

СОРБЦИОННЫЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Научный журнал
Выходит 6 раз в год

Том 23, № 4, 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. Высокомолекулярные 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

SORBTSIONNYE I KHROMATOGRAFICHESKIE PROTSESSY (SORPTION AND CHROMATOGRAPHY PROCESSES)

Scientific journal
Published 6 times per year

Volume 23, No 4, 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)

DEPURY-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 Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy
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, №4



Выходит 6 раз в год

CONTENTS

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- | | | |
|--|----------------|---|
| <p>Иванов В.А.
Хроматография в разделении стабильных изотопов</p> | <p>456-470</p> | <p>Ivanov V.A.
Chromatography in the separation of stable isotopes</p> |
| <p>Медяк Г.В., Шункевич А.А., Ворса В.Ж., Исакович О.И., Поликарпов А.П.
Волокнистые аминокарбоксильные иониты ФИБАН К-6 и К-6М для очистки воды от ионов тяжелых металлов</p> | <p>471-478</p> | <p>Medyak G.V., Shunkevich A.A., Vorsa V.Zh., Isakovich O.I., Polikarpov A.P.
Fibrous aminocarboxylic ion exchangers FIBAN K-6 and K-6M for purification of water from heavy metal ions</p> |
| <p>Зенкевич И.Г.
Рекуррентные соотношения в хроматографии</p> | <p>479-494</p> | <p>Zenkevich I.G.
Recurrent relations in chromatography</p> |
| <p>Платонов И.А., Новикова Е.А., Колесниченко И.Н., Карсункина А.С., Маргарян М.Э.
Исследование сорбционных процессов в хромато-десорбционных системах на основе наноструктурированного полимерного сорбента Полисорб-1</p> | <p>495-503</p> | <p>Platonov I.A., Novikova E.A., Kolesnichenko I.N., Karsunkina A.S., Margaryan A.E.
A study of sorption processes in chromato-desorption systems based on nanostructured polymer sorbent Polysorb-1</p> |
| <p>Платонов И.А., Брыксин А.С., Муханова И.М., Колесниченко И.Н.
Сравнительная оценка работы монолитных хромато-десорбционных систем в статическом и динамическом режимах экстракции</p> | <p>504-513</p> | <p>Platonov I.A., Bryksin A.S., Mukhanova I.M., Kolesnichenko I.N. A comparative assessment of the operation of monolithic chromatography-desorption systems in static and dynamic extraction modes</p> |
| <p>Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Селеменев В.Ф., Елисеева Т.В.
Обращенно-фазовая ВЭЖХ на «моно-мерных» обращенных фазах: факторы, определяющие удерживание сорбатов</p> | <p>514-528</p> | <p>Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Selemenov V.F., Eliseeva T.V.
Reversed-phase HPLC on the “monomeric” reversed phases: factors determining the retention of sorbates</p> |

<p>Рудакова Л.В., Терских А.П., Ветрова Е.Н., Никитина Т.Н. Тенденции развития хроматографических методов и их востребованность в фармакопейной практике</p>	529-538	<p>Rudakova L.V., Terskikh A.P., Vetrova E.N., Nikitina T.N. Trends in the development of chromatographic methods and demand in pharmacopey practice.</p>
<p>Козадерова О.А. Сорбционные, диффузионные характеристики и электропроводность анионообменных мембран в растворах молочной кислоты и хлорида натрия</p>	539-546	<p>Kozaderova O.A. Sorption, diffusion characteristics and electrical conductivity of anion-exchange membranes in lactic acid and sodium chloride solutions</p>
<p>Тринеева О.В., Ковалева Н.А., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Применение ТСХ для оценки профиля флавоноидов листьев облепихи крушиновидной различных фаз заготовки</p>	547-557	<p>Trineeva O.V., Kovaleva N.A., Safonova E.F., Slivkin A.I. Application of TLC for the assessment of the flavonoid profile of sea buckthorn leaves during different phases of their preparation</p>
<p>Горбовская А.В., Тимичев А.А., Чернобровкина А.В., Ужель А.С., Шпигун О.А. Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии</p>	558-569	<p>Gorbovskaia A.V., Timichev A.A., Chernobrovkina A.V., Uzhel A.S., Shpigun O.A. Novel highly hydrophilic resins with grafted polymer layers for liquid chromatography</p>
<p>Пирогов А.В., Пашкова Е.Б., Попик М.В., Шпигун О.А. Определение этоксида в плазме крови человека методом микроэмульсионной жидкостной хроматографии</p>	570-577	<p>Pirogov A.V., Pashkova E.B., Popik M.V., Shpigun O.A. Determination of ethoxidol in human plasma by microemulsion liquid chromatography</p>
<p>Холявка М.Г., Кондратьев М.Г., Артюхов В.Г. Адсорбционная иммобилизация инулиназы из <i>Aspergillus ficuum</i> и <i>Kluyveromyces marxianus</i>: сравнительный аспект</p>	578-591	<p>Holyavka M.G., Kondratyev M.S., Artyukhov V.G. Adsorption immobilization of inulinase from <i>Aspergillus ficuum</i> and <i>Kluyveromyces marxianus</i>: a comparative aspect</p>
<p>Разницына В.М., Шафигулин Р.В., Виноградов К.Ю., Буланова А.В. Влияние структуры имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ</p>	592-605	<p>Raznitsyna V.M., Shafigulin R.V., Vinogradov K.Yu., Bulanova A.V. Influence of the structure of imidazolium ionic liquids on the chromatographic behaviour of some flavonoids under RP HPLC conditions</p>

