1.5). Статистический анализ и расчет параметров $\log P$ для соединений 1-12 выполнены с помощью стандартного пакета программ «Statgraphics Plus». Расчеты

Таблица 1. Структуры производных 3,5-ди-*tert*-бутилпирокатехина 1-12
 Table 1. Structures of 3,5-di-*tert*-butylpyrocatechol derivatives 1-12

Структура	№	R	Название
	1	H	3,5-ди- <i>tert</i> -бутилфенил-1,2-диол
	2		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-((3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метил)фенил-1,2-диол
	3	CH ₃	4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-((метилимино)метил)фенил-1,2-диол
	4		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-(((1,3-дигидрокси-2-(гидроксиметил)пропан-2-ил)имино)метил)фенил-1,2-диол
	5		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-((фенилимино)метил)фенил-1,2-диол
	6		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-(((2-гидроксифенил)имино)метил)фенил-1,2-диол
	7		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-(((2,6-диметилфенил)имино)метил)фенил-1,2-диол
	8		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-(((2,6-диметоксифенил)имино)метил)фенил-1,2-диол
	9		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-(((4-хлорфенил)имино)метил)фенил-1,2-диол
	10		N'-(4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-2,3-дигидроксибензилиден)бензогидразид
	11		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-((2-фенилгидразоно)метил)фенил-1,2-диол
	12		4,6-ди- <i>tert</i> -бутил-3-((2,2-дифенилгидразоно)метил)фенил-1,2-диол

выполнены методом наименьших квадратов на доверительном уровне 95%. Значения $\log P$ используемых в работе стандартных веществ взяты из литературы [15]. Для прогнозирования коэффициентов разделения октанола/воды ($\log P$) были использованы для метода: метод KOWWIN [16] и Molinspiration [17].

Обсуждение результатов

В ограниченном диапазоне составов двухкомпонентной подвижной фазы обращенно-фазового варианта ВЭЖХ с хорошим приближением выполняется линейная зависимость (2), которая связывает десятичный логарифм коэффици-

ента удерживания $\lg k$ сорбата с объемной долей φ органического модификатора в подвижной фазе:

$$\lg k = \lg k_0 - S\varphi, \quad (2)$$

где S – константа, специфичная для органического модификатора на рассматриваемой стационарной фазе; k_0 – коэффициент удерживания, экстраполированный к чистому водному элюенту и отражающий характер распределения аналита при измерениях прямым методом «встряхиваемой колбы». Уравнение (2) является наиболее распространенным подходом к определению $\lg k_0$ путем оценки значений $\lg k$ с использованием различных процентных долей органического растворителя в подвижной фазе с последующей



Таблица 2. Коэффициенты распределения *n*-октанол/вода $\log P$ и экспериментальные значения фактора удерживания $\lg k_0$ стандартных веществ

Table 2. The *n*-octanol/water partition coefficient $\log P$ and experimental retention factor $\lg k_0$ for standard compounds

Соединение	$\lg k_0$	$\log P^a$	r^2
бензол	1.74	2.48	0.9944
дифениламин	2.73	3.40	0.9984
дифенилкетон	2.38	3.18	0.9991
нафталин	2.77	3.37	0.9987
дифенил	3.39	3.98	0.9979
дифенилацетилен	4.01	4.58	0.9985
дибензил	4.21	4.79	0.9975
ди-этилбензол	3.96	4.58	0.9984
флуорен	3.59	4.18	0.9983
антрацен	3.87	4.45	0.9982
<i>n</i> -гексилбензол	5.18	5.67	0.9995
гексаметилбензол	4.47	5.11	0.9985
1,4-ди- <i>трет</i> -бутилбензол	5.57	5.81	0.9984

Примечание. ^a Данные взяты из литературы [15].

экстраполяцией к 100%-ому водному элюенту [2].

Для выбранных стандартных веществ и серии исследуемых в работе пирокатехинов 1-12 при трех концентрациях метанола в воде (φ) экспериментально определены значения $\lg k$ и построены линейные зависимости для оценки значений $\lg k_0$ (при $\varphi=0$) для каждого соединения. Полученные результаты представлены в таблицах 2 и 3. Уравнение (2) хорошо описывает удерживание во всем исследованном диапазоне объемных долей для обеих серий, квадраты коэффициентов корреляции линейных регрессий $r^2 \geq 0.996$ (табл. 2-3).

На большом количестве примеров показано [18], что с хорошим приближением в изократическом режиме параметр $\log P$ линейно связан с $\lg k_0$:

$$\log P = a \lg k_0 + b, \quad (3)$$

где a и b – коэффициенты линейной регрессии. Выполнение линейной зависимости (3) также подтверждается для серии стандартных веществ с известными параметрами $\log P$ (табл. 2):

$$\begin{aligned} \log P &= 0.90 \lg k_0 + 0.96 \quad (4) \\ S_a &= 0.02; S_b = 0.08; \\ S_Y &= 0.080; r^2 = 0.994; n = 13, \end{aligned}$$

где S_a , S_b – стандартные отклонения коэффициентов a и b ; S_Y – стандартная ошибка аппроксимации; r – коэффициент корреляции; n – объем выборки.

Линейная регрессия (4) использована для вычисления неизвестных ранее значений $\log P$ соединений 1-12 (табл. 3). Из табл. 3, следует, что в соответствии с наличием гидрофобных групп большинство изученных соединений, проанализированных на колонке C18, продемонстрировали ожидаемое удерживание и значительную гидрофобность (экспериментальные значения $\log P > 5$), и только три соединения (1, 3 и 4) имеют значения $\log P$ близкие к 4. Для соединений с объемными арильными группами в структуре фрагмента R (табл. 3) характерно сильное неспецифическое взаимодействие с неполярной неподвижной фазой, большие времена удерживания и коэффициент распределения октанол/вода в диапазоне 6÷8. Наибольшую липофильность продемонстрировало соединение 12 ($\log P = 8.27$). Соединение 4 имеет наименьшее значение $\log P$ в исследуемой серии пирокатехинов, что может быть объяснено наличием в молекуле трех гидроксильных групп, образующих

Таблица 3. Факторы удерживания $lg k_0$ и коэффициенты распределения н-октанол/вода $log P$ производных 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина 1-12

Table 3. The factor retention $lg k_0$ and n-octanol/water partition coefficient $log P$ for 3,5-di-*tret*-butylpyrocatechol derivatives 1-12

№ п/п	r^2	$lg k_0$	$log P_{эксн}$	$log P_{выч}$ Kowwin	$log P_{выч}$ Molinspiration
1	0.9994	3.93	4.50	4.85	4.54
2	0.9956	5.63	6.03	6.27	5.18
3	0.9984	4.00	4.56	4.56	5.36
4	0.9998	3.88	4.45	2.93	3.52
5	0.9994	6.65	6.95	6.06	7.06
6	1.0000	6.27	6.61	5.58	6.79
7	0.9967	7.77	7.96	7.15	7.86
8	0.9999	6.67	6.97	6.22	7.08
9	0.9973	7.43	7.65	6.70	7.74
10	0.9992	5.65	6.05	6.36	6.69
11	0.9980	6.03	6.39	7.06	8.30
12	0.9970	8.12	8.27	9.27	8.56

сильные водородные связи с полярной подвижной фазой.

Для прогнозирования параметра липофильности $log P$ производных 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина дополнительно в работе были привлечены компьютерные методы. Рассчитанные значения $log P_{выч}$ для соединений 1-12 приведены в табл. 3. Как следует из данных таблицы наилучшую сходимость экспериментальных и расчетных значений параметров $log P$ показал метод Molinspiration [17], отклонение расчета от эксперимента для подавляющего числа соединений не превышает 10%. При этом метод Molinspiration дает, как правило, завышенные значения $log P$ относительно значений, полученных с помощью метода ВЭЖХ. В случае метода KOWWIN [16] наблюдается удовлетворительная сходимость экспериментальных и расчетных значений, отклонение составляет 10-13%, наибольшее отклонение наблюдается для соединений 6 (16%) и 4 (34%), что связано, вероятно, с учетом сильных межмолекулярных взаимодействий гидроксильных групп в структурном фрагменте

R , имеющих место при взаимодействии с подвижной фазой в ОФ ВЭЖХ (табл. 3).

Заключение

Таким образом, впервые проведена оценка липофильности 12 производных 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина и определены коэффициенты распределения октанол/вода с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлено, что изученные соединения имеют высокие значения параметра $log P$. Традиционный метод определения коэффициента распределения октанол/вода (метод «встряхивания колбы») в данном случае является неподходящим методом из-за крайне плохой растворимости исследуемых соединений в воде. Непрямой метод, такой как ОФ ВЭЖХ, позволяет экспериментально оценить липофильность производных 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехина, имеющих значения $log P$ больше 5. Экспериментальные данные сопоставлены с расчетными коэффициентами распределения октанол-вода, которые были определены с помощью прогнозных методов с учетом химической структуры.



Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые

Список литературы/References

1. Arnott J.A.; Planey S.L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design, *Expert Opin. Drug Discov.*, 2012; 7(10): 863-875. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.714363>

2. Soares J.X., Santos A., Fernandes C., Pinto M.M.M. Liquid chromatography on the different methods for the determination of lipophilicity: an essential analytical tool in medicinal chemistry, *Chemosensors*, 2022; 10(8): 340-380. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10080340>

3. Sangster, J.M. Octanol-water partition coefficients: fundamentals and physical chemistry. Wiley series in solution chemistry. Chichester, Wiley, 1997, vol 2, p 170.

4. Camurri G., Zaramella A. High-throughput liquid chromatography/mass spectrometry method for the determination of the chromatographic hydrophobicity index, *Anal. Chem.*, 2001; 73(15): 3716-3722. <https://doi.org/10.1021/ac001388j>

5. Nikitin Yu.S., Petrova R.S. Experimental methods in adsorption and molecular chromatography. Moscow, Moscow State University Publ., 2nd edition, 1990. 316 p. (In Russ.)

6. Xuan X., Xu L., Li L., Gao C., Li N. Determination of drug lipophilicity by phosphatidylcholine-modified microemulsion high-performance liquid chromatography. *Int. J. Pharm.*, 2015; 490(1-2): 258-264. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.019>

7. Dechy-Cabaret O., Martin-Vaca B., Bourissou D. Controlled ring-opening polymerization of lactide and glycolide, *Chem.Rev.*, 2004; 104(12): 6147-6176. <https://doi.org/10.1021/cr040002s>

8. Smolyaninov I.V., Burmistrova D.A., Arsenyev M.V., Polovinkina M.A., Pomortseva N.P., Fukin G.K., Poddel'sky A.I., Berberova N.T. Synthesis and antioxidant

могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

activity of new catechol thioethers with the methylene linker, *Molecules*, 2022; 27(10): 3169-3190. <https://doi.org/10.3390/molecules27103169>

9. Candido Júnior J.R., Romeiro L.A.S., Marinho E.S., Monteiro N.K.V., de Lima-Neto P. Antioxidant activity of eugenol and its acetyl and nitroderivatives: the role of quinone intermediates – a DFT approach of DPPH test, *J. Mol. Model.*, 2022; 28(5): 133-147. <https://doi.org/10.1007/s00894-022-05120-z>

10. Arsenyev M.V. New functionalized o-benzoquinones and poly-o-benzoquinones as precursors for polymer metal complexes and materials based on them. Diss. cand. chem. nauk. Nizhny Novgorod, 2014. Available at: <https://diss.unn.ru/files/2014/423/diss-Arsenev-423.pdf> (accessed 16 February 2023) (In Russ.)

11. Poddel'sky A.I., Arsenyev M.V., Astafeva T.V., Chesnokov S.A., Fukin G.K., Abakumov G.A. New sterically hindered 6th-substituted 3,5-di-tert-butylcatechols/o-quinones with additional functional groups and their triphenylantimony(V) catecholates, *J. Organomet. Chem.*, 2017; 835: 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.02.035>

12. Astafeva T., Arsenyev M., Rumyantsev R., Poddel'sky A., Fukin G., Cherkasov V. Imine-Based Catechols and o-Benzoquinones: Synthesis, Structure and Features of Redox Behaviour, *ACS Omega*, 2020; 5(35): 22179-22191. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02277>

13. Arsenyev M.V., Khamaletdinova N.M., Baranov E.V., Chesnokov S.A., Cherkasov V.K. Synthesis, structures, and properties of new sterically hindered hydrazine-based catecholaldimines, *Russ. Chem. Bull.*, 2016; 7: 1805-1813. <https://doi.org/10.1007/s11172-016-1514-9>



14. GOST 32474-2013. Testing of chemicals of environmental hazard. //Moscow: Standardinform, 2014. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293773/4293773041.pdf> (accessed 28 February 2023). (In Russ.)

15. Mackay D., Shiu W-Y, Ma K-C, Lee S.C. Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Available at: <https://rushim.ru/books/spravochniki/mackay1.pdf> (accessed 16 February 2023)

16. Meylan W.M., Howard P.H. Atom/fragment contribution method for es-

timating octanol-water partition coefficients, *J. Pharm Sci.*, 1995; 84(1): 83-92. <https://doi.org/10.1002/jps.2600840120>

17. Interactive logP calculator. Available at: <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties> (accessed 16 February 2023)

18. Braumann T. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: theory, experimental techniques, and application in studies on quantitative structure-activity relationships, *J. Chromatogr. A.*, 1986; 373: 191-225. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)80213-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)80213-7)

Информация об авторах / Information about the authors

Т.И. Куликова – к.х.н., научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований, Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

О.В. Кузнецова – д.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований, Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

М.В. Арсеньев – к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории фотополимеризации и полимерных материалов, Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

T.I. Kulikova – Ph.D (chemistry), researcher, Laboratory of physical and chemical research, G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russian Federation, e-mail: kulik@iomc.ras.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8397-0146>

O.V. Kuznetsova – Dr.Sci. (chemistry), Leading researcher Laboratory of physical and chemical research, G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russian Federation, e-mail: olga@iomc.ras.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6244-2440>

M.V. Arsenyev – Ph.D (chemistry), Senior Researcher, Laboratory of photopolymerization and polymer materials, G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russian Federation, e-mail: mars@iomc.ras.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5275-8241>

Статья поступила в редакцию 10.03.2023; одобрена после рецензирования 21.04.2023; принята к публикации 22.04.2023.

The article was submitted 10.03.2023; approved after reviewing 21.04.2023; accepted for publication 22.04.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ


Научная статья

УДК 544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11321

Влияние поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости на структурно-поверхностные свойства диоксида кремния, получаемого из нефелинсодержащего сырья

Дмитрий Владимирович Майоров 

Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской академии наук» (ИХТРЭМС КНЦ РАН), Апатиты, Россия, d.maierov@ksc.ru 

Аннотация. В настоящее время диоксид кремния (силикагель, аморфный кремнезем, SiO_2), обладающий развитой удельной поверхностью, широко используется в различных отраслях промышленности – при производстве бумаги, эластомеров и пр. в качестве наполнителя, как активный компонент в производстве стройматериалов, в оптико-волоконной технике, при производстве катализаторов в качестве их носителя, сорбентов и осушителей, в качестве компонента теплоизоляционных материалов и т.д. Также на его основе создаются специальные хроматографические колонки, позволяющие проводить анализ ранее недоступных для исследований объектов.

В сорбционных и каталитических процессах существенную роль играют структурно-поверхностные свойства используемых материалов – удельная поверхность ($S_{\text{уд.}}$), объем пор ($V_{\text{пор}}$) и др., которые, в свою очередь, зависят от способа получения этих материалов.

Традиционным способом получения таких материалов является золь-гель процесс, который заключается в смешении водных растворов исходных реагентов с образованием каркасообразующих веществ (частиц) в коллоидном состоянии с последующим образованием из них геля по реакции поликонденсации, который затем подвергается сушке. При этом существенное влияние на структурно-поверхностные свойства получаемых ксерогелей оказывает поверхностное натяжение находящейся внутри пор жидкости, которое вызывает деформацию и разрушение структуры (каркаса) ксерогеля, что, в свою очередь, приводит к снижению значений как $S_{\text{уд.}}$, так и $V_{\text{пор}}$.

Одним из методов предотвращения этого явления и получения материалов с развитыми структурно-поверхностными свойствами является сушка получаемых гелей при температуре равной или более критической, при которой поверхностное натяжение внутрипоровой жидкости отсутствует. Это позволяет исключить деформацию первоначальной структуры каркаса геля, образованной в процессе поликонденсации коллоидных частиц геля, в процессе сушки. Однако этот метод требует повышенных энергетических и материальных затрат, связанных с применением высоких температур и специального оборудования при его реализации, что обуславливает высокую стоимость получаемых материалов. В работе приведены результаты исследований влияния поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости на структурно-поверхностные свойства оксидов кремния (SiO_2), синтезированных с использованием метода кислотного разложения минерального сырья (нефелина). Полученные образцы исследованы методами химического анализа, РФА, БЭТ и ВЛН. Показано, что замещение водной среды в поровом пространстве на органическую перед сушкой синтезированного SiO_2 позволяет не только существенно (в ~2 раза) увеличить емкость адсорбционного монослоя продуктов, но и оказывает влияние на распределение объема пор по их диаметру. На основании полученных значений удельной емкости поверхности образцов SiO_2 и изменения энергии Гиббса (ΔG^0) в процессе сорбции сделан вывод о том, что способ их получения не оказывает существенного влияния на физико-химические свойства их поверхностей (тип и количество сорбционных центров на единицу поверхности) и механизм сорбции азота.