- Губин А.С., Суханов П.Т., Кушнир А.А., Шихалиев Х.С., Потапов М.А.**
Применение магнитного сорбента на основе гумата в сочетании с ГХ-МС для определения фенольных ксеноэстрогенов в донных отложениях
- Копытин К.А., Мартина Ю.В., Парийчук М.Ю., Онучак Л.А.**
Адсорбционные свойства поверхностно-слоистого адсорбента на основе широкопористого SiO₂ и металл-органического каркасного полимера MIL-100(Cr) по отношению к летучим органическим соединениям разных классов
- Шуба А.А., Кучменко Т.А., Умарханов Р.У.**
Оценка возможности прогноза и регуляции сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров
- Рудаков Я.О., Селеменев В.Ф., Хорохордин А.М., Волков А.А.**
Хроматографические методы определения свободного бисфенола А в технической и пищевой продукции
- Belonogov E.V., Muslimov I.N., Zinoviev I.M., Guskov V.Yu.**
Kinetic features of the adsorption of men-thol enantiomers on o-toluylic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality
- Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф., Ищенко У.С., Шкутина И.В.**
Равновесие сорбции стероидных сапонинов *Tribulus Terrestris* на природном полимерном сорбенте – хитозане
- Лисицына С.А., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю.**
Влияние температуры на необменную сорбцию ароматических аминокислот анионообменником АВ-17-8
- 606-619 **Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev Kh.S., Potapov M.A.**
Application of a magnetic sorbent based on humate in combination with GC-MS for the determination of phenolic xenoestrogens in bottom sediments
- 620-629 **Kopytin K.A., Martina Yu.V., Pariychuk M.Yu., Onuchak L.A.**
Adsorption properties of a surface-layer adsorbent based on wide-pore SiO₂ and metal-organic framework polymer MIL-100(Cr) in relation to volatile organic compounds of different classes
- 630-641 **Shuba A.A., Kuchmenko T.A., Umarkhanov R.U.** Assessment of the possibility of the prediction and regulation of sorption properties of composite coatings of piezoquartz sensors
- 642-656 **Rudakov Ya.O., Selemenev V.F., Khorokhordin A.M., Volkov A.A.**
Chromatographic methods for the determination of free bisphenol A in technical and food products
- 657-666 **Belonogov E.V., Muslimov I.N., Zinoviev I.M., Guskov V.Yu.**
Kinetic features of the adsorption of men-thol enantiomers on o-toluylic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality
- 667-680 **Mironenko N.V., Selemenev V.F., Ishchenko U.S., Shkutina I.V.**
Equilibrium of sorption of *Tribulus Terrestris* steroid saponins on a natural polymer sorbent – chitosan
- 681-690 **Lisitsyna S.A., Khokhlova O.N., Khokhlov V.Yu.**
Influence of temperature on non-exchange sorption of aromatic amino acids by anion exchanger AV-17-8

<p>Лузанова В.Д., Рожманова Н.Б., Ланин С.Н., Нестеренко П.Н. Применение цеолитов в высокоэф- фективной жидкостной хроматогра- фии</p>	691-704	<p>Luzanova V.D., Rozhmanova N.B., Lanin S.N., Nesterenko P.N. Application of zeolites in high-perfor- mance liquid chromatography</p>
<p>Медведева С.М., Мовчан А.В., Бондаренко К.А., Шихалиева К.Д., Шихалиев Х.С. Получение индивидуальных производных в ряду 1,3-оксазино[5,4,3- ij]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4- ij]хинолинов методом колоночной хроматографии и их масс-спектро- метрическое исследование</p>	705-715	<p>Medvedeva S.M., Movchan A.V., Bondarenko K.A., Shikhalieva K.D., Shikhaliev Kh.S. Preparation of individual derivatives in 1,3-oxazino[5,4,3-ij]quinolines and 1,4-oxazino[2,3,4-ij]quinolines series by column chromatography and their mass spectrometric study</p>
<p>Селиванова Н.В., Винокуров М.М., Епринцев А.Т. Выделение и очистка изоцитратли- азы хроматографическими мето- дами из печени крыс в условиях ал- локсан-индуцированного диабета</p>	716-722	<p>Selivanova N.V., Vinokurov M.M., Eprintsev A.T. Isolation and purification of isocitrate lyase by chromatographic methods from the liver of rats under conditions of alloxan-induced diabetes</p>
<p>Информация</p>	723-726	<p>Information</p>



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544, 621.039.33

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11539

Хроматография в разделении стабильных изотопов

Владимир Александрович Иванов 

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

Аннотация. Рассмотрены возможности применения хроматографических методов для разделения стабильных изотопов, таких как изотопы водорода, лития, бора, азота. Достоинства этих методов по сравнению с традиционными физико-химическими системами газ-жидкость, в основном применяемых для разделения изотопных смесей, заключаются в том, что величины ВЭС меньше, остановка процесса даже на достаточно длительное время не приводит к фатальному изменению распределения разделяемых компонентов по слою, обычно не требуются особые температурные режимы. В то же время в большинстве случаев эти методы пока не смогли составить существенную конкуренцию традиционным технологиям разделения стабильных изотопов методами ректификации и химического изотопного обмена в системах газ - жидкость. Это связано с их периодичностью, необходимостью использовать большие количества вспомогательных реактивов и недостаточно высокой производительностью. Поэтому в проводимых исследованиях по применению хроматографических методов для разделения изотопов стараются решить эти проблемы. Наибольшие успехи были достигнуты при разделении смесей диводородов хроматографическими методами, что находит применение при создании технологий подготовки и регенерации топлива для термоядерного синтеза, получения особо чистых ди-водородов для метрологических исследований.

Ключевые слова: стабильные изотопы, изотопы водорода, лития, бора, азота, разделение, хроматография.

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

Для цитирования: Иванов В.А. Хроматография в разделении стабильных изотопов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 456-470. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11539>

Original article

Chromatography in the separation of stable isotopes

Vladimir A. Ivanov 

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, minilana@mail.ru 

Abstract. The feasibilities of chromatographic methods for the separation of stable isotopes, such as isotopes of hydrogen, lithium, boron, and nitrogen, are considered. The advantages of these methods compared to traditional physicochemical gas-liquid systems, mainly used for separating isotope mixtures, are that the HETS values are smaller, stopping the process even for a sufficiently long time does not lead to a fatal change in the distribution of the separated components over the layer, usually no special temperature conditions are required. At the same time, in most cases, these methods have not yet been able to compete significantly with traditional technologies for the separation of stable isotopes by rectification and chemical isotope exchange in gas-liquid systems. This is due to their periodicity, the need to use large quantities of auxiliary reagents and insufficiently high productivity. Therefore, in ongoing research on the use of chromatographic methods for isotope separation, attempts are made to solve these problems. The greatest successes have been achieved in the separation of mixtures of dihydrogens by chromatographic methods, which is used in the creation of technologies for the preparation and regeneration of fuel for thermonuclear fusion, and for obtaining high-pure dihydrogens for metrological studies.