Ключевые слова: нефелин, аморфный кремнезем, структурно-поверхностные свойства, удельная поверхность, удельный объем пор, сорбция.



Для цитирования: Майоров Д.В. Влияние поверхностного натяжения внутрисоровой жидкости на структурно-поверхностные свойства диоксида кремния, получаемого из нефелинсодержащего сырья // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 413-425. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11321>

Original article

The influence of surface tension of interstitial fluid on the structural and surface properties of silicon dioxide obtained from nepheline-containing raw materials

Dmitriy V. Maiorov[✉]

Tananaev Institute of Chemistry – Subdivision of the Federal Research Centre “Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences”, Apatity, Russian Federation, d.maiorov@ksc.ru[✉]

Abstract. Silicon dioxide (silica gel, amorphous silica, SiO₂), which has a developed specific surface, is widely used in various industries - in the production of paper, elastomers, as a filler, as an active component in the production of building materials, in fibre optic technology, in the production of catalysts as their carrier, sorbents and desiccants, as a component of thermal insulation materials, etc. Also, it is used as a basis for special chromatographic columns, which make it possible to analyse objects that were previously inaccessible for research.

In sorption and catalytic processes, an important role belongs to the structural and surface properties of the materials used – the specific surface area (S_{sp}), pore volume (V_{pore}), etc., which, in turn, depend on the method of obtaining these materials.

The traditional method for obtaining such materials is the sol-gel process, which consists in mixing aqueous solutions of the initial reagents with the formation of framework-forming substances (particles) in a colloidal state, followed by the formation of a gel from them by the polycondensation reaction, which is then subjected to drying. At the same time, the surface tension of the liquid inside the pores possess a significant effect on the structural and surface properties of the resulting xerogels, which causes deformation and destruction of the structure (framework) of the xerogel, which, in turn, leads to a decrease in the values of both S_{sp} and V_{pore} .

One of the methods for preventing this phenomenon and obtaining materials with developed structural and surface properties is drying the obtained gels at a temperature equal to or higher than the critical one, at which there is no surface tension of the interstitial fluid. This allows eliminating the deformation of the initial structure of the gel framework, formed during the polycondensation of colloidal gel particles, during the drying process. However, this method requires increased energy and material costs associated with the use of high temperatures and special equipment for its implementation, which leads to a high cost of the obtained materials. The study presents the results of investigation of the effect of interstitial fluid surface tension on the structural and surface properties of silicon oxides (SiO₂) synthesized using the method of acid decomposition of mineral raw materials (nepheline). The obtained samples were studied by chemical analysis, X-ray diffraction, BET and BJH. It was shown that the replacement of the aqueous medium in the pore space with an organic one before drying the synthesized SiO₂ allows not only significantly (by ~2 times) to increase the capacity of the adsorption monolayer of products, but also affects the distribution of pore volume over their diameter. Based on the obtained values of the specific capacitance of the surface of SiO₂ samples and changes in the Gibbs energy (ΔG°) in the sorption process, it was concluded that the method of obtaining samples did not provide significant effect on the physicochemical properties of their surfaces (type and number of sorption centres per unit surface) and mechanism of nitrogen sorption.

Keywords: nepheline, amorphous silica, structural-surface properties, specific surface area, specific pore volume, sorption.

For citation: Maiorov D.V. The influence of surface tension of interstitial fluid on the structural and surface properties of silicon dioxide obtained from nepheline-containing raw materials. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 413-425. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11321>

Введение

В настоящее время диоксид кремния (силикагель, аморфный кремнезем, SiO₂),

обладающий развитой удельной поверхностью, широко используется в различных отраслях промышленности – при производстве бумаги, эластомеров и пр. в



качестве наполнителя, как активный компонент в производстве стройматериалов, в оптоволоконной технике, при производстве катализаторов в качестве их носителя, сорбентов и осушителей, в качестве компонента теплоизоляционных материалов и т.д. [1-10]. Также на его основе создаются специальные хроматографические колонки, позволяющие проводить анализ ранее недоступных для исследований объектов [11].

В сорбционных и каталитических процессах существенную роль играют структурно-поверхностные свойства используемых материалов – удельная поверхность ($S_{уд.}$), объем пор ($V_{пор}$) и др. [12, 13], которые, в свою очередь, зависят от способа получения этих материалов.

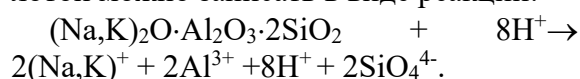
Традиционным способом получения таких материалов является золь-гель процесс, который заключается в смешении водных растворов исходных реагентов с образованием каркасообразующих веществ (частиц) в коллоидном состоянии с последующим образованием из них геля по реакции поликонденсации, который затем подвергается сушке. При этом существенное влияние на структурно-поверхностные свойства получаемых ксерогелей оказывает поверхностное натяжение находящейся внутри пор жидкости [13], которое вызывает деформацию и разрушение структуры (каркаса) ксерогеля, что, в свою очередь, приводит к снижению значений как $S_{уд.}$, так и $V_{пор}$ [14].

Одним из методов предотвращения этого явления и получения материалов с развитыми структурно-поверхностными свойствами является сушка получаемых гелей при температуре равной или более критической, при которой поверхностное натяжение внутрипоровой жидкости отсутствует [15-19]. Это позволяет исключить деформацию первоначальной структуры каркаса геля, образованной в процессе поликонденсации коллоидных частиц геля, в процессе сушки. Однако этот метод требует повышенных энергетических и материальных затрат, связанных с

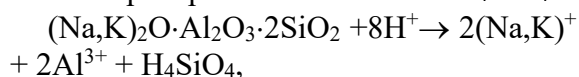
применением высоких температур и специального оборудования при его реализации, что обуславливает высокую стоимость получаемых материалов.

В качестве традиционного сырья для получения гелиевой матрицы на основе диоксида кремния, формирование которой является промежуточной стадией процесса получения как аэрогелей, так и ксерогелей, используется, в основном, или силикат натрия – жидкое стекло, которое получают сплавлением кварцевого песка с карбонатом или сульфатом натрия с образованием силикат-глыбы и последующим её растворением в воде в автоклавных условиях, или кремнийсодержащее сырьё органического происхождения [20-22]. Все эти реагенты являются весьма дорогостоящими, что дополнительно удорожает продукт.

Вместе с тем получение диоксида кремния возможно на основе кислотной обработки целого ряда природных силикатных минералов, например – нефелина $((Na,K)_2O \cdot Al_2O_3 \cdot SiO_2)$ [23, 24], запасы которого на Кольском полуострове России практически неограниченны. Нефелин является природным алюмосиликатом, кислотное разложение которого сопровождается переходом в раствор не только кислоторастворимых компонентов, но и кремнезема. Это свойство обусловлено кристаллохимическими особенностями строения этого минерала [25], согласно которому для нефелина характерно чередование кремнекислородных $([SiO_4]^{4-})$ и алюмокислородных $([AlO_4]^{3-})$ тетраэдров, поэтому при его кислотной обработке растворение последних приводит к полному разрушению структуры минерала и переходу в раствор не только кислоторастворимых компонентов (Al, Na, K), но и изолированных одиночных кремнекислородных комплексов SiO_4^{4-} . В ионном виде разложение нефелина кислотой можно записать в виде реакции:



Компенсация положительно заряженным ионом водорода отрицательного заряда иона SiO_4^{4-} : $4\text{H}^+ + \text{SiO}_4^{4-} \rightarrow \text{H}_4\text{SiO}_4$ приводит к тому, что конечными продуктами реакции являются соли алюминия, щелочных элементов и слабодиссоциированная ортокремниевая кислота H_4SiO_4 :



которая со временем полимеризуется по реакции поликонденсации с образованием силоксановых связей по реакции: $2(\equiv\text{Si}-\text{OH}) \rightarrow (\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv) + \text{H}_2\text{O}$, что, в дальнейшем, приводит к образованию геля, свойства которого (удельные поверхность и пористость и др.) зависят от условий и методов его получения [26].

Целью данной работы являлось изучение влияния поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости в процессе сушки на структурно-поверхностные свойства (удельные поверхность ($S_{\text{уд}}$) и объем пор ($V_{\text{пор}}$) и др.) диоксида кремния, получаемого на основе разработанного в ИХТРЭМС КНЦ РАН способа переработки нефелина [27].

Экспериментальная часть

В качестве источника получения диоксида кремния был использован нефелиновый концентрат (НК) состава, мас. %: Al_2O_3 – 28.59; Na_2O – 14.05; K_2O – 7.25; Fe_2O_3 – 3.82; SiO_2 – 43.3; прочие – остальное. Разложение НК осуществляли 16% H_2SO_4 в течение 15 минут при ее расходе 100% от стехиометрии по реакции 1 на $\Sigma([\text{Al}_2\text{O}_3], [\text{Na}_2\text{O}], [\text{K}_2\text{O}])$, где $[\text{Al}_2\text{O}_3]$, $[\text{Na}_2\text{O}]$, $[\text{K}_2\text{O}]$ – содержание Al_2O_3 , Na_2O , K_2O в НК, мас.%, соответственно. По завершении процесса разложения кремнеземсодержащий раствор отделяли от кислотонерастворимого минерального остатка фильтрованием на лабораторном нутч-филт্রে и, с целью снижения солевого содержания в растворе, охлаждали его до 10°C , в результате чего происходила кристаллизация алюмокалиевых квасцов ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$), которые также отделяли фильтрованием.

Выделение SiO_2 из кремнеземсодержащего раствора осуществлялось методом постепенной равномерной дозированной его подачи в течение 4-х часов в нагретую до 115°C 40% серную кислоту в присутствии затравки SiO_2 , взятой от предыдущего опыта, после чего пульпу дополнительно выдерживали 30 минут для завершения процесса осаждения SiO_2 [27]. Осадок диоксида кремния отделяли от сернокислого раствора фильтрацией, промывали до pH промывной воды ~ 7 и отсутствия в ней сульфат-иона (по Ba^{2+}), после чего делили на 4 части.

Одна часть в неизменном виде сушилась при 105°C до постоянной массы (образец 1). Другие части подвергались 3-кратной репульпации в муравьиной кислоте (HCOOH), этиловом спирте ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) и гептане ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$) (образцы 2, 3 и 4 соответственно) с промежуточной фильтрацией на лабораторном нутч-филт্রে для замещения воды, находящейся в порах SiO_2 , на органическую жидкость, после чего образцы сушились при 105°C и анализировались.

Химический состав образцов определяли на атомно-абсорбционном спектрометре AAnalyst 400, а также масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой ELAN-9000 DRC-e. Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов проводили на приборе SHIMADZU XRD-6000 в диапазоне углов 2Θ от 6 до 70° с шагом 0.02° . Структурно-поверхностные характеристики образцов SiO_2 определяли на автоматическом анализаторе удельной поверхности и пористости TriStar 3020 методами BET и VJH (выполнено ведущим инженером ИХТРЭМС КНЦ РАН Князевой А.И.).

Обработку полученных результатов проводили по линейной форме уравнения БЭТ (С. Брунауэр, Т. Эммэт и Э. Тэллер), используемой для определения емкости адсорбционного монослоя сорбента и удельной поверхности мезопористых веществ:

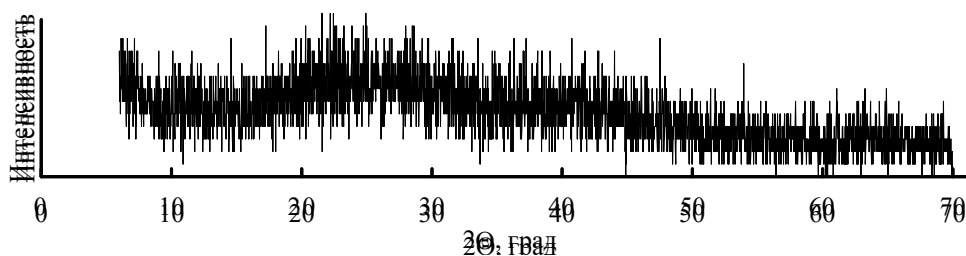


Рис. 1. Дифрактограмма образца 1 (дифрактограммы образцов 2-4 аналогичны и не приводятся).

Fig. 1. Diffractogram of sample 1 (diffraction patterns of samples 2-4 are similar and are not shown).

Таблица 1. Содержание примесей в образцах SiO₂
 Table 1. Impurity content in SiO₂ samples

№ образца	Содержание примесей, мас.%					П.п.п. *, мас.%
	Al ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	Fe ₂ O ₃	CaO	
1	0.059	0.075	0.046	0.074	н.о.	9.82
2	0.058	0.072	0.049	0.071	н.о.	10.12
3	0.056	0.069	0.048	0.076	н.о.	10.21
4	0.061	0.074	0.045	0.072	н.о.	9.88

*1000°C; 2 часа.

$$\frac{1}{Q \left(\frac{P_S}{P} - 1 \right)} = \frac{1}{Q_m C} + \frac{C-1}{Q_m C} \cdot \left(\frac{P}{P_S} \right), \quad (1)$$

где P – давление газа, P_S – давление его насыщенных паров, Q – масса (объем) газа, адсорбированного при относительном давлении P/P_S , Q_m – максимальная емкость адсорбционного монослоя сорбента, C – константа БЭТ, характеризующая энергию взаимодействия адсорбент-адсорбат в первом адсорбированном слое, которая связана с изменением энергии Гиббса (ΔG^0) в процессе сорбции уравнением:

$$-\Delta G^0 = RT \ln C, \quad (2)$$

где R – универсальная газовая постоянная ($8.314 \text{ Дж} \cdot (\text{моль} \cdot \text{К})^{-1}$), T – термодинамическая температура, К.

Точность аналитического определения экспериментальных данных составляла $\pm 5\%$. Математическая обработка полученных результатов, построение графиков осуществлялась в среде программного обеспечения Excel 2010 и Grapher 4.0.

Обсуждение результатов

По данным РФА (рис. 1), все образцы являются рентгеноаморфными продуктами. Содержания примесей и потери при

прокаливании (п.п.п.) в синтезированных образцах SiO₂ приведены в таблице 1. Как видно из приведенных данных, содержание примесей во всех образцах практически идентично, что ожидаемо, так как при их обработке органическими растворителями не происходит дополнительного растворения неорганических примесей и, как следствие, дополнительной очистки от них образцов. Небольшие отличия можно объяснить ошибкой аналитического определения.

На рисунке 2 представлены изотермы сорбции-десорбции азота синтезированными образцами SiO₂. По классификации, предложенной в [28], вид изотерм может быть отнесен к изотерме IV(a) типа, которая ассоциируется с капиллярной конденсацией в мезопорах, о чем свидетельствует выраженная петля гистерезиса, основной причиной которого является капиллярная конденсация азота (абсорбата) в мезопорах ($2 < d_{\text{пор}} < 50 \text{ нм}$), и увеличенная крутизна при повышенном относительном давлении. Характерное смыкание петли гистерезиса на изотерме в процессе десорбции ранее, чем относительное давление достигнет величины

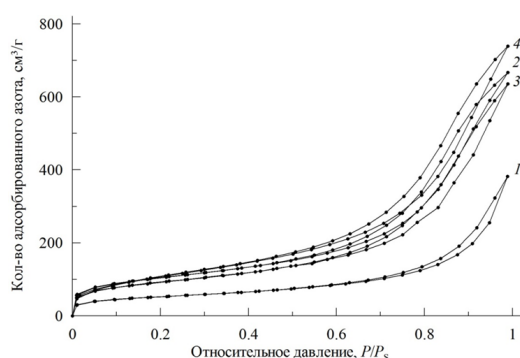


Рис. 2. Изотермы сорбции-десорбции азота образцами SiO₂ (зависимость количества адсорбированного N₂ (*Q*) от относительного давления (*P/P_S*) (здесь и далее номер кривой соответствует номеру образца).

Fig. 2. Isotherms of nitrogen sorption-desorption by SiO₂ samples (dependence of the amount of adsorbed N₂ (*Q*) on relative pressure (*P/P_S*) (here and below, the curve number corresponds to the sample number).