Keywords: stable isotopes, isotopes of hydrogen, lithium, boron, nitrogen, separation, chromatography.



Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the state task (topic No. 121031300090-2).
For citation: Ivanov V.A. Chromatography in the separation of stable isotopes. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 456-470. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11539>

Введение

Сообщение на тему «О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу», которое 21 марта 1903 г. на заседании Варшавского общества естествоиспытателей сделал русский ученый Михаил Семенович Цвет, считается первым в ряду огромного числа работ в области хроматографии [1-3]. Спустя 120 лет в наше время хроматография представляет собой очень мощный инструмент для выполнения очень чувствительных и селективных аналитических определений неорганических и органических веществ, включая стереоизомеры и макромолекулы, для препаративного разделения и очистки фармацевтических, пищевых и многих других веществ, для препаративного разделения таких сложных многокомпонентных смесей, как смеси редкоземельных элементов, инвертные сахара и т.д. От первого опыта М.С. Цвета, проведенного на простой стеклянной трубке, заполненной мелом, хроматография прошла большой путь до современных сложных, компьютеризированных приборов и технологий, позволяющих за считанные минуты осуществлять сложные аналитические определения, а также достигать очень высоких степеней очистки веществ при препаративных разделениях. В то же время при рассмотрении достижений хроматографических методов обычно не затрагивают одну важную область – возможность использования хроматографических методов для разделения стабильных изотопов. В юбилейный год 120-летия открытия хроматографии уместно рассмотреть ситуацию в этой области (доклад на эту тему был сделан автором на IV Всероссийском школе-семинаре «Сорбция и хроматография», проводившемся в Воронежском государственном университете 17-19 мая 2023 г.).

Общая ситуация в области разделения стабильных изотопов

РФ является мировым лидером в производстве моноизотопных препаратов, что отражено на сайтах таких предприятий, как ФГУП «Комбинат «Электрохимприбор», обладающего технологиями получения 204 изотопов 44 химических элементов и АО «ПО «Электрохимический завод», обладающего технологиями получения 115 изотопов 22 химических элементов [4, 5]. По данным тех же источников помимо этих предприятий определенные стабильные изотопы производят также на Новосибирском заводе химических концентратов и в НИЦ «Курчатовский центр». В целом российские предприятия являются почти монополистами на мировом рынке. Эти предприятия обладают технологиями и получают стабильные изотопы элементов из большей части периодической таблицы от лития до свинца, включая многие лантаниды. Сразу следует сказать, что такая ситуация определяется главным образом лидирующими позициями российских предприятий в ультрацентрифужных технологиях, которые наиболее эффективны в случае разделения изотопов тяжелых элементов.

В то же время обращает на себя внимание неблагоприятное с разделением изотопов некоторых легких элементов. После распада Советского Союза Россия лишилась мощностей по разделению изотопов таких элементов, как водород, бор, углерод, азот, кислород, которые успешно эксплуатировались в СССР, но остались в бывших союзных республиках. На ситуации с разделением стабильных изотопов этих элементов и остановим наше внимание. Изотопный состав указанных химических элементов в природе приведен в таблице 1.

Таблица 1. Изотопный состав химических элементов в природе

Table 1. Isotopic composition of chemical elements in nature

Элемент	Изотоп	Распространенность в природе
Водород	^1H	99.98
	^2H (D)	0.02
Литий	^6Li	7.9
	^7Li	92.1
Бор	^{10}B	18.8
	^{11}B	81.2
Углерод	^{12}C	98.9
	^{13}C	1.1
Азот	^{14}N	99.62
	^{15}N	0.38

Важно отметить, что производство определенных изотопов данной группы имеет стратегическое значение. Так изотоп лития-7 в виде карбоната благодаря малому сечению поглощения нейтронов используется на АЭС для регулирования водно-щелочного баланса теплоносителя. При этом примесное содержание в нем изотопа литий-6, имеющего на четыре порядка большее сечение поглощения нейтронов, должно быть минимальным [6].

Также по отношению к нейтронам различаются и изотопы бора. Изотоп бор-10 используют в качестве высокоэффективного поглотителя нейтронов в системах управления и защиты ядерных реакторов, в конструкционных материалах устройств для транспортировки и хранения ядерного топлива [7, 8]. Изотоп бор-11 очень слабо поглощает нейтроны, поэтому рассматриваются возможности производства на его основе негорючих материалов в качестве замедлителя нейтронов вместо графита.