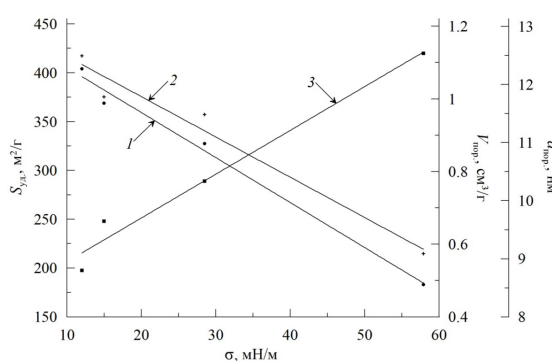


Рис. 3. Зависимости удельных поверхности (1), объема пор (2) и диаметра пор (3) от поверхностного натяжения внутрипоровой среды.

Fig. 3. Dependences of the specific surface (1), pore volume (2) and pore diameter (3) on the surface tension of the internal medium.

Таблица 2. Структурно-поверхностные свойства образцов SiO₂
 Table 2. Structural and surface properties of SiO₂ samples

Показатель	Номер образца			
	1	2	3	4
Удельная поверхность по методу БЭТ, $S_{уд.}$, м ² /г	183.04	327.54	368.97	404.00
Удельный объем пор (1.7 нм ≤ <i>d</i> ≤ 300 нм), ВН (десорбционная ветвь), $V_{пор}$, см ³ /г	0.574	0.957	1.006	1.119
Средний диаметр пор, $d_{пор}$, нм	12.54	10.34	9.65	8.80
Поверхностное натяжение среды, σ , мН/м, (105°C)* [29, 30]	57.87	28.46	14.98	12.01

*среда: 1 – H₂O; 2 – HCOOH; 3 – C₂H₅OH; 4 – CH₃(CH₂)₅CH₃

0.3, свидетельствует об отсутствии (или незначительном количестве) в образцах микропор ($d_{пор} < 2$ нм). Это подтверждается и незначительным количеством адсорбированного азота в области давлений $P/P_S < 0.1$. Небольшая площадь петли гистерезиса на изотерме сорбции-десорбции образца 1, по сравнению с образцами 2-4, свидетельствует о меньшей доли объема мезопор этого образца в общем объеме пор.

В таблице 2 приведены некоторые структурно-поверхностные свойства исследованных образцов SiO₂. Из представленных данных видно, что как удельная внешняя поверхность $S_{уд.}$, так и удельный

объем пор образцов $V_{пор}$ увеличиваются с уменьшением поверхностного натяжения внутрипоровой среды σ , что может быть объяснено разрушением пор относительно большого диаметра под действием сил поверхностного натяжения в процессе сушки с образованием более мелких пор, обладающих, соответственно, более развитой поверхностью. Это подтверждается и тем, что с уменьшением поверхностного натяжения средний диаметр пор ($d_{пор}$) также уменьшается.

Как видно из рисунка 3, эти показатели ($S_{уд.}$, $V_{пор}$ и $d_{пор}$) имеют линейную зависимость от поверхностного натяжения

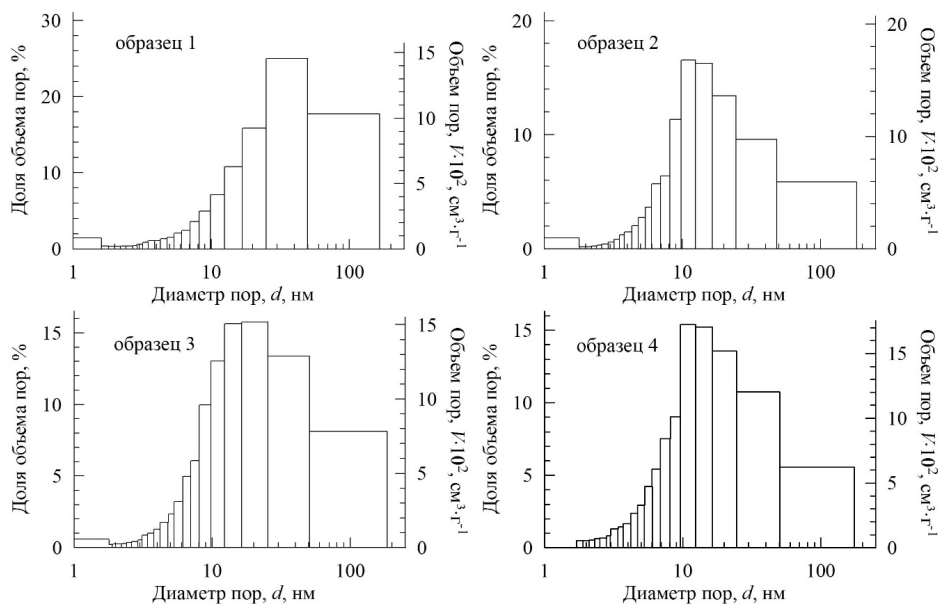


Рис. 4. Распределение объема пор по их диаметру образцов SiO₂ (десорбционная ветвь).

Fig. 4. Pore volume distribution over their diameter in SiO₂ samples (desorption branch).

среды. Математической обработкой результатов экспериментов методом наименьших квадратов были получены уравнения, связывающие эти показатели:

$$S_{уд.} = 541.4 - 4.61 \cdot \sigma; R^2 = 0.989;$$

$$V_{пор} = 1.228 - 1.109 \cdot 10^{-2} \cdot \sigma; R^2 = 0.965;$$

$$d_{пор} = 8.20 + 7.54 \cdot 10^{-2} \cdot \sigma; R^2 = 0.974,$$

величины коэффициентов детерминации которых (R^2) свидетельствуют о том, что они адекватно описывают экспериментальные данные [31].

На рисунке 4 и в таблице 3 приведены данные по распределению объема пор синтезированных образцов SiO₂. Представленные данные подтверждают сделанные на основе изотерм сорбции-десорбции (рис. 2) выводы о мезопористом характере образцов. Из гистограмм видно, что уменьшение поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости приводит к снижению доли объема макропор ($d_{пор} > 50$ нм) и относительно крупных мезопор ($d_{пор} = 25-50$ нм) в образцах в ~ 2.5 раза: с 17 и 25% до 6 и 10% соответственно. При этом происходит увеличение доли объема мезопор меньшего диаметра. Так, доля объема пор, обладающих диаметром 10-25 нм, увеличивается с 33% (образец № 1, $\sigma = 57.87$ мН/м) до 44%

(образец № 4, $\sigma = 12.01$ мН/м), а доля объема пор, обладающих диаметром 5-10 нм, увеличивается с 15% (образец № 1) до 29% (образец № 4). Это свидетельствует о существенном влиянии поверхностного натяжения внутрипоровой среды не только на интегральную величину удельной поверхности и объема пор образцов, но и на их распределение. При этом доля мезопор, обладающих диаметром 2-5 нм, в образцах практически неизменна (7-9%). Кроме того, в них также практически отсутствуют микропоры ($d_{пор} < 2$ нм), доля которых не превышает нескольких процентов, что подтверждает выводы, сделанные на основе данных рисунка 2.

Уравнение БЭТ (1) может быть применено к расчету поверхности мезопористых веществ в случае, если хотя бы на небольшом участке изотермы зависимость $(1/[Q \cdot (P_s/P - 1)]) - P/P_s$ будет линейной. Для большинства твердых мезопористых веществ присуща линейная зависимость на участке изотермы в пределах значений относительного давления от 0.05 до 0.35 [32].

Таблица 3. Распределение объема пор по их диаметру образцов SiO₂ (десорбционная ветвь)

Table 3. Pore volume distribution over their diameter in SiO₂ samples (desorption branch)

№ образца	Диаметр пор, нм/доля объема пор, %					
	< 2	2-5	5-10	10-25	25-50	> 50
1	2.2	6.6	14.7	33.8	25.0	17.7
2	1.1	7.4	29.9	45.2	10.6	5.8
3	0.8	7.8	27.9	44.4	13.2	5.9
4	0.5	9.3	29.5	44.2	10.7	5.8

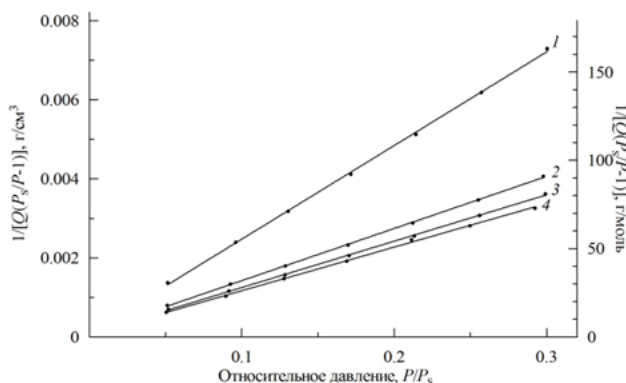


Рис. 5. Зависимость $1/[Q(P_s/P-1)]$ от относительного давления азота P/P_s для образцов SiO₂ (номер линии соответствует номеру образца).

Fig. 5. Dependence $1/[Q(P_s/P-1)]$ on the relative pressure of nitrogen P/P_s for SiO₂ samples (the line number corresponds to the sample number).

Таблица 4. Результаты математической обработки изотермы сорбции азота образцами SiO₂

№ обр.	Уравнение прямой	$\frac{1}{Q_m C}$	$\frac{C-1}{Q_m C}$	C	Q_m , ммоль/г	$-\Delta G^\circ$, Дж/моль
1	$y = 530.35 \cdot x + 2.380$	2.380	530.35	223.8	0.0838	12288
2	$y = 287.24 \cdot x + 2.011$	2.011	287.24	143.8	0.1543	11284
3	$y = 272.60 \cdot x + 1.625$	1.625	272.60	168.8	0.1628	11647
4	$y = 247.09 \cdot x + 1.445$	1.445	247.09	172.0	0.1796	11690

На рисунке 5 представлены зависимости $(1/[Q \cdot (P_s/P-1)] - P/P_s)$ для исследованных образцов в указанном интервале значений P/P_s для исследованных (синтезированных) образцов SiO₂. Как видно из рисунка, для всех образцов экспериментальные данные хорошо описываются линейным уравнением вида $y = a + b \cdot x$ (таблица 4), что говорит о возможности применения метода БЭТ для расчета удельной поверхности исследованных образцов.

При сравнении уравнения БЭТ (1) с уравнениями прямых, представленных в таблице 4, видно, что $\text{tg} \alpha = b = (C-1)/(Q_m C)$, а отрезок, отсекаемый на оси Y = a = $1/(Q_m C)$. Таким образом, для каждого образца SiO₂ была составлена система уравнений

$$\begin{cases} a = 1/(Q_m C) \\ b = (C - 1)/(Q_m C) \end{cases}$$

решением которой были найдены значения Q_m и C для каждого конкретного образца. Результаты математической обработки представлены в таблице 4. Там же приведены значения изменения энергии Гиббса в процессе сорбции, рассчитанные по уравнению (2).

Анализ данных таблицы 4 показывает, что с уменьшением поверхностного натяжения внутрипоровой жидкости удельная емкость образцов SiO_2 (Q_m) по азоту возрастает, что вполне объяснимо увеличением удельной поверхности образцов (табл. 2). Вместе с тем, постоянство значения приведенной удельной емкости поверхности $Q_{m(s)} = Q_m/S_{уд.}$, где $S_{уд.}$ – удельная поверхность (табл. 2), для всех образцов и составляющая ~ 0.45 мкмоль/ м^2 (отклонение от среднего значения не превышает 10%) для всех образцов свидетельствует о том, что структура их поверхности (тип и количество сорбционных центров на единицу поверхности) аналогична. Это подтверждается и значениями изменений энергии Гиббса (ΔG°) в процессе сорбции, которые лежат в относительно узком диапазоне значений (11200-12300 Дж/моль соответственно; отклонение от среднего значения составляет не более 5%), что свидетельствует о неизменности механизма процесса сорбции.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что замена перед сушкой водной среды в порах синтезированного оксида кремния на органическую, обладающую более низким значением поверхностного натяжения, позволяет получить продукт со значительно более развитыми удельной поверхностью и удельным объемом пор. Так, замена

Список литературы

1. Айлер Р. Химия кремнезема. М.: Мир. 1982. 1128 с.

воды, поверхностное натяжение которой при температуре сушки составляет 57.87 мН/м, на муравьиную кислоту, спирт или гептан (28.46, 14.98 и 12.01 мН/м соответственно) позволяет практически ~ 2 раза повысить как удельную поверхность, так и удельный объем пор. Одновременно с этим происходит увеличение доли мезопор относительно меньшего диаметра ($5 < d_{пор} < 25$ нм) при одновременном снижении доли объема мезопор с диаметром 25-50 нм и макропор ($d_{пор} > 50$ нм).

Математической обработкой экспериментальных данных получены уравнения, связывающие удельную поверхность и объем пор, а также диаметр пор синтезированных образцов SiO_2 с поверхностным натяжением внутрипоровой среды, значения коэффициентов детерминации которых свидетельствуют об их адекватности.

Показано, что замещения водной среды на органическую в порах синтезированных образцов SiO_2 перед сушкой не оказывает существенного влияния на механизм процесса сорбции, тип и количество сорбционных центров на единицу поверхности, о чем свидетельствует незначительные отклонения (менее 5%) значений величин ΔG° процесса от среднего значения (11.7 кДж/моль), а так же постоянство значений приведенной удельной емкости поверхности (~ 0.45 мкмоль/ м^2 , отклонение от среднего значения не превышает 10%).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

2. Неймарк И.Е., Шейнфайн Р.Ю. Силикагель, его получение, свойства и применение. Киев: Наукова думка. 1973. 202 с.

3. Чукин Г.Д. Новые представления о механизме каталитического расщепления



- углеводородов нефти. М.: Техника. 2008. 112 с.
4. Baetens R., Jelle B.P., Gustavsen A. Aerogel insulation for building applications: a state-of-the-art review // *Energy and Buildings*. 2011. Vol. 43. P. 761-769.
5. Hanus M.J., Harris A.T. Nanotechnology innovations for the construction industry // *Progress in Materials Science*. 2013. Vol. 58. P. 1056-1102.
6. Riffat S.B., Qiu G. A review of state-of-the-art aerogel applications in buildings // *Int J Low-Carbon Technol*. 2013. Vol. 8, no 1. P. 1-6.
7. Timin A., Rummyantsev E., Lanin S.N., Rychkova S.A., Guseynov S.S., Solomonov A.V., Antina E.V. Preparation and surface properties of mesoporous silica particles modified with poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a potential adsorbent for bilirubin removal // *Materials Chemistry and Physics*. 2014. Vol. 147. P. 673-683.
8. Fang X., Liu Z., Hsieh M.F., Chen M., Liu P., Chen C. Hollow mesoporous aluminosilica spheres with perpendicular pore channels as catalytic nanoreactors // *ACS Nano*. 2012. no 6. P. 4434-4444.
9. Jiao Y., Wan C., Li J. Synthesis of carbon fiber aerogel from natural bamboo fiber and its application as a green high-efficiency and recyclable adsorbent // *Materials and Design*. 2016. Vol. 107. P. 26-32.
10. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния: под ред. А.А. Чуйко. Киев: Наукова думка. 2003. 416 с.
11. González-Gómez L., Morante-Zarzero S., Pérez-Quintanilla D., Sierra I. Simultaneous determination of furanic compounds and acrylamide in insect-based foods by HPLC-QqQ-MS/MS employing a functionalized mesostructured silica as sorbent in solid-phase extraction. // *Foods*. 2021. no 10. P. 1557-1572. <https://doi.org/10.3390/foods10071557>
12. Загузин А.С., Романенко А.В., Бухтиярова М.В. Синтез оксидов алюминия с контролируемым текстурными и прочностными характеристиками // *Журнал прикладной химии*. 2020. Т. 93, Вып. 8. С. 1079-1090.
13. Кузнецова Т.Ф., Еременко С.И. Синтез мезопористого кремнезема аэрогелевого типа // *Коллоидный журнал*. 2014. Т. 76, № 3. С. 356-362.
14. Ковалько Н.Ю., Калинина М.В., Малкова А.Н., Лермонтов С.А., Морозова Л.В., Полякова И. Г., Шилова О.А. Синтез и сравнительное исследование ксерогелей, аэрогелей и порошков на основе системы $ZrO_2-Y_2O_3-CeO_2$ // *Физика и химия стекла*. 2017. Т. 43, №4. С. 415-424.
15. Худеев И.И., Лебедев А.Е., Смирнов О.А., Меншутина Н.В. Интенсификация процесса сверхкритической сушки // *Успехи в химии и химической технологии*. 2018. Т. 32, № 11. С. 90-93.
16. Суслова Е.Н., Ловская Д.Д., Лебедева Н.В. Совмещение процессов замены растворителя в сверхкритической сушки в одном аппарате для получения аэрогелей // *Успехи в химии и химической технологии*. 2020. Т. 34, № 12. С. 40-42.
17. Zhao Y., Lib Y., Zhang R. Silica aerogels having high flexibility and hydrophobicity prepared by solgel method // *Ceramics International*. 2018. Vol. 44. P. 21262-21268.
18. Iswar S., Snellings G.M.B.F., Zhao S. Reinforced and superinsulating silica aerogel through in situ crosslinking with silane terminated prepolymers // *Acta Materialia*. 2018. Vol. 147. P. 322-328.
19. Sarawadea P.B., Shao G.N., Quang D.V., Kim H.T. Effect of various structure directing agents on the physicochemical properties of the silica aerogels prepared at an ambient pressure // *Applied Surface Science*. 2013. Vol. 287. P. 84-90.
20. Maximiano P., Durães L., Simões P.N. Organically-modified silica aerogels: A density functional theory study // *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019. Vol. 147. P. 138-148.
21. Torres R.B., Varela J.P., Durães L. Effect of different silylation agents on the



properties of ambient pressure dried and supercritically dried vinyl-modified silica aerogels // *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019. Vol. 147. P. 81-89.

22. Wang J., Zhang Y., Wei Y., Zhang X. Fast and one-pot synthesis of silica aerogels via a quasi-solventexchange-free ambient pressure drying process // *Microporous and Mesoporous Materials*. 2015. Vol. 218. P. 192-198.

23. Матвеев В.А., Захаров В.И., Майоров Д.В., Кондратенко Т.В. Физико-химические свойства аморфного диоксида кремния, выделенного из нефелина // *ЖНХ*. 2011. Т. 56, № 3. С. 380-382.

24. Матвеев В.А., Майоров Д.В., Веляев Ю.О., Захаров В.И. Сернокислотные способы комплексной переработки нефелиносодержащего сырья. Апатиты: Изд. КНЦ РАН. 2017. 155 с.

25. Брегг У., Кларингбаум Г. Кристаллохимическая структура минералов. М.: Мир. 1967. 318 с.

26. Захаров В.И., Матвеев В.А., Майоров Д.В., Балбукова А.А., Кондратенко Т.В., Князева А.И. Исследование влияния условий кислотной переработки нефелина на структурно-поверхностные свойства образующихся кремнеземных продуктов // *ЖПХ*. 2012. Т. 85, № 11. С. 1729-1735.

27. Пат. 2179527 РФ. Способ переработки силикатного сырья / Захаров Д.В., Захаров К.В., Матвеев В.А., Майоров Д.В.; опубл. 20.02.2002, Бюл. № 5.

28. Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V., Olivier J.P., Rodriguez-Reinoso F., Rouquerol J., Sing K.S.W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report) // *Pure and Applied Chemistry*. 2015. Vol. 87, Is. 9-10. P. 1051-1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>

29. Гороновский И.Т., Назаренко Ю.П., Некряч Е.Ф. Краткий справочник по химии: Изд. 5-е, доп., перераб. Киев, Наукова думка. 1987. 612 с.

30. Бобылёв В.Н. Физические свойства наиболее известных химических веществ: Справочное пособие. М.: ПХТУ им. Д.И. Менделеева. 2003. 24 с.

31. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебное пособие для вузов. 10-е издание, стереотипное. М.: Высшая школа. 2004. 479 с.

32. Яковлева Н. В. Исследование характеристик пористости объемно-пористых нанокатализаторов на основе оксида алюминия и интерметаллидов системы никель-алюминий // *Вопросы материаловедения*. 2013. № 1(73). С. 95-101.

References

1. Ajler R. Himija kremnezema. M. Mir, 1982, 1128 p. (In Russ.)

2. Nejmark I.E., Shejnfajn R.Ju. Silikagel', ego poluchenie, svojstva i primenienie. Kiev: Naukova dumka, 1973, 202 p.

3. Chukin G.D. Novye predstavlenija o mehanizme kataliticheskogo rasshepleniya uglevodorodov nefiti. Moskva: Tehnika, 2008, 112 p. (In Russ.)

4. Baetens R., Jelle B.P., Gustavsen A. Aerogel insulation for building applications: a state-of-the-art review. *Energy and Buildings*. 2011; 43: 761-769.

5. Hanus M.J., Harris A.T. Nanotechnology innovations for the construction industry. *Progress in Materials Science*. 2013; 58: 1056-1102.

6. Riffat S.B., Qiu G. A review of state-of-the-art aerogel applications in buildings. *Int J Low-Carbon Technol*. 2013; 8(1): 1-6.

7. Timin A., Rummyantsev E., Lanin S.N., Rychkova S.A., Guseynov S.S., Solomonov A.V., Antina E.V. Preparation and surface properties of mesoporous silica particles modified with poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a potential adsorbent for bilirubin removal. *Materials Chemistry and Physics*. 2014; 147: 673-683.

8. Fang X., Liu Z., Hsieh M.F., Chen M., Liu P., Chen C. Hollow mesoporous aluminosilica spheres with perpendicular pore

channels as catalytic nanoreactors. *ACS Nano*. 2012; 6: 4434-4444.

9. Jiao Y., Wan C., Li J. Synthesis of carbon fiber aerogel from natural bamboo fiber and its application as a green high-efficiency and recyclable adsorbent. *Materials and Design*. 2016; 107: 26-32.

10. Medicinskaja himija i klinicheskoe primenenie dioksida kremnija: pod red. A.A. Chujko. Kiev: Naukova dumka, 2003, 416 p.

11. González-Gómez L., Morante-Zarzero S., Pérez-Quintanilla D., Sierra I. Simultaneous determination of furanic compounds and acrylamide in insect-based foods by HPLC-QqQ-MS/MS employing a functionalized mesostructured silica as sorbent in solid-phase extraction. *Foods*. 2021; 10: 1557-1572.

<https://doi.org/10.3390/foods10071557>

12. Zaguzin A. S., Romanenko A. V., Buhtijarova M. V. Sintez oksidov aljuminija s kontroliruemymi teksturnymi i prochnostnymi karakteristikami. *Zhurnal prikladnoj himii*. 2020; 93(8): 1079-1090. (In Russ.)

13. Kuznecova T.F., Eremenko S.I. Sintez mezoporistogo kremnezema ajerogel'nogo tipa. *Kolloidnyj zhurnal*. 2014; 76(3): 356-362. (In Russ.)

14. Koval'ko N.Ju., Kalinina M.V., Malkova A.N., Lermontov S.A., Morozova L.V., Poljakova I. G., Shilova O.A. Sintez i sravnitel'noe issledovanie kserogelej, ajerogelej i poroshkov na osnove sistemy ZrO_2 - Y_2O_3 - CeO_2 . *Fizika i himija stekla*. 2017; 43(4): 415-424.

15. Hudeev I.I., Lebedev A.E., Smirnov O.A., Menshutina N.V. Intensifikacija processa svehkriticheskoj sushki. *Uspehi v himii i himicheskoy tehnologii*. 2018; 32(11): 90-93. (In Russ.)

16. Suslova E.N., Lovskaja D.D., Lebedeva N.V. Sovmeshhenie processov zameny rastvoritelja v sverhkriticheskoj sushki v odnom apparate dlja poluchenija ajerogelej. *Uspehi v himii i himicheskoy tehnologii*. 2020; 34(12): 40-42. (In Russ.)

17. Zhaoa Y., Lib Y., Zhang R. Silica aerogels having high flexibility and hydrophobicity prepared by solgel method. *Ceramics International*. 2018; 44: 21262-21268.

18. Iswar S., Snellings G.M.B.F., Zhao S. Reinforced and superinsulating silica aerogel through in situ crosslinking with silane terminated prepolymers. *Acta Materialia*. 2018; 147: 322-328.

19. Sarawadea P.B., Shao G.N., Quang D.V., Kim H.T. Effect of various structure directing agents on the physicochemical properties of the silica aerogels prepared at an ambient pressure. *Applied Surface Science*. 2013; 287: 84-90.

20. Maximiano P., Durães L., Simões P.N. Organically-modified silica aerogels: A density functional theory study. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019; 147: 138-148.

21. Torres R.B., Vareda J.P., Durães L. Effect of different silylation agents on the properties of ambient pressure dried and supercritically dried vinyl-modified silica aerogels. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019; 147: 81-89.

22. Wang J., Zhang Y., Wei Y., Zhang X. Fast and one-pot synthesis of silica aerogels via a quasi-solventexchange-free ambient pressure drying process. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2015; 218: 192-198.

23. Matveev V.A., Zaharov V.I., Majorov D.V., Kondratenko T.V. Fiziko-himicheskie svojstva amorfnogo dioksida kremnija, vydelennogo iz nefelina. *Zhurnal prikladnoj himii*. 2011; 56(3): 380-382. (In Russ.)

24. Matveev V.A., Majorov D.V., Veljaev Ju.O., Zaharov V.I. Sernokislotnye sposoby kompleksnoj pererabotki nefelinsoderzhashhego syr'ja. Apatity: Izdatel'stvo KNC RAN, 2017, 155 p.

25. Bregg U., Klaringbaum G. Kristallohimicheska struktura mineralov. M.: Mir, 1967, 318 p.

26. Zaharov V.I., Matveev V.A., Majorov D.V., Balbukova A.A., Kondratenko T.V. Knjazeva A.I. Issledovanie vlijanija uslovij kislotnoj pererabotki nefelina na



strukturno-poverhnostnye svoystva obrazujushhihsja kremnezemnyh produktov. *Zhurnal prikladnoj himii*. 2012; 85(11): 1729-1735. (In Russ.)

27. Pat. 2179527 RF. Sposob pererabotki silikatnogo syr'ja. Zaharov D.V., Zaharov K.V., Matveev V.A., Majorov D.V.; opubl. 20.02.2002, Bjul. № 5.

28. Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V., Olivier J.P., Rodriguez-Reinoso F., Rouquerol J., Sing K.S.W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 2015; 87(9-10): 1051-1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>

29. Goronovskij I.T., Nazarenko Ju.P., Nekrjach E.F. *Kratkij spravochnik po himii*:

Izd. 5-e, dop., pererab. Kiev: Naukova dumka, 1987, 612 p.

30. Bobyljov V.N. *Fizicheskie svoystva naibolee izvestnyh himicheskikh veshhestv: Spravochnoe posobie*. Moskva: RHTU im. D.I. Mendeleeva, 2003, 24 p.

31. Gmurman V.E. *Teorija verojatnostej i matematicheskaja statistika: Uchebnoe posobie dlja vuzov*. 10-e izdanie, stereotipnoe. M.: Vysshaja shkola, 2004, 479 p.

32. Jakovleva N.V. *Issledovanie harakteristik poristosti ob#emno-poristyh nanokatalizatorov na osnove oksida aljuminija i intermetallidov sistemy nikel'-aljuminij. Vo-prosy materialovedenija*. 2013;1(73): 95-101. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Д.В. Майоров – к.т.н., ведущий научный сотрудник, Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской академии наук», Апатиты, Россия

D.V. Mayorov – PhD in Technology, leading researcher, Tananaev Institute of Chemistry - Subdivision of the Federal Research Centre “Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences”, Apatity, Russian Federation, E-mail: d.maiorov@ksc.ru

Статья поступила в редакцию 10.04.2023; одобрена после рецензирования 10.05.2023; принята к публикации 17.05.2023.

The article was submitted 10.04.2023; approved after reviewing 10.05.2023; accepted for publication 17.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья
УДК 577.152.4
doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11322

Использование препарата малатдегидрогеназы, полученного хроматографическим способом, для специфического проявления фумаратгидратазы из гепатоцитов крыс

**Наталья Владимировна Селиванова, Максим Юрьевич Бакарев,
Дарья Сергеевна Быстрова, Александр Трофимович Епринцев**

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru

Аннотация. Целью данной работы явилось получение хроматографическими методами высокоочищенного препарата малатдегидрогеназы (МДГ) для последующего специфического окрашивания фумаратгидратазы (фумараза, ФГ) из печени здоровых крыс и животных с аллоксановым диабетом. Первым этапом исследования было проведение многоступенчатой схемы очистки МДГ с использованием ионообменной хроматографии в качестве заключительного этапа, в результате которой было получено два ферментных препарата, из которых был выбран образец, проявлявший наибольшую активность (с выходом 20% и удельной активностью 32.5 Е/мг белка). Активность МДГ измеряли спектрофотометрически при длине волны 340 нм, концентрацию белка определяли методом Лоури. Индукцию экспериментального сахарного диабета 1 типа осуществляли однократной внутривенной инъекцией 5% раствора моногидрата аллоксана в 0.9% растворе цитрата натрия самцам белых инбредных лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* L) линии Вистар. Животные содержались в виварии с постоянным доступом к корму и воде. Условия эксперимента соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отражённых в санитарных правилах по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Все крысы произвольным образом были разделены на 2 группы (Норма и Диабет), по 5 крыс в каждой.

Фумаратгидратаза относится к классу лиаз и не является окислительным ферментом, следовательно, не может быть специфически проявлена в полиакриламидном геле тетразолиевым методом. Однако данную методику специфического окрашивания можно использовать и для ФГ при добавлении в среду проявления малатдегидрогеназы в качестве вспомогательного фермента. Электрофорез в полиакриламидном геле осуществляли в неденатурирующих условиях в Трис-глициновом буфере. Проведенные электрофоретические исследования с последующим окрашиванием геля тетразолиевым методом показали, что в печени и здоровых крыс, и животных с патологией фумаратгидратаза присутствует в виде двух форм с R_f 0.12 и 0.2, соответственно. Анализ субклеточной локализации ФГ показал, что выявленные формы фермента функционируют в цитоплазме и митохондриях печени крыс обеих групп. Таким образом, использование в качестве основного этапа ионообменной хроматографии позволило получить высокоочищенный препарат малатдегидрогеназы, который в дальнейшем использовался в качестве вспомогательного фермента при специфическом окрашивании фумаратгидратазы из печени крыс с аллоксановым диабетом. Полученные результаты свидетельствуют, что развитие сахарного диабета 1 типа, в отличие от некоторых типов онкологий не связано с блокированием одной из форм ФГ.

Ключевые слова: малатдегидрогеназа, фумаратгидратаза, изофермент, специфическое проявление, ионообменная хроматография.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009

Для цитирования: Селиванова Н.В., Бакарев М.Ю., Быстрова Д.С., Епринцев А.Т. Использование препарата малатдегидрогеназы, полученного хроматографическим способом, для специфического проявления фумаратгидратазы из гепатоцитов крыс // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 3. С. 426-434. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11322>



Original article

The use of malate dehydrogenase preparation, obtained by the chromatographic method, for the specific staining of fumarate hydratase from rat hepatocytes

Natalia V. Selivanova, Maxim Yu. Bakarev,
Darya S. Bystrova, Alexander T. Eprintsev[✉]

Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, bc366@bio.vsu.ru [✉]

Abstract. The aim of this study was to obtain a highly purified preparation of malate dehydrogenase (MDH) by chromatographic methods for subsequent specific staining of fumarate hydratase (fumarase, FH) from the liver of healthy rats and animals with alloxan-induced diabetes. The first stage of the study was the performance of a multi-stage purification scheme for MDH using ion-exchange chromatography as the final stage, which resulted in the obtaining of two enzyme preparations, from which a sample with the highest activity (with a yield of 20% and a specific activity of 32.5 U/mg protein) was selected. MDH activity was measured spectrophotometrically at a wavelength of 340 nm, protein concentration was determined by the Lowry method. Experimental type 1 diabetes mellitus was induced by a single intraperitoneal injection of 5% alloxan monohydrate solution in 0.9% sodium citrate solution to male white inbred laboratory Wistar rats (*Rattus norvegicus* L). The animals were kept in a vivarium with constant access to food and water. The conditions of the experiment corresponded to the requirements of international rules for the humane treatment of animals, reflected in the sanitary rules for the selection and maintenance of experimental biological clinics (vivariums). All rats were randomly divided into 2 groups (Control and Diabetes), 5 rats in each group.

Fumarate hydratase is a lyase and it is not an oxidizing enzyme; therefore, it cannot be specifically detected in polyacrylamide gel by the tetrazolium method. However, this specific staining technique can also be used for FH by adding malate dehydrogenase as an auxiliary enzyme to the development medium. Polyacrylamide gel electrophoresis was performed under non-denaturing conditions in Tris-glycine buffer. Conducted electrophoretic studies with subsequent staining of the gel with the tetrazolium method showed that in the liver of both healthy rats and animals with pathology, two isoforms of fumarate hydratase with R_f 0.12 and 0.2 respectively, were present. An analysis of the subcellular localization of FH showed that the identified forms of the enzyme function in the cytoplasm and mitochondria of the liver of rats of both groups. Thus, the use of ion-exchange chromatography as the main step allowed to obtain a highly purified preparation of malate dehydrogenase, which was later used as an auxiliary enzyme in the specific staining of fumarate hydratase from the liver of rats with alloxan-induced diabetes. The obtained results indicate that the development of type 1 diabetes mellitus, unlike some types of oncology, is not associated with blocking of one of FH isoforms.

Keywords: malate dehydrogenase, fumarate hydratase, isoenzyme, specific staining, ion exchange chromatography.