Изотоп азот-15 применяется, хотя и в меньших количествах, в качестве изотопной метки в исследованиях, связанных с сельским хозяйством, медициной, биологией и т.д. В то же время рассматриваются возможности создания и производства на его основе нитридного уранового топлива для атомных реакторов, что потребует значительного удешевления способа выделения и организации производства в несоизмеримо больших объемах [8].

Изотоп углерод-13 очень широко используется в медицинских дыхательных тестах при диагностике многих заболеваний, связанных с нарушениями обмена веществ, в ЯМР-томографии [9].

Для атомной энергетики критичным остается отсутствие собственного производства обоих природных изотопов бор-10 и бор-11. Хотя технология разделения изотопов лития в стране существует, она содержит очень серьезный недостаток, связанный с использованием больших количеств ртути. Поэтому активно обсуждается (также как и во всем мире) возможность организации безртутных технологий, в том числе сорбционными хроматографическими методами.

В атомной промышленности существует особо важная задача разделения изотопов водорода, и в частности, извлечения радиоактивного трития, который присутствует на фоне других, стабильных изотопов водорода – протия и дейтерия. Тритий образуется при работе ядерных реакторов и может попадать в окружающую среду. Поэтому создание методов извлечения трития является исключительно актуальным. Особенно много его образуется в ядерных реакторах, использующих тяжелую воду в качестве замедлителя и теплоносителя. Дейтерий и тритий являются также основными компонентами топлива для разрабатываемых установок термоядерного синтеза, и перспектива создания в будущем термоядерных энергетических установок требует разработки



Таблица 2. Химические системы, на основе которых в СССР были созданы производственные мощности по разделению изотопов [7, 8, 10].

Table 2. Chemical systems on the basis of which isotope separation production facilities were created in the USSR [7, 8, 10].

Процесс разделения	Реакция изотопного обмена	Коэфф. селективн.	Примечания
Химический изотопный обмен	$H_2O_{\text{жид.}} + DHS_{\text{газ}} = HDO_{\text{жид.}} + H_2S_{\text{газ}}$	2.3-1.8	Начальное концентрирование тяжелой воды
Химический изотопный обмен	${}^6LiX(\text{ДМСО}) + {}^7Li(\text{Hg}) = {}^7LiX(\text{ДМСО}) + {}^6Li(\text{Hg})$	1.058	Используется электролиз для перевода лития из соли в металл
Химический изотопный обмен	${}^{11}BF_3, \text{газ} + C_6H_5OCH_3 \cdot {}^{10}BF_3, \text{жид.} = {}^{10}BF_3, \text{газ} + C_6H_5OCH_3 \cdot {}^{11}BF_3, \text{жид.}$	1.03	Используется термическое разложение комплекса
Ректификация	${}^{12}CO_{\text{жид.}} + {}^{13}CO_{\text{газ}} = {}^{13}CO_{\text{жид.}} + {}^{12}CO_{\text{газ}}$	1.0075 при 79 К	Требуется особо чистый СО
Химический изотопный обмен	$Na^{13}CN \text{ жид.} + H^{12}CN_{\text{газ}} = Na^{12}CN \text{ жид.} + H^{13}CN \text{ газ}$	1.03	
Химический изотопный обмен	${}^{14}NO_{\text{жид.}} + {}^{15}NO_{\text{газ}} = {}^{15}NO_{\text{жид.}} + {}^{14}NO_{\text{газ}}$	1.036 при 121 К	Требуется особо чистый NO
Химический изотопный обмен	$H^{14}NO_3, \text{ жид.} + {}^{15}NO_{\text{газ}} = H^{15}NO_3, \text{ жид.} + {}^{14}NO_{\text{газ.}}$	1.055 К	Используется SO ₂ для превращения HNO ₃ в NO, при этом образуется нетоварная серная кислота
Химический изотопный обмен	${}^{14}N_2O_3, \text{ жид.} + {}^{15}NO_{\text{газ}} = {}^{15}N_2O_3, \text{ жид.} + {}^{14}NO_{\text{газ.}}$	1.043	

эффективных систем регенерации этого топлива. Опасность выделения в окружающую среду трития в термоядерном реакторе может быть во много раз опаснее по сравнению АЭС.

В таблице 2 представлены химические системы, на основе которых в СССР были созданы производственные мощности по разделению изотопов. Следует также отметить, что и в других странах, в которых производили разделение изотопов, использовали те же самые системы.

Выбор данных химических систем для разделения изотопов в первую очередь определялся наиболее высокими коэффициентами селективности, хотя и для них значения мало отличаются от 1 (кроме случая изотопов водорода), а также достаточно быстрым изотопным обменом. Общим во всех этих системах является

то, что контактируют жидкая и газообразная фазы в насадочной колонне.

Как видно из данной таблицы, наиболее эффективные физико-химические методы разделения изотопов «болеют» многими проблемами: используются чрезвычайно опасные химические вещества; в определенных системах используются огромные количества вспомогательных реактивов и при этом образуются огромные количества отходов (как в случае разделения изотопов азота); используются режимы очень низких температур в ректификационных процессах и поэтому требуются особо чистые «рабочие» вещества, т.к. при наличии таких примесных соединений, как H₂O или N₂O₄, будет происходить их кристаллизация и забивание контактного слоя.



Чтобы проиллюстрировать недостатки, упомянем, что в промышленном процессе концентрирования ^{15}N , который был реализован в СССР, Германии, Румынии, США, расход реактивов при получении 1 г ^{15}N составлял 68 кг 10 M HNO_3 и 40 кг SO_2 . При этом образовывалось 62 кг нетоварной по концентрации серной кислоты, к тому же с растворенным SO_2 [10]. Расходы вспомогательных реактивов столь велики, что автор книги [10] даже заметил, что «при производстве ^{15}N в большом количестве ресурсы многих стран по чистому SO_2 не смогут удовлетворить потребности установок».

Поэтому в изотопной практике по возможности старались отдавать предпочтение системам, которые управляются температурой и за счет этого удается избежать использования вспомогательных реактивов. Наиболее удачными примерами таких систем является двухтемпературный процесс начального концентрирования тяжелой воды в сероводородной системе и процесс разделения изотопов бора, в котором используется термическое разложение анизольного комплекса BF_3 [10].

С конца 1980-х годов российскими учеными активно разрабатывались физические методы производства изотопов – лазерным возбуждением определенных химических соединений и ультрацентрифугированием, которые лишены многих из упомянутых проблем. В результате в России уже в 1990-х годах удалось создать технологию и наладить производство изотопа углерод-13 методами изотопически-селективной многофотонной лазерной диссоциации молекул фреона-22 (CF_2HCl) на первом этапе и ультрацентрифужной технологии для конечного обогащения [9]. Объем его производства составляет несколько десятков килограммов в год. Однако с расширением в стране внедрения компьютерной томографии будут востребованы уже сотни килограммов в год.

Рассматривались возможности использования физических методов для разделения изотопов бора и азота, однако практическая реализация не последовала. В частности, анализ, проведенный в работе [11], показал, что в случае концентрирования ^{15}N от его природного содержания традиционные физико-химические методы со всеми их указанными недостатками остаются экономически предпочтительнее по сравнению с газовым центрифугированием. По-видимому, с этим связано и то, что при производстве ^{13}C ультрацентрифугирование используется лишь для конечного концентрирования от 30%-ого содержания [9], достигнутого лазерным методом.

Таким образом, для разделения изотопов ряда легких элементов работы в области развития физико-химических методов разделения, к которым относятся и сорбционные методы, остаются актуальными.

Хроматографические методы разделения стабильных изотопов

«Плюсы» сорбционных методов по сравнению с традиционными системами газ-жидкость заключаются в том, что величины ВЭТС меньше, остановка процесса даже на достаточно длительное время не приводит к фатальному изменению распределения разделяемых компонентов по слою, обычно не требуются особые температурные режимы. Известен ряд примеров использования вытеснительной и фронтальной хроматографии для препаративного разделения изотопов.