Acknowledgments: this work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of a state order for universities in the field of scientific activity for 2023-2025, project no. FZGU-2023-0009

For citation: Selivanova N.V., Bakarev M.Yu., Bystrova D.S., Eprintsev A.T. The use of malate dehydrogenase preparation, obtained by the chromatographic method, for the specific staining of fumarate hydratase from rat hepatocytes. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 426-434. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11322>

Введение

У эукариотических организмов все клетки характеризуются наличием субклеточных компартментов, разграниченных полупроницаемой мембраной. Причем идентичные белки могут функционировать в различных органеллах, данное

явление принято называть двойной локализацией, а идентичные популяции белков – эхоформами (в случае ферментов часто используется термин «изоферменты») [1]. К таким протеинам относится и фумаратгидратаза (фумараза, ФГ, КФ 4.2.1.2), обнаруживаемая в митохондриях и цитоплазме всех эукариот [2]. В

литературе имеются данные о том, что при некоторых видах рака наблюдается инактивация митохондриальной формы фермента [3]. Кроме того, показано, что высокие концентрации фумарата вызывают сукцинирование (необратимую неферментативную модификацию остатков цистеина фумаратом с образованием S-(2-сукцинил)цистеина). Например, хроническое сукцинирование глутатиона связано с постоянным окислительным стрессом и клеточным старением [4]. В печени крыс две эзоформы фумаразы кодируются одним геном, который транскрибируется в одну мРНК, содержащую два кодона инициации трансляции. Два продукта трансляции предположительно различаются наличием или отсутствием митохондриальной адресной последовательности [5]. Хотя роль ФГ в норме и различных патологиях довольно активно исследуется [6, 7], локализация изоферментов фумаразы в гепатоцитах крыс при диабете 1 типа остается неясным. Адаптация организма животных к аллоксановому экспериментальному диабету представляет сложный многоэтапный процесс, главным звеном которого является трансформация клеточного метаболизма. Индукция ферментов глиоксилатного цикла и цикла трикарбоновых кислот в тканях животных обеспечивает изменение основных путей метаболизма, обусловленных ресинтезом гликогена в печени крыс при патологиях, связанных с пищевой депривацией и экспериментальным диабетом [8].

В 1956 году Цоу с соавторами опубликовали результаты синтеза нескольких солей тетразолия и указали на возможность их цитохимической оценки для использования данных веществ как индикаторов определенных типов окислительной ферментативной активности [9]. В результате этих исследований было получено вещество $C_{40}H_{30}N_{10}O_6 \cdot 2Cl$, названное нитросиний тетразолий хлорид (НСТ), используемый для электрофоретических исследований оксидоредуктаз

[10]. Этот метод успешно используется для выявления многих и неокислительных ферментов, в том числе и фумаратгидратазы, каталитическая активность которых может быть определена с использованием дегидрогеназ в качестве вспомогательных ферментов [11]. Ранее было обнаружено увеличение активности и появление дополнительной пероксисомальной изоформы малатдегидрогеназы из печени крыс с диабетом [12]. Однако для ФГ информации по изоферментному составу при развитии диабета 1 типа нами найдено не было. В связи с этим целью данной работы явилось получение с помощью хроматографических методов высокоочищенного препарата малатдегидрогеназы для последующего специфического окрашивания фумаратгидратазы из печени здоровых крыс и животных с аллоксановым диабетом.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали ткань печени крыс *Rattus norvegicus* L линии Вистар. Животные содержались в виварии с постоянным доступом к корму и воде. Условия эксперимента соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отраженных в санитарных правилах по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

Индукцию экспериментального сахарного диабета осуществляли однократной инъекцией 5%-ного раствора аллоксана, растворенного в 0.9%-ном растворе цитрата натрия в концентрации 120 мг/кг массы тела животного [13]. 10 крыс были произвольным образом разделены на 2 группы по 5 крыс в каждой, крысам группы «Норма» производилась внутрибрюшинная инъекция физраствора, животным из группы «Диабет» осуществляли внутрибрюшинное введение раствора аллоксана.

Для получения образцов для исследования крыс усыпляли эфиром, после чего

проводили декапитацию. Печень многократно промывали ледяным раствором 0.9%-ного хлорида натрия, после чего ткань гомогенизировали в соотношении 1:10 со средой выделения, которая состояла из 50 мМ Tris-HCl-буфера, pH 7.8; 10 мМ MgCl₂; 4 мМ ЭДТА; 4 мМ ДТТ. Затем, центрифугировали 4000 об/мин 5 мин. Выделение ферментов проводилось на холоде при температуре 4°C

Для измерения активности малатдегидрогеназы использовали среду спектрофотометрирования, состоящую из 50 мМ Tris-HCl-буфера, pH 7.8; 10 мМ MgCl₂; 0.2 мМ NADH; 1 мМ оксалоацетата. Активность фермента определяли по снижению оптической плотности при 340 нм за 5 мин с помощью спектрофотометрического метода на СФ-2000 [12]. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за минуту при стандартных условиях.

С целью получения ферментативного препарата малатдегидрогеназы в высокоочищенном состоянии нами была разработана 4х-стадийная схема очистки, основным (и конечным) этапом которой была ионообменная хроматография на ДЭАЭ-сефацел. Предварительно ткань печени гомогенизировали, концентрировали с помощью высаливания и очищали от низкомолекулярных примесей на сефадексе G-25. После чего подготовленный образец наносили на колонку с ДЭАЭ-сефацел (размер колонки 1.5х 20 см). Далее колонку промывали 20 см³ элюирующего раствора (0.05 М Tris-HCl буфер, pH 7.5, 0.1 мМ ЭДТА и 1% β-меркаптоэтанол) для удаления белков, не связавшихся с анионообменником [14]. Десорбцию заряженных белков с колонки, в том числе и МДГ, осуществляли посредством создания линейного градиента хлорида калия 50-100 ммоль/дм³ в элюирующем буфере. Скорость элюции составляла 30-40 см³/ч. Собирали фракции объемом по 2 см³ и использовали для

анализа на активность МДГ. Все процедуры проводили при температуре +4°C.

Субклеточную локализацию фумаратгидратазы определяли с помощью изоплотностного центрифугирования на центрифуге Beckman (США) при 100 000 g 90 мин при 0°C в градиенте плотности сахарозы (50 мМ фосфатный буфер, pH 7.4; 2 мМ ЭДТА; 3 мМ ДТТ; сахароза в концентрациях 2.5 М, 2.3 М, 1.8 М, 1.5 М, 1.3 М). При этом использовали среду выделения следующего состава: 50 мМ фосфатный буфер, pH 7.4; 1 мМ ЭДТА; 3 мМ ДТТ; 0.4 М сахароза. Полученные фракции осторожно собирали пипеткой и разбавляли буфером до концентрации сахарозы 0.4-0.5 М, а затем центрифугировали 30 мин при 12 000 g для осаждения органелл. Полученные осадки разрушали осмотическим шоком (в 50 мМ трис-HCl буфере, pH 7.5).

Активность ФГ определяли спектрофотометрически при длине волны 240 нм в среде спектрофотометрирования, состоящей из 50 мМ фосфатного буфера, pH 7.4 и 5 мМ малата натрия.

Оценку перекрестного загрязнения определяли по активности маркерных ферментов митохондрий (сукцинатдегидрогеназы [15]), пероксисом (каталаза [16]) и цитоплазмы (алкогольдегидрогеназы [17]).

Электрофорез в полиакриламидном геле проводили в неденатурирующих условиях в Tris-глициновом буфере [18]. Время миграции составляло 40 минут. Специфическое окрашивание фумаратгидратазы осуществляли с помощью тетразолиевого метода с вспомогательным ферментом – малатдегидрогеназой. Среда проявления состояла из 50 мМ Tris-HCl-буфера, pH 7,4; 20 мМ фумарата натрия; 3 мМ НАД⁺; 1 Е МДГ; 0,01 М нитросинего тетразолия; Феназинметасульфат добавляли в расчете 10 мг на 15 см³ раствора [19].

Таблица 1. Этапы получения высокоочищенных препаратов малатдегидрогеназы из печени здоровых крыс, (n=5; p≤0,05).

Table 1. Stages of obtaining highly purified malate dehydrogenase preparations from the liver of healthy rats, (n=5; p≤0.05).

Этап	Активность, Е	Концентрация белка, мг	Удельная активность, Е / мг белка	Выход, %	Степень очистки	
Гомогенат	65.21±0.03	165.52±0,08	0.39	100	1	
Высаливание (35-80%)	27.44±0.01	26.71±0.04	1.03	42	2.6	
Гель-фильтрация на сефадексе G-25	25.52±0.07	23.72±0.09	1.08	39	2.8	
Ионообменная хроматография на ДЭАЕ-сефацелле	1	9.13±0.04	0.34±0.06	30.3	14	77.8
	2	13.01±0.05	0.43±0.01	32.5	20	83.3

Денситометрический анализ гелей осуществляли с применением программного обеспечения GelAnalyzer 19.1 (www.gelalyzer.com).

Опыты проводили в пятикратной повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в трех повторностях. Для расчетов достоверности полученных результатов использовали программу Статтех (<https://stattech.ru/>).

Обсуждение результатов

Перед началом эксперимента концентрация глюкозы в крови всех животных находилась в пределах нормы (5.1±0.33 ммоль/дм³). На второй день после инъекции аллоксана в крови крыс группы «Диабет» данный показатель увеличился до 15.4±0.12 ммоль/дм³ и держался в пределах этих значений на протяжении всего времени эксперимента. Подобное увеличение уровня сахара в крови связано с разрушением аллоксаном клеток островков Лангерганса и свидетельствует о развитии экспериментального сахарного диабета. Концентрация глюкозы в крови крыс группы «Норма» колебалась в пределах 4.9-5.5 ммоль/дм³.

Фумаратгидратаза относится к классу лиаз и не является окислительным ферментом, следовательно, не может быть

специфически проявлена в полиакриламидном геле тетразолиевым методом (метод специфического проявления дегидрогеназ). Однако в литературе имеются сведения о том, что данную методику специфического окрашивания можно использовать и для ФГ при добавлении в среду проявления малатдегидрогеназу в качестве вспомогательного фермента [11]. Для чего и была проведена очистка малатдегидрогеназы из печени здоровых крыс. Результаты типичной очистки представлены в таблице 1, из которой видно, что использование в качестве последнего этапа ионообменной хроматографии на ДЭАЕ-сефацелле позволило получить высокоочищенные препараты двух изоферментов МДГ с выходом 14 и 20%, соответственно.

Хроматограмма типичной очистки малатдегидрогеназы представлена на рисунке 1, которая подтверждает, что изоферменты малатдегидрогеназы десорбировались с колонки ДЭАЕ-сефацела при концентрациях хлорида калия 100 и 120 мМ, соответственно.

Для дальнейших исследований использовали препарат МДГ2, так как активность, выход и степень очистки данной изоформы были больше, чем те же

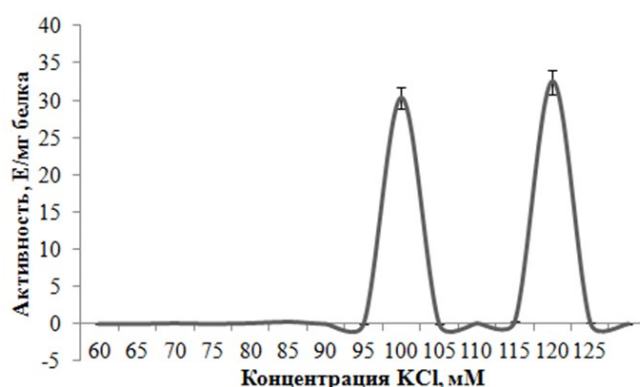


Рис. 1. Типичная хроматограмма ионообменного разделения изоферментов малатдегидрогеназы.

Fig. 1. Typical chromatogram of ion exchange separation of malate dehydrogenase isoenzymes.

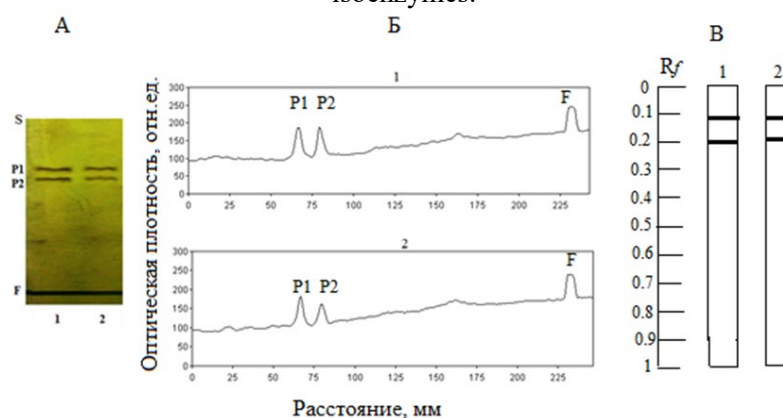


Рис. 2. Специфическое проявление фумаратгидратазы из печени здоровых крыс (2) и животных с аллоксановым диабетом (1). S – линия старта, P1, P2 – белковые полосы; F – лидирующий краситель. А – электрофореграмма. Б – денситограмма. В – рисунок электрофореграммы

Fig. Specific manifestation of fumarate hydratase from the liver of healthy rats (2) and animals with alloxan diabetes (1). S – start line, P1, P2 – protein bands; F – leading dye. A – electrophoregram. B – densitogram, B – drawing of the electrophoregram

показатели у МДГ1. Проведенные электрофоретические исследования с последующим окрашиванием геля тетразолиевым методом показали, что в печени и здоровых крыс, и животных с патологией фумаратгидратаза присутствует в виде двух форм (рис. 2). Результаты денситометрии свидетельствуют об увеличении активности обеих форм фумаратгидратазы в печени крыс с аллоксановым диабетом относительно контрольных животных (рис. 2Б).

Значения R_f для ФГ₁ и ФГ₂ составили 0.12 и 0.20, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют, что развитие сахарного диабета 1 типа, в отличие

от некоторых типов онкологий [3] не связано с блокированием одной из форм ФГ.

Для выяснения субклеточной локализации изоформ фумаратгидратазы было проведено изоплотностное центрифугирование с последующим определением активности ФГ. Результаты представлены в таблице 2, из которой видно, что исследуемый фермент функционирует в цитоплазматической и митохондриальной фракциях. Перекрестное загрязнение составило порядка 4-5%, что считается приемлемым для интерпретации данных.

Полученные результаты по внутриклеточному распределению активности ФГ согласуются с литературными данными. Известно, что митохондриальная форма

Таблица 2. Удельная активность фумаратгидратазы в различных компартментах печени здоровых крыс (Норма) и животных с аллоксановым диабетом (Диабет), $p \leq 0.05$

Table 2. Specific activity of fumarate hydratase in various liver compartments of healthy rats (Norm) and animals with alloxan diabetes (Diabetes), $p \leq 0.05$

Показатель	Норма	Диабет
Активность ФГ в цитоплазме, Е / мг белка	0.31 ± 0.05	0.53 ± 0.03
Активность ФГ в митохондриях, Е / мг белка	0.64 ± 0.07	0.92 ± 0.05
Активность ФГ в пероксисомах, Е / мг белка	-	-

фермента участвует в цикле трикарбоновых кислот [20], а цитоплазматическая утилизирует фумарат, образуемый в орнитинном цикле, а также играет важную роль в катаболизме аминокислот [21, 22].

Заключение

Таким образом, проведение многоступенчатой схемы очистки с использованием ионообменной хроматографии в качестве заключительного этапа, позволило получить высокоочищенные препараты малатдегидрогеназы из печени здоровых крыс с удельной активностью 30.3 и 35.5 Е/мг белка, степенью очистки 77.8 и 83.3 и выходом 14 и 20%, соответственно. Препарат МДГ с наибольшей активностью использовали в качестве вспомогательного фермента для проявления изоформ фумаратгидратазы из печени здоровых крыс и животных с аллоксановым диабетом. Выявлено, что при развитии патологии изменений в изоферментном составе ФГ не наблюдается. Интересно, что ранее нами было показано увеличе-

ние активности фумаратгидратазы в печени крыс с аллоксановым диабетом по сравнению с контролем [23]. Вероятно, активизация фермента происходит за счет усиления работы уже имеющихся форм ФГ. Анализ субклеточной локализации ФГ в печени крыс показал, что ее изоформы функционируют в цитоплазматической и митохондриальной фракциях, причем в условиях аллоксанового диабета наблюдается активизация обеих форм фермента, что, вероятно, связано с ускорением метаболических процессов, в которых участвует фумараза. Однако точные причины ее роста не до конца понятны и требуют более детального изучения.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Yogev O, Naamati A, Pines O. Fumarase: a paradigm of dual targeting and dual localized functions, *FEBS J*, 2011; 278: 4230-4242.
2. Kobayashi K., Tuboi S. End group analysis of the cytosolic and mitochondrial fumarases from rat liver, *J Biochem*, 1983; 94(3): 707-713. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a134410>
3. Tomlinson I.P., Alam N.A., Rowan A.J., Barclay E., Jaeger E.E., Kelsell D., Leigh I., Gorman P., Lamlum H., Rahman S., Roylance R.R., Olpin S., Bevan S., Barker K., Hearle N., Houlston R.S., Kiuru

- M., Lehtonen R., Karhu A., Vilkki S., Laiho P., Eklund C., Vierimaa O., Aittomäki K., Hietala M., Sistonen P., Paetau A., Salovaara R., Herva R., Launonen V., Aaltonen L. A. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer, *Nat Genet*, 2002; 30: 406-410. <https://doi.org/10.1038/ng849>
4. Zheng L., Cardaci S., Jerby L., McKenzie E.D., Sciacovelli M., Johnson T.I., Gaude E., King A., Leach J.D., Edrada-Ebel R., Hedley A., Morrice N.A., Kalna G., Blyth K., Ruppin E., Frezza Ch., Gottlieb E.