Одна из первых попыток использования ионообменной вытеснительной хроматографии для концентрирования ^{15}N была предпринята в работе [12]. Использовались 10 колонн диаметром 10 см,

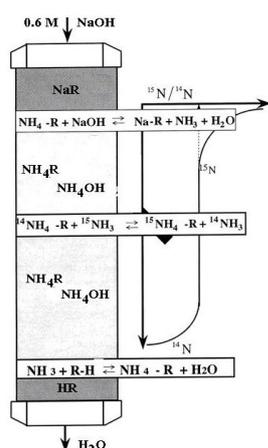


Рис. 1. Схема процесса ионообменной вытеснительной хроматографии

Fig. 1. Diagram of the ion exchange displacement chromatography process

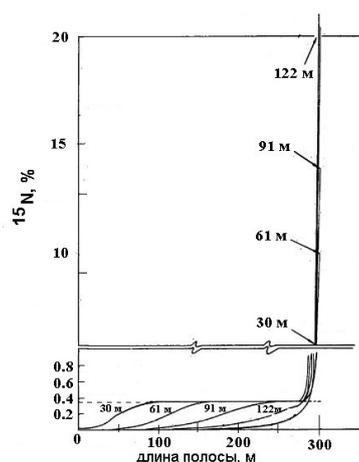


Рис. 2. Распределение концентрации ^{15}N по длине полосы Спеддинга в процессе разделения методом ионообменной вытеснительной хроматографии.

Fig. 2. Distribution of ^{15}N concentration along the length of the Spedding band during separation by ion exchange displacement chromatography.

слой сульфокислотного катионита в каждой из которых составлял 145-148 см. Процесс начался с того, что через серию колонн с ионитом в Н-форме, соединенных последовательно начали пропускать раствор NH_4OH , пока в колоннах не образовалась зона ионита в NH_4^+ -форме протяженностью 300 см. После этого через слой начали пропускать 0.6 М раствор NaOH , вытесняя NH_4^+ и последовательно перемещая аммонийную зону по колоннам (рис. 1).

В передней части сформированной полосы разделяемых компонентов, которая называется в литературе полосой Спеддинга, происходило снижение концентрации ^{15}N , а в задней части наоборот повышение. Колонны, в которых ионит полностью переходил в Na-форму, регенерировали кислотой и возвращали в «головную» часть процесса. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Видно, что лишь после того, как полоса прошла более 120 м слоя ионита, в ее основной части содержание ^{15}N было значительно снижено по сравнению с природным, и лишь в небольшой «задней» части концентрация ^{15}N достигла

20%. Коэффициент селективности в этом эксперименте составил 1.025, что достаточно значительно уступает системе с азотной кислотой и оксидом азота (см. табл. 2), но зато ВЭТС оказалась всего ~ 1 см. Эксперимент также показал, что практически невозможно получить более высокое концентрирование минорного изотопа сразу от природного содержания. Недостатком данной техники разделения является то, что пришлось использовать большое число колонн.

В работе [13] была сделана попытка использовать данную ионообменную систему для концентрирования ^{15}N по методу фронтальной хроматографии в противоточных колоннах (что должно уменьшить объем аппаратуры и количества используемого ионообменника) высотой 400 см и диаметром 3 см. В этом случае в одной колонне с непрерывным движением ионита осуществлялась сорбция иона аммония из раствора аммиака, а во второй колонне – вытеснение иона аммония 1 М раствором КОН. Результат

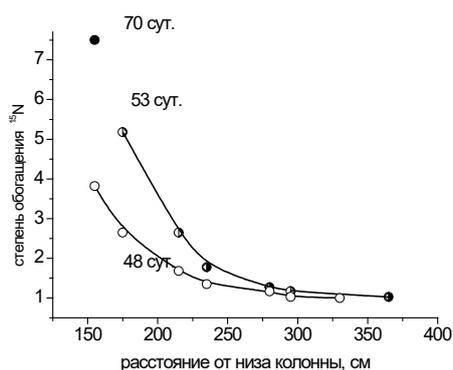


Рис. 3. Распределение степени обогащения ^{15}N по высоте противоточной ионообменной колонны.

Fig. 3. Distribution of the degree of enrichment of ^{15}N by the height of the countercurrent ion exchange column.

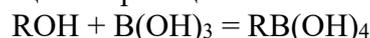
концентрирования ^{15}N во второй колонне, показан на рис. 3.

В данном эксперименте за 70 суток удалось достигнуть лишь 7.5 кратного концентрирования ^