- Fumarate induces redox-dependent senescence by modifying glutathione metabolism, *Nat Commun*, 2015; 6: 6001. <https://doi.org/10.1038/ncomms7001>
5. Tuboi S., Suzuki T., Sato M., Yoshida T. Rat liver mitochondrial and cytosolic fumarases with identical amino acid sequences are encoded from a single mRNA with two alternative in-phase AUG initiation sites, *Adv Enzyme Regul*, 1990; 30: 289-304.
6. Yogev O., Yogev O., Singer E., Shaulian E., Goldberg M., Fox T.D., Pines O. Fumarase: a mitochondrial metabolic enzyme and a cytosolic/nuclear component of the DNA damage response, *PLoS Biol*, 2010; 8: e1000328.
7. Ternette N., Yang M., Laroyia M., Kitagawa M., O'Flaherty L., Wolhuter K., Igarashi K., Saito K., Kato K., Fischer R., Berquand A. Kessler B.M., Lappin T., Frizzell N., Soga T., Adam J., Pollard P.J. Inhibition of mitochondrial aconitase by succination in fumarate hydratase deficiency, *Cell Rep*, 2013; 3: 689-700. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.02.013>
8. Eprintsev A.T., Popov V.N., Shevchenko M.Yu. Gliksilatnyj cikl: universal'nyj mekhanizm adaptacii? Moskva, Akademkniga. 2007. 228 p. (In Russ.)
9. Tsou K.-C., Cheng C.-S., NacnlaS M.M., Seligman A.M. Syntheses of some p-nitrophenyl substituted tetrazolium salts as electron acceptors for the demonstration of dehydrogenase, *J. Am. Chem. Soc.*, 1956; 78: 6139.
10. Nisimoto Y., Wilson E., Heyl B.L., Lambeth J.D. NADH dehydrogenase from bovine neutrophil membranes: Purification and properties, *Journal of Biological Chemistry*, 1986; 261(1): 285-290. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42467-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42467-7)
11. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Sazonova O.V., Igamberdiev A.U. Expression and properties of the mitochondrial and cytosolic forms of fumarase in sunflower cotyledons, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018; 129: 305-309
12. Selivanova N.V., Moiseenko A.V., Bakarev M.YU., Eprincev A.T. Ispol'zovanie ionoobmennoj hromatografii na DEAE-cellyuloze dlya razdeleniya izofermentov malatdegidrogenazy iz gepatocitov krysa v norme i pri alloksanovom diabete, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2021; 21(4): 568-576. <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2021.21/3641>
13. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, 2008; 51(2): 216-226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
14. Selemenev V.F., Hohlov V.YU., Bobreshova O.V., Aristov I.V. i dr. Fiziko-himicheskie osnovy sorbtsionnyh i membrannyh metodov vydeleniya i razdeleniya aminokislot. M. Stelajt. 2002. 299 p. (In Russ.)
15. Eprincev A. T., Fedorin D. N., Selivanova N. V., Vu T. L., Mahmud A. S., Popov V. N. Rol' metilirovaniya promotorov v regulyacii genov sukcinatdegidrogenazy v prorostkah kukuruzy, *Fiziol. Rast*; 2012; 59(3): 332-340. (In Russ.)
16. Nadeem M.S., Khan J.A., Murtaza B.N., Muhammad Kh., Rauf A. Purification and Properties of Liver Catalase from Water Buffalo (*Bubalus bubalis*), *South Asian Journal of Life Sciences*, 2015; 3(2): 51-55. <https://doi.org/10.14737/JOUR-NAL.SAJLS/2015/3.2.51.55>
17. Jelski W., Laniewska-Dunaj M., Orywal K., Kochanowicz J., Rutkowski R., Szmitkowski M. The Activity of Alcohol Dehydrogenase (ADH) Isoenzymes and Aldehyde Dehydrogenase (ALDH) in the Sera of Patients with Brain Cancer, *NeurochemRes*, 2014; 39: 2313-2318. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1402-3>
18. Williams D.E., Reisfeld R.A., Disc electrophoresis in polyacrylamide gels: extension to new conditions of ph and buffer, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1964; 121(2): 372-381. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1964.tb14210.x>



19. Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Starinina E.V., Igamberdiev A.U. Expression and properties of the mitochondrial and cytosolic forms of fumarase in germinating maize seeds. *Physiologia Plantarum*, 2014; 152: 231-240. <https://doi.org/10.1111/ppl.12181>

20. Tuboi S., Suzuki T., Sato M., Yoshida T. Rat liver mitochondrial and cytosolic fumarases with identical amino acid sequences are encoded from a single mRNA with two alternative in-phase AUG initiation sites, *Adv Enzyme Regul*, 1990; 30: 289-304.

21. Ratner S., Anslow W. P., Jr, Petrack B. Biosynthesis of urea. VI. Enzymatic

cleavage of argininosuccinic acid to arginine and fumaric acid, *J Biol Chem*, 1953; 204: 115-125.

22. Ravdin R. G., Crandall D. I. The enzymatic conversion of homogentisic acid to 4-fumarylacetoacetic acid, *J Biol Chem*, 1951; 189: 137-149.

23. Anichkina A.G., Alekseeva E.R., Gabrielyan N.G., Kulikova M.A., Perova S.A., Kalikina A.M. Aktivnost' akonitatgidratazy i fumaratgidratazy v pecheni krysa pri alloksanovom diabete, *Organizaciya i regulyaciya fiziologo-biohimicheskikh processov*, 2022; 24: 30-33. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Н.В. Селиванова – к.б.н., доцент кафедры биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

М.Ю. Бакарев – аспирант кафедры биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Д.С. Быстрова – магистрант кафедры биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

А.Т. Епринцев – д.б.н., проф., зав. кафедрой биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

N.V. Selivanova – Ph.D of Biology, docent of Department of Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: kir2202@yandex.ru

M.Yu. Bakarev – graduate student of Department of Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: max15111@mail.ru

D.S. Bystrova – Master's student of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: bc366@bio.vsu.ru

A.T. Eprintsev – Doctor of Biology, head of Department of Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Статья поступила в редакцию 09.01.2023; одобрена после рецензирования 22.02.2023; принята к публикации 1.03.2023.

The article was submitted 09.01.2023; approved after reviewing 22.02.2023; accepted for publication 1.03.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 54.057:577.325

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11323

Разработка гибридных биокатализаторов на основе комплексов фицина и папаина с сульфатом хитозана и изучение их структурных особенностей

Юлия Александровна Редько¹, Светлана Сергеевна Гончарова¹,
Мария Сергеевна Лавлинская^{1,2}, Андрей Викторович Сорокин^{1,2},
Николай Евгеньевич Юдин¹, Максим Сергеевич Кондратьев^{1,3},
Марина Геннадьевна Холявка^{1,4}✉, Валерий Григорьевич Артюхов¹

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, holyavka@rambler.ru✉

²Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

³Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пушкино, Россия

⁴Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

Аннотация. Фицин и папаин – протеолитические ферменты растительного происхождения, применяемые в биомедицине и промышленности. Растворимые формы ферментов имеют ряд недостатков, например, быстрая инактивация, микробная деградация, автолиз и другие. Благодаря иммобилизации энзимов на полисахаридах можно исключить названные проблемы.

В связи с вышесказанным, цель исследования заключалась в разработке методики получения комплексов фицина и папаина с сульфатом хитозана с различными молекулярными массами и изучении их структурных особенностей

Проведен синтез сульфата хитозана с различными значениями молекулярных масс: 200, 350 и 600 кДа. Разработана методика комплексообразования фицина и папаина с сульфатом хитозана. Исследование содержания белка в иммобилизованных препаратах фицина и папаина проводили по методу Лоури, протеазную активность образцов определяли по скорости гидролиза субстрата – азоказеина.

Из анализа результатов экспериментов *in silico* вытекает, что взаимодействие фицина и папаина с сульфатом хитозана обусловлено образованием водородных связей между компонентами, а также электростатическими и гидрофобными взаимодействиями. Связи и взаимодействия с сульфатом хитозана образуются, в том числе, с участием аминокислотных остатков, образующих активный центр энзимов (Cys25 и His162 для фицина, Cys25 и His159 для папаина) или находящихся в непосредственной близости от них.

Выявлено, что оптимальное соотношение таких параметров, как содержание белка (в мг на г носителя) и общей активности (в ед. на мл раствора) полученных комплексов фицина и папаина, наблюдается при их взаимодействии с носителем, молекулярная масса которого составляет 600 кДа.

Предложенный подход открывает широкие перспективы для его внедрения в практику иммобилизации протеиназ благодаря предсказанию структурных особенностей биокатализатора на основе *in silico* расчетов, не требующих использования дорогостоящих реактивов.

Ключевые слова: фицин, папаин, сульфат хитозана, иммобилизация, комплексообразование, протеазная активность.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, номер гранта МК-2517.2022.1.3.(синтез носителя и его комплексообразование с ферментами), и Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009 (молекулярный докинг)



Для цитирования: Редько Ю.А., Гончарова С.С., Лавлинская М.С., Сорокин А.В., Юдин Н.Е., Кондратьев М.С., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Разработка гибридных биокатализаторов на основе комплексов фицина и папаина с сульфатом хитозана и изучение их структурных особенностей // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 3. С. 435-443. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11323>

Original article

Development of the hybrid biocatalysts based on ficin and papain complexes with chitosan sulfate and the study of their structural features

Yulia A. Redko¹, Svetlana S. Goncharova¹, Maria S. Lavlinskaya^{1,2},
Andrey V. Sorokin^{1,2}, Nikolay E. Yudin¹, Maxim S. Kondratyev^{1,3},
Marina G. Holyavka^{1,4}✉, Valeriy G. Artyukhov¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, holyavka@rambler.ru✉

²Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation

³Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation

⁴Sevastopol State University, Sevastopol, Russian Federation

Abstract. Ficin and papain are proteolytic enzymes of plant origin used in biomedicine and industry. Soluble forms of enzymes have several disadvantages, such as rapid inactivation, microbial degradation, autolysis, etc. Immobilization of enzymes on polysaccharides can exclude these problems.

In connection with the above, the purpose of the study was to develop a technique for the complexation of ficin and papain with sulfate chitosan with different molecular weights and to study their structural features.

Sulfate chitosan with different molecular weights (200, 350, and 600 kDa) was successfully obtained. A technique for the complexation of ficin and papain with sulfate chitosan has been proposed. The protein content in the immobilized formulations of ficin and papain was estimated by the Lowry method; the protease activity of the samples was evaluated on the substrate azocasein.

It was shown by *in silico* experiments that the interaction of ficin and papain with sulfate chitosan is due to electrostatic and hydrophobic interactions, as well as the formation of hydrogen bonds between the components. Bonds and interactions with sulfate chitosan are also formed with the participation of amino acid residues forming the active site of the enzymes (Cys25 and His162 for ficin, Cys25 and His159 for papain) and near-locating ones.

It was found that the optimal ratio of protein content (mg per g of carrier), total activity (in units per mL of solution) is achieved for ficin and papain complexes with sulfate chitosan with a molecular weight of 600 kDa. The proposed approach has broad prospects for practical use in the field of proteinase immobilization due to the prediction of the structural features of the biocatalyst based on *in silico* simulations that do not require the use of expensive reagents.

Keywords: ficin, papain, sulfate chitosan, immobilization, complexation, protease activity.

Acknowledgments: the work is partially funded by the Council on Grants of the President of the Russian Federation for State Support to Young Russian scientists – Candidates of Sciences, Grant number is MK-2517.2022.1.3 (sulfate chitosan synthesis with ficin and papain complexation), and partially funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the state task for universities in the field of scientific activity for 2023-2025, project No. № FZGU-2022-0009 (molecular docking).

For citation: Redko Yu.A., Goncharova S.S., Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V., Yudin N.E., Kondratyev M.S., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. Development of the hybrid biocatalysts obtaining based on ficin and papain complexes with chitosan sulfate and the study of their structural features. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(3): 435-443. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11323>

Введение

Цистеиновые протеазы – семейство гидролаз, объединенных тем фактом, что в их активном центре, расщепляющем

пептидные связи, содержится остаток серосодержащей аминокислоты – цистеина. Эти ферменты широко распространены в природе и принимают участие в



процессах жизнедеятельности представителей всех таксонов живых организмов [1]. Учитывая этот факт, цистеиновые протеазы нашли эффективное применение в различных областях практической деятельности человека, среди которых особо следует выделить биотехнологии [2, 3], косметологию [4], фармацию [5, 6], медицину [7, 8] и пищевую промышленность [9].

Папаин (КФ 3.4.22.2) и фицин (КФ 3.4.22.3) являются перспективными для фармации ферментами. Папаин получают из латекса папайи *Carica papaya*. Он стабилен при высоких температурах и активен в диапазоне рН 3.0-9.0. Изoeлектрическая точка равна 8.75 [10]. Папаин обладает противовоспалительными и антимикробными свойствами, так как гидролизует токсиканты белковой природы в области воспалений. Кроме того, фермент обладает стимулирующим действием по отношению к метаболизму и регенерации тканей, а также способствует проникновению других лекарственных средств через кожные покровы без нарушения целостности здоровых тканей [11, 12].

Фицин – протеолитический фермент, выделяемый из латекса инжира *Ficus carica*. Фицин, как и папаин, активен в широком диапазоне значений рН среды. Изoeлектрическая точка составляет 9.0. Характеризуется довольно высокой термической стабильностью: температура инактивации составляет порядка 80°C, а оптимум активности приходится на диапазон 60-65°C [13]. Фицин способен к гидролизу многих типов белков и обладает противовирусными свойствами [14].

Многие энзимы часто характеризуются низкой устойчивостью к действию различных денатурирующих факторов, в связи с чем для стабилизации их активности целесообразно иммобилизовать молекулы энзимов на матрице полимеров [16, 17]. Идеальные носители, применяемые для иммобилизации биокатализато-

ров, должны отвечать следующим условиям: стабильность и прочность в условиях эксплуатации, отсутствие неспецифических взаимодействий, приводящих к конформационным изменениям глобул энзимов, а также доступность реакционных центров для вступления в реакции активации. Все вышеперечисленные особенности характерны для хитозана и его сульфатированных производных [18]. Анализ литературных данных показывает, что взаимодействие ферментов с хитозаном приводит к повышению их термостабильности и резистентности к воздействию микроорганизмов [19].

Сульфат хитозана – один из его структурных аналогов, в котором сульфатная группа может быть присоединена непосредственно к аминокгруппе хитозана [20]. Сульфат хитозана – полисахарид, в макромолекулах которого содержатся сульфатные- и аминокгруппы. Помимо всех вышеперечисленных свойств хитозана, которые присущи и сульфату хитозана, полисахарид обладает антикоагулянтной активностью, возрастающей при увеличении степени сульфатирования, а также резко снижает интенсивность деления раковых клеток. Хитозан и его сульфатированные формы обладают антиоксидантным действием, эффективность которого сопоставима с фенольными антиоксидантами, но по сравнению с последними, хитозан и его производные имеют преимущество из-за их нетоксичной природы [21]. Данные полимеры нашли широкое применение в медицине и фармакологии благодаря их низкой стоимости, доступности, нетоксичности, неиммуногенности, биodeградируемости, антибактериальной и противогрибковой активности, биоразлагаемости, выраженным адгезивным свойствам, биосовместимости, влиянию на процессы регенерации поврежденных кожных покровов [22]. Однако механизмы формирования комплексов сульфата хитозана с различными белками мало изучены.

Таблица 1. Аминокислотные остатки фицина и папаина, которые формируют связи и взаимодействия с сульфатом хитозана в процессе комплексообразования
Table 1. Amino acid residues of ficin and papain, which form bonds and interactions with chitosan sulfate during the complexation between them

Аминокислотные остатки, формирующие	
водородные связи и длина связи, Å	иные типы взаимодействий
Аминокислоты фицина, которые образуют связи и взаимодействия с сульфатом хитозана	
Asn18, 2.71 Å; Gly20, 3.08 и 3.06 Å; Ser66, 2.70 Å; Gly68, 2.93 и 2.98 Å; Glu145, 2.96 и 3.04 Å; Asp161, 3.07 Å; His162, 3.23 Å; Trp184, 3.16 Å	Gln19, Cys22, Gly23, Tyr60, Cys65, Gly67, Trp69, Trp188
Аминокислоты папаина, которые образуют связи и взаимодействия с сульфатом хитозана	
Gly20, 2.73 Å; Cys22, 3.06 Å; Cys25, 2.89 Å; Cys63, 2.91 Å; Gly66, 2.87 и 3.13 Å; Gln142, 2.88 Å	Asn18, Ser21, Gly23, Asn64, Gly65, Ala136, Val157, Asp158, Trp177

В связи с вышесказанным, целью проведенного исследования являлась разработка методики получения комплексов фицина и папаина с сульфатом хитозана и изучение их структурных особенностей.

Экспериментальная часть

Объектами исследования выступали фицин, выделенный из *Ficus carica*, папаин, полученный из *Carica papaya* (Sigma, США), в экспериментах по определению протеолитической активности в качестве субстрата для гидролиза использовали азоказеин (Sigma, США), для синтеза сульфата хитозана применяли хитозан со средней молекулярной массой 200, 350 и 600 кДа и степенью деацетилирования 0.85 (Биопрогресс, Россия).

Получение сульфата хитозана осуществляли по следующей методике: для приготовления сульфата хитозана 5.0 г хитозана растворяли в 500 см³ 2 мас./об. водного раствора уксусной кислоты, затем 20 см³ 10 % масс. водного раствора серной кислоты и выдерживали при перемешивании в течение 24 ч при 25±2°C. Образовавшийся гель помещали в ацетон

на 5 суток, трижды промывали метанолом и сушили в вакуумной шкафу при 55±2°C до постоянной массы. Выход продукта находился в диапазоне 85-96%.

Иммобилизацию фицина и папаина на матрице сульфата хитозана осуществляли путем комплексообразования, согласно [23].

Подготовку структуры фицина и папаина [23] для докинга выполняли по стандартной для Autodock Vina схеме. Модель структуры сульфата хитозана была нарисована в молекулярном конструкторе HyperChem, последовательно оптимизирована сначала в силовом поле AMBER, а потом квантово-химически – в PM3. Расстановка зарядов на молекуле полисахарида и ее протонирование/депротонирование осуществлялись автоматически в пакете MGLTools 1.5.6.

Содержание белка в комплексных препаратах фицина и папаина определяли методом Лоури [24]. Анализ протеолитической активности комплексов проводили по отношению к субстрату азоказеину [25]. Рассчитанные величины характеризовались нормальным распределе-

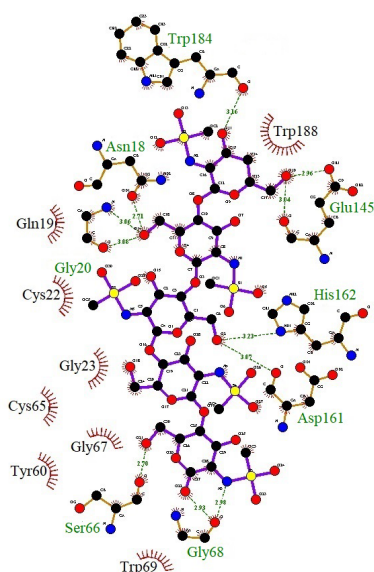


Рис. 1. Связи и взаимодействия между фицином и сульфатом хитозана (пунктирными линиями обозначены водородные связи, длина связей приведена в Å).
 Fig. 1. Bonds and interactions between ficin and chitosan sulfate (dotted lines indicate hydrogen bonds, the length of the bonds is given in Å).

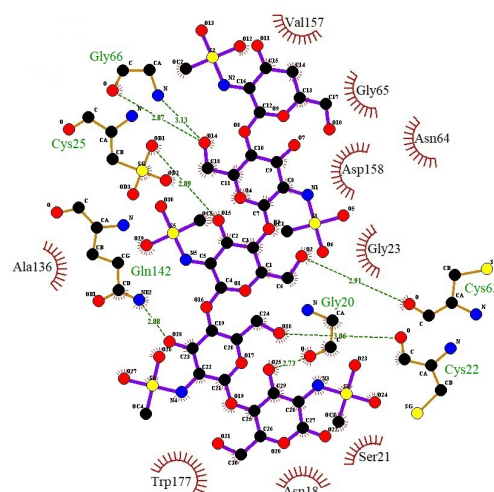


Рис. 2. Связи и взаимодействия между папаином и сульфатом хитозана (пунктирными линиями обозначены водородные связи, длина связей приведена в Å).
 Fig. 2. Bonds and interactions between papain and chitosan sulfate (dotted lines indicate hydrogen bonds, the length of the bonds is given in Å).

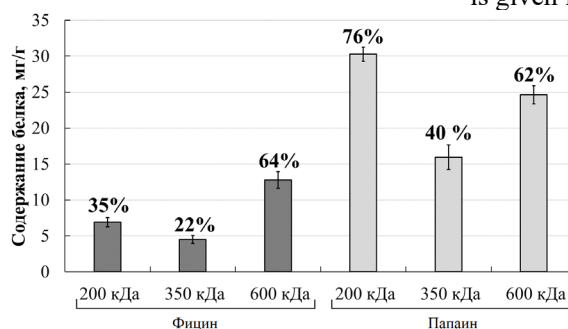


Рис. 3. Содержание белка (в мг/г носителя) в комплексах фицина и папаина с сульфатом хитозана. Отдельно указана эффективность комплексообразования фицина и папаина (по содержанию белка), выраженная в процентах сорбированного фермента от его количества в растворе в процессе комплексообразования, принятого за 100%.

Fig. 3. Protein content (in mg/g of carrier) in complexes of ficin and papain with chitosan sulfate. The effectiveness of the complexation of ficin and papain (in terms of protein content) is indicated above bars, expressed as a percentage of the sorbed enzyme from its amount in solution during complexation, taken as 100%.

нием, поэтому для их статистической обработки применяли *t*-критерий Стьюдента ($p < 0.05$).

Обсуждение результатов

В результате осуществленного *in silico* исследования были выявлены типы химических связей и физических взаимо-

действий, аминокислотный состав поверхностей молекул фицина и папаина, которые в процессе комплексообразования взаимодействуют с носителем, а также энергетическая характеристика процесса первого взаимодействия – аффинность связывания (табл. 1, рис. 1-2).

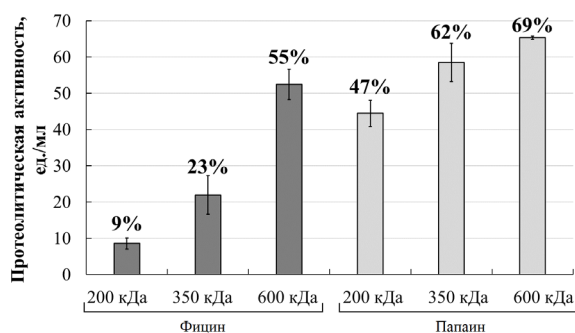


Рис. 4. Общая каталитическая активность (ед./мл раствора) комплексов фичина и папаина с сульфатом хитозана. Отдельно указана эффективность комплексообразования фичина и папаина (по общей каталитической активности), выраженная в процентах сохранения протеолитической активности фермента после иммобилизации по отношению к активности фичина и папаина в растворе, принятой за 100 %.

Fig. 4. Total catalytic activity (units/mL of solution) of complexes of ficin and papain with chitosan sulfate. The efficiency of the complexation of ficin and papain (by total catalytic activity) is indicated above the bar, expressed as a percentage of the preservation of the proteolytic activity of the enzyme after immobilization in relation to the activity of ficin and papain in solution, taken as 100%.

Из полученных данных видно, что образование комплексов исследуемых ферментов с сульфатом хитозана происходит, в том числе, с участием аминокислотных остатков, формирующих активные центры энзимов (Cys25 и His162 для фичина, Cys25 и His159 для папаина) или расположенных в непосредственной близости от них, что оказывает влияние на каталитическую активность целевых препаратов. Энергия первого взаимодействия (аффинность связывания) фичина и папаина с сульфатом хитозана составила -8.0 и -7.1 ккал/моль, соответственно, что указывает на самопроизвольное протекание процессов.

В ходе анализа содержания белка в полученных гибридных препаратах, выявлено, что наибольшее количество фичина содержится в комплексах с сульфатом хитозана с молекулярной массой 600 кДа. Для папаина наблюдается более сложная картина: содержание фермента максимально в комплексах с носителем с молекулярными массами 200 и 600 кДа (рис. 3). Наибольшая протеолитическая активность фичина достигается в результате его взаимодействия с сульфатом хитозана с молекулярной массой 600 кДа, для папаина – при его комплексообразовании

с сульфатом хитозана с молекулярными массами 350 и 600 кДа (рис. 4).

Оптимальное соотношение содержания белка и общей протеолитической активности комплексов фичина и папаина с сульфатом хитозана наблюдается при использовании носителя с молекулярной массой 600 кДа.

Заклучение

Таким образом, нами предложена методика иммобилизации фичина и папаина путем комплексообразования с сульфатом хитозана с различными величинами молекулярных масс (200, 350 и 600 кДа). Оптимальное значение соотношения содержания белка (в мг на г носителя) и общей активности (в ед. на мл раствора) полученных комплексов наблюдается при использовании носителя с молекулярной массой 600 кДа.

Благодаря сохранению относительно высокого процента каталитической активности, полученные гибридные препараты фичина и папаина с сульфатом хитозана могут стать основой для создания инновационных лекарственных средств, сочетающих в себе антибактериальное, антитромбическое и противовирусное действия.



Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые

Список литературы/References

1. Salvesen G.S., Hempel A., Coll N.S., Protease signaling in animal and plant-regulated cell death, *FEBS Journal*, 2015; 283: 2577-2598. <https://doi.org/10.1111/febs.13616>

2. Silva M.Z.R., Oliveira J.P.B., Ramos M.V., Farias D.F., de Sa Ch. A., Ribeiro J.A.C., Silva A.F.B., Sousa J.S., Zambelli R.A., Silva A.C., Furtado G.P., Grangeiro Th.B., Vasconcelos M.S., Silveira S.R., Freitas C.D.T., Biotechnological potential of a cysteine protease (CpCP3) from *Calotropis procera* latex for cheesemaking, *Food Chemistry*, 2020; 307: 125574. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125574>

3. Holyavka M., Faizullin D., Koroleva V., Olshannikova S., Zakhartchenko N., Zuev Yu., Kondratyev M., Zakharova E., Artyukhov V., Novel biotechnological formulations of cysteine proteases, immobilized on chitosan. Structure, stability and activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021; 180: 161-176. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.016>

4. Secchi G., Role of protein in cosmetics, *Clinics in Dermatology*, 2008; 26: 321-325. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.04.004>

5. Baidamshina D.R., Koroleva V.A., Trizna E.Yu., Pankova S.M., Agafonova M.N., Chirkova M.N., Vasileva O.S., Akhmetov N., Shubina V.V., Porfiryev A.G., Semenova E.V., Sachenkov O.A., Bogachev M.I., Artyukhov V.G., Baltina T.V., Holyavka M.G., Kayumova A.R., Anti-biofilm and wound-healing activity of chitosan-immobilized Ficin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020; 164: 4205-4217. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.030>

могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

6. McKerrow J.H., The diverse roles of cysteine proteases in parasites and their suitability as drug targets, *PLoS Negl Trop Dis*, 2018; 12: e0005639. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005639>

7. Ariizumi T., Murata Sh., Fujisawa S., Isezaki M., Sato T., Oishi E., Taneno A., Ichii O., Maekawa N., Okagawa T., Konnai S., Ohashi K., In vitro evaluation of a cysteine protease from poultry red mites, *Dermanyssus gallinae*, as a vaccine antigen for chickens, *Poultry Science*, 2022;101:101638. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101638>

8. Baidamshina D.R., Koroleva V.A., Olshannikova S.S., Trizna E.Yu., Bogachev M.I., Artyukhov V.G., Holyavka M.G., Kayumov A.R., Biochemical properties and anti-biofilm activity of chitosan-immobilized papain, *Marine Drugs*, 2021; 19: 197. <https://doi.org/10.3390/md19040197>

9. Gagaoua M., Dib A.L., Lakhdara N., Lamri M., Botinestean Ch., Lorenzo J.M., Artificial meat tenderization using plant cysteine proteases, *Current Opinion in Food Science*, 2021; 38: 177-188. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.002>

10. Kong Y.R., Jong Y.X., Balakrishnan M., Bok Z.K., Weng J.K.K., Tay K.C., Goh B.H., Ong Y.S., Chan K.G., Lee L.H., Khaw K.Y., Beneficial Role of *Carica papaya* Extracts and Phytochemicals on Oxidative Stress and Related Diseases: A Mini Review, *Biology*, 2021; 10: 287-307. <https://doi.org/10.3390/biology10040287>

11. Armutcu C., Çorman M. E., Bayram E., Uzun L., Purification of Fab and Fc using papain immobilized cryogel bioreactor separator system, *Journal of Chromatography*, 2020; 1158: 122396. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122396>

12. Ol'shannikova S. S., Red'ko Yu. A., Lavlinskaya M. S., Sorokin A. V., Holyavka M. G., Artyukhov V. G., Preparation of papain complexes with chitosan microparticles



- and evaluation of their stability using the enzyme activity level, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022; 55(11): 1240-1244. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02564-8>
13. Morellon-Sterling R., El-Siar H., Tavano O.L. Berenguer-Murcia A., Fernández-Lafuente R., *Ficin*: A protease extract with relevance in biotechnology and biocatalysis, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020; 162: 394-404. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.144>
14. Poltronieri P., Plant Immunity and pathogen interfering mechanisms: effectors and bodyguards, *International Journal of Plant Research*, 2017; 7: 21-28. <https://doi.org/10.5923/j.plant.20170701.04>
15. Kaur N., Bhardwaj P., Singh G., Arya S.K., Applicative Insights on Nascent Role of Biochar Production, Tailoring and Immobilization in Enzyme Industry -A Review, *Process Biochem.*, 2021; 107: 153-163. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.05.017>
16. Das R., Dwevedi A., Kayastha A.M., Chapter 1 – Current and future trends on polymer-based enzyme immobilization. In *Polymeric Supports for Enzyme Immobilization* ed. by A. Dwevedi. London, Academic Press, 2021; pp. 1-25. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819206-1.00004-1>
17. Kou Sh., Peters L., Mucalo M., Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms, *Carbohydr. Polym.*, 2022; 282: 119132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119132>
18. Sorokin A., Lavlinskaya M., Synthesis of the superabsorbents enriched in chitosan derivatives with excellent water absorption properties, *Polymer Bulletin*, 2022; 79: 407-427. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03521-9>
19. Banshee P. S., Selvakumara D., Kadirvelub K., Kumara N. S., Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020; 150: 1072-1083. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>
20. Huang R., Mendis E., Kim Se-Kwon, Factors affecting the free radical scavenging behavior of chitosan sulfate, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005; 36: 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.05.001>
21. Hu B., Guo Yu., Li H., Liu X., Fu Yu., Ding F., Recent advances in chitosan-based layer-by-layer biomaterials and their biomedical applications, *Carbohydr. Polym.*, 2021; 271(118427): 17 p. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118427>
22. Khalid A.K., Alamry A., Recent advances of emerging green chitosan-based biomaterials with potential biomedical applications: A review, *Carbohydr. Res.*, 2021; 506: 108368. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2021.108368>
23. Kasai M. R., Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscosimetric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscosimetric constants data, *Carbohydr. Polym.*, 2007; 68: 477-488. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.11.006>
24. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Faar A.L., Randall R.J., Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951; 193: 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
25. Sabirova A.R., Rudakova N.L., Balaban N.P., Ilyinskaya O.N., Demidyuk I.V., Kostrov S.V., Rudenskaya G.N., Sharipova M.R., A novel secreted metzincin metalloproteinase from *Bacillus intermedius*, *FEBS Lett.*, 2010; 584 (21): 4419-4425. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.09.049>



Информация об авторах / Information about the authors

Ю.А. Редько – магистрант кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

С.С. Гончарова – младший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

М.С. Лавлинская – к.х.н., старший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; старший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

А.В. Сорокин – аспирант кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, Воронеж; младший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Н.Е. Юдин – магистрант 2го года обучения кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

М.С. Кондратьев – к.ф.-м.н., зав. лабораторией структуры и динамики биомолекулярных систем, Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пушкино, Россия

М.Г. Холявка – д.б.н., профессор кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета, Севастополь

В.Г. Артюхов – д.б.н., профессор, зав. кафедрой биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Yu.A. Redko – master student, department of biophysics and biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

S.S. Goncharova – Junior Researcher, department of biophysics and biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: Olshannikovas@gmail.com

M.S. Lavlinskaya – PhD (Chem), Senior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Senior Researcher of Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation, e-mail: maria.lavlinskaya@gmail.com

A.V. Sorokin – postgraduate student, department of department of Macromolecular Compounds and Colloidal Chemistry, Voronezh State University, Voronezh; Junior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Junior Researcher of Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation, e-mail: andrew.v.sorokin@gmail.com

N.E. Yudin – master student, department of polymer science and colloid chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

M.S. Kondratiev – Ph.D. (physical and mathematical sciences), Head of the Laboratory of Structure and Dynamics of Biomolecular Systems, Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation

M.G. Holyavka – Doctor (biology), professor, department of biophysics and biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Professor of Physics Department, Sevastopol State University, Sevastopol, Russian Federation, e-mail: holyavka@rambler.ru

V.G. Artyukhov – Doctor (biology), professor, Head of the Biophysics and Biotechnology Department, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Статья поступила в редакцию 14.02.2023; одобрена после рецензирования 19.04.2023; принята к публикации 03.05.2023.

The article was submitted 14.02.2023; approved after reviewing 19.04.2023; accepted for publication 03.05.2023.

Памяти профессора Яшина Якова Ивановича



(30.07.1936 – 11.07.2023)

11 июля отечественная хроматография понесла невосполнимую утрату – на 87 году жизни скончался Яков Иванович Яшин – советский и российский физико-химик, доктор химических наук, профессор, крупнейший отечественный специалист в области хроматографии, лауреат Государственной премии СССР и Государственной премии РСФСР, кавалер ордена Дружбы Народов. Яков Иванович за разработки в области хроматографии награждён медалями: золотой, серебряной и бронзовой ВДНХ СССР, медалью «За доблестный труд», медалью «За трудовую доблесть», медалью «Изобретатель СССР», медалью Научного совета АН СССР по хроматографии «За развитие хроматографии», медалью «Ветеран труда», почетной медалью им. М.С. Цвета «За заслуги в развитии хроматографии», золотой медалью «Лауреат ВВЦ» за разработку хроматографа «Цвет Яуза-01-АА», серебряной медалью «За трудовые заслуги», дважды удостоен звания «Отличник химической промышленности»; удостоен около 20

других наград за разработки и внедрения хроматографов, хроматографических методов и публикации. Под научным руководством Якова Ивановича были подготовлены и защищены 12 диссертационных работ.

Научные направления, которые развивал Я.И. Яшин: теоретические и практические вопросы газовой, жидкостной, в частности ионной, хроматографии, хроматографическое приборостроение. Разработаны физико-химические основы газо-адсорбционной, газовой адсорбционно-адсорбционной и адсорбционной жидкостной хроматографии. Исследовано влияние химической природы поверхности и геометрической структуры адсорбентов на селективность разделения (для кремнеземных, полимерных и углеродных адсорбентов). Разработаны некоторые методы модифицирования поверхности адсорбентов. Исследовалась связь структуры молекул с параметрами удерживания для изотопозамещённых (дейтерированных), фторированных, металлоорганических, элементоорганических соединений, а также для изомеров положения (*орто*-, *мета*- и *пара*-), *цис*- и *транс*-изомеров. Оценены возможности применения хроматографических методов для физико-химических исследований, включая исследования межмолекулярных взаимодействий. Разработаны хроматографические методики для контроля разнообразных аналитов в химической, нефтехимической, газовой и пищевой промышленности, для контроля загрязнения окружающей среды, пищевых продуктов, лекарств, а также для ранней диагностики заболеваний. Показаны новые возможности исследования природных фенольных соединений – антиоксидантов в лекарственных формах, напитках, БАДах методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием. Разработан и запатентован способ общей оценки антиоксидантной активности разных природных смесей. Другое направление – руководство, участие в разработке и организации производства и внедрения хроматографической аппаратуры (жидкостных, ионных, газовых хроматографов как промышленных, так и лабораторных стационарных и портативных), а также разнообразного вспомогательного оборудования, расширяющего аналитические возможности хроматографов (разработано более 100 моделей хроматографов, произведено и внедрено более 35 тыс.). Основные научные интересы Я.И. Яшина были связаны с разработкой хроматографической аппаратуры, разработкой сорбентов, теоретическими и методическими вопросами газовой, жидкостной и ионной хроматографии.



Выпускник химического факультета Горьковского (ныне Нижегородского) Государственного университета им. Н.И. Лобачевского, хроматографическую биографию Яшин начал в Институте химии в лаборатории по хроматографии, возглавляемой одним из пионеров отечественной хроматографии Д.А. Вяхиревым. Освоив основы хроматографии, был направлен в начале 1959 г. в Дзержинск, связав дальнейшую судьбу с Дзержинским филиалом ОКБА НПО «Химавтоматика» (ДОКБА). За считанные месяцы разработанный Яшиным под руководством главного конструктора ДОКБА В.И. Калмановского пламенно-ионизационный детектор был запущен в серию, а Яков Иванович был назначен ведущим инженером. Автономные детекторы ДИП-1 и ДИП-2 несколько лет серийно выпускались в ДОКБА. В 1962 г. Яшин назначен начальником отдела хроматографии, тогда же был разработан первый серийный газовый хроматограф Цвет-1 с этим типом детектора. В 1965 г. в МГУ была защищена кандидатская диссертация «Влияние геометрии и химии поверхности адсорбентов на газо-хроматографическое разделение» под руководством пионера отечественной хроматографии А.В. Киселева. Как часто отмечал Яков Иванович, ДОКБА был организован «по типу зарубежных фирм – от идеи, разработки, освоения серийного выпуска и внедрения – все проходило под одной крышей». Были организованы лаборатории по разработке методик и сорбентов, все приборы сразу испытывались и внедрялись в различные отрасли народного хозяйства специалистами ДОКБА. С 1970 г. Яков Иванович возглавлял хроматографическое направление (одно из трех, которые развивал ДОКБА), руководил коллективом в 120 человек. В 1975 г. Я.И. Яшин в МГУ защитил докторскую диссертацию «Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография». В 1976 г. вышла его монография «Физико-химические основы хроматографического разделения».

ДОКБА занимал лидирующие позиции по хроматографическому приборостроению в СССР, выпускал до 1000 хроматографов в год, но потребность страны в хроматографах была такова, что потребителям приходилось ожидать заказ до 2-х лет. С участием и под руководством Якова Ивановича было разработано около 90 моделей приборов: аналоговые газовые хроматографы Цвет-1-6, ба, блочно-модульные Цвет-100 (более 20 модификаций), Цвет-130, Цвет-150, Цвет-160, цифровые хроматографы Цвет-500, специализированные газовые хроматографы Геохимик, Луч-1, Луч-2, Луч-3, газовые хроматографы для физико-химических исследований Цвет-211, Цвет-212; жидкостные хроматографы Цвет-301–306, Цвет-3000, Цвет-3002, Цвет-404, ХПЖ-1, ионные хроматографы Цвет-3006, Цвет-3007 и ХПИ-1. В начале 2000 гг. под руководством Я.И. Яшина уже в НПО «Химавтоматика» в Москве в качестве директора научно-технического центра «Хроматография» были разработаны 6 моделей жидкостных хроматографов «Цвет Яуза», газовые хроматографы Яуза-100 и Яуза-200. Всего было произведено и внедрено в разные отрасли промышленности, науки и техники более 30 тысяч хроматографов. Хроматографы были настолько надежными, что работали в среднем 25 лет, а некоторые из них работают до сих пор.

Яков Иванович на протяжении 40 лет вел широкую педагогическую работу в рамках курсов повышения квалификации в Дзержинском институте подготовки и переквалификации кадров (ИППК) на кафедре хроматографии. Слушателями этих курсов были более 9 тысяч специалистов.

В последние двадцать лет Яков Иванович уделял значительное внимание применению, в основном, жидкостной хроматографии в ранней диагностике опасных заболеваний в медицине, контроле качества и безопасности пищевых продуктов, контроле загрязнений окружающей среды. Так им был предложен и запатентован метод, разработан прибор для определения суммарного содержания антиоксидантов (ССА) в пищевых продуктах и напитках. Под его руководством проводились исследования по определению антиоксидантов, регулярно готовились детальные обзоры и монографии по данной тематике.

Я.И. Яшин автор более 650 научных работ, в том числе более 30 книг и сборников и 42 изобретений и патентов. Две книги в соавторстве с Киселевым А.В. («Газо-адсорбционная хроматография», 1967 г. и «Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография», 1979 г.) переведены и изданы в США, Германии, Франции, Польше, Чехии. В свое время эти книги по цитируемости занимали первое место среди зарубежной и отечественной литературы по



газовой хроматографии. Яков Иванович был идейным вдохновителем и основным составителем монографии «Отечественная хроматография от открытия до наших дней (к 150-летию со дня рождения М.С. Цвета)», которая выйдет в свет в этом году.

Яков Иванович с 1964 по 2009 гг. был членом Научного совета по хроматографии АН СССР, затем РАН. С 2009 г. был председателем Комиссии по приборостроению в Секции «Физикохимия поверхности, кинетика и динамика обменных процессов» Научного совета РАН по физической химии. Я.И. Яшин был членом экспертного совета ВАК, членом Нью-Йоркской академии наук, участвовал во всех всесоюзных и всероссийских конференциях и симпозиумах по газовой и жидкостной хроматографии, в том числе в качестве пленарного докладчика, участвовал в работе большинства международных симпозиумов по хроматографии.

Яков Иванович принимал активное участие в развитии хроматографических научных школ г. Воронежа. Выступал оппонентом, читал лекции и проводил семинары в вузах Воронежа, являлся членом редколлегии журнала «Сорбционные и хроматографические процессы».

Всю свою жизнь будучи настоящим патриотом и энтузиастом в хроматографии, он своим примером, широчайшим кругозором и безмерной верой в торжество и могущество хроматографии вдохновлял и поддерживал всех, кто оказывался рядом. С кончиной Якова Ивановича уходит целая эпоха отечественной хроматографии и отечественного хроматографического приборостроения.

Коллеги и друзья выражают глубокую и искреннюю скорбь в связи с кончиной Якова Ивановича. Светлая память о нем будет бережно храниться в наших сердцах, а творческое наследие передаваться молодому поколению хроматографистов!

Селеменев В.Ф., Буряк А.К. Рудаков О.Б., Рыбакова Е.В. Хамизов Р.Х.,

Памяти профессора Ревельского Игоря Александровича



08.06.1936 – 11.07.2023

Вслед за Яшиным Я.И. ушел из жизни Ревельский Игорь Александрович. Масс-спектропистам, хроматографистам, химикам-аналитикам России его имя говорит о многом. Вот скупое перечисление фактов о нем. Окончил инженерный факультет Военной академии химической защиты (1960 г.). Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Член НСАХ. Заслуженный химик РФ. Область научных интересов: различные варианты хроматографии, хромато-масс-спектрометрия, сверхкритическая флюидная экстракция, сорбционное концентрирование, хромадистилляция; идентификация компонентов сложных смесей органических соединений, определение ультрамалых концентраций экотоксикантов, определение степени чистоты органических соединений. Разработаны под его началом способы определения молекулярных масс соединений с использованием детекторов по плотности, сечений ионизации молекул; подтверждена гипотеза об аддитивности молекулярных сечений ионизации. Раз-

работаны высокотемпературный детектор по плотности (до 800°C), микрокулонометрический и объемный детекторы. Создан способ масс-спектрометрического анализа – масс-спектрометрия с фотоионизацией и фотохимической ионизацией при атмосферном давлении, обеспечивающий возможность регистрации масс-спектров, состоящих только из молекулярного либо квазимолекулярного иона. Предложен подход к более достоверному обнаружению числа и состава примесей в органических веществах, химической и фармацевтической продукции с использованием этого способа. Предложена методология эколого-аналитического контроля, основанная на быстром скрининге пробы (суммарное содержание P-, S-, Hal-органических веществ). Разработаны новые методы определения органических веществ, включающие сорбционное концентрирование и сверхкритическую флюидную экстракцию. Предложена методология контроля качества лекарственных средств, основанная на определении активного вещества с использованием элементного анализа и регистрации многомерных профилей примесей. Опубликовано более 330 работ, в том числе, монография, авторские свидетельства и патенты.

Профессор Ревельский был долгое время членом президиума ВАК, Игорь Александрович отличался твердостью и принципиальностью, его экспертного мнения боялись начальники наукоемких производств, НИИ, решившие приобрести ученую степень доктора наук, в тоже время научным сотрудникам и преподавателям «от сохи», аспирантам он проявлял благосклонность, охотно их консультировал, помогал в решении некоторых теоретических и прикладных задач. За рамками официальной биографии осталась его работа на оборонную отрасль науки и практики, где высоко ценилась его профессиональная экспертиза.

Коллеги и друзья выражают искреннюю скорбь в связи со смертью Игоря Александровича Ревельского, выдающегося химика-аналитика. Светлая память о нем надолго останется в наших сердцах.

Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Буряк А.К., Шапошник В.А.

ХРОМАТОГРАФИЯ – ОБЛАСТЬ НАШЕЙ КОМПЕТЕНЦИИ

инновации, технологии, оборудование и расходные материалы

РАЗРАБАТЫВАЕМ:

- технологии очистки субстанций
- методы выделения и очистки примесей
- сорбенты для всех видов жидкостной хроматографии
- методы контроля безопасности и подлинности продуктов питания и кормов



ПРОИЗВОДИМ:

- сорбенты для хроматографии
- концентрирующие патроны «Диапак»
- аналитические ВЭЖХ-колонки «Диасфер» и «Наутилус»
- аналитические комплекты для экологического анализа и контроля подлинности и безопасности продуктов питания и кормов
- препаративные колонны динамического аксиального сжатия АХИОМА диаметром 100 и 200 мм для очистки субстанций методом ВЭЖХ
- стеклянные колонки аксиального сжатия диаметром от 24 до 450 мм, объемом до 50 л
- автоматизированные хроматографические комплексы низкого давления АХИОМА для очистки субстанций с потоками элюента до 1 литра в минуту

К нам обращаются фармацевтические компании и другие организации для разработки технологий очистки субстанций «под ключ» и наработки стандартных образцов или примесей субстанций, когда это сложно или невыгодно делать на собственном производстве. Мы изучаем и сравниваем существующие методы очистки, опираясь на 30-летний опыт работы, добиваемся целевых показателей, масштабируем результаты, подбираем оборудование и расходные материалы, обучаем персонал заказчика. Не занимаемся технологиями очистки в нормально-фазовом режиме с применением органических растворителей в качестве элюентов.

Рассматриваем работы как по выделению и очистке небольших количеств субстанций или примесей, так и технологии очистки промышленного масштаба. Внедрим технологию на вашем производстве, используя современные непрерывные технологии очистки и колонки большого диаметра, увеличим производительность, снизим риск ошибок, обеспечим устойчивость технологического процесса.



Biotage

ChromaCon

KNAUER

Kromasil

ПРЕДСТАВЛЯЕМ ПРОДУКЦИЮ:

- **Biotage AB (Швеция)** – пробоподготовка, органический и пептидный синтез
- **Chromacon (Швейцария)** – препаративные системы для непрерывной хроматографии
- **Knauder GmbH (Германия)** – препаративная и аналитическая хроматография
- **Nouryon (Швеция)** – сорбенты и колонки для хроматографии
- **A.I.T.France (Франция)** – оборудование для безопасной работы с растворителями

Увеличьте производительность пептидного и органического синтеза, используя микроволновые реакторы Initiator+. Для быстрой очистки полученных соединений используйте флеш-хроматографы Select. Высокоскоростные упариватели позволят вам получить готовое вещество из раствора за считанные минуты. Быстрота получения результатов, удобство работы и надежность оборудования – девиз компании Biotage.

Компания Chromacon с препаративной хроматографической системой Contichrom не имеет аналогов в мире. Она позволяет в непрерывном режиме MCSGP нарабатывать высокоочищенные субстанции, а в режиме N-Rich – примеси с производительностью и качеством, не достижимыми традиционными методами.

Препаративные хроматографические системы AZURA позволяют на одном приборе и разрабатывать, и масштабировать метод очистки за счет широкого диапазона скоростей потока и разнообразия используемых модулей в блоках Assistant.

Автоматизированное оборудование Biotage для подготовки проб позволит сделать рутинную работу легкой и займет совсем немного времени, а хроматографические сорбенты и ВЭЖХ-колонки Kromasil (Nouryon) незаменимы, если важна максимальная воспроизводимость от партии к партии как в контроле фармацевтических препаратов, так и в технологиях очистки.

Простое оборудование A.I.T.France обеспечит безопасную работу Вашего персонала с элюентами, содержащими токсические компоненты и растворители.

Цена свободная

*Подписка по каталогу «Почта России»,
подписной индекс ПН132*

*При перепечатке и цитировании
ссылка на «Сорбционные и хроматографические процессы»
обязательна*

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

*Авторы статей, опубликованных в данном журнале, декларируют отсутствие явных
и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией их статей*

Подписано в печать 30.06.2023. Формат 60×84 ½

Дата выхода в свет 24.07.2023

Усл. печ. л. 15,81. Тираж 250 экз. Заказ 147

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга»

394026, г. Воронеж, Московский пр-т, 11/5

Тел.: +7 (473) 229-32-87

<http://www.n-kniga.ru> E-mail: nautyp@yandex.ru

6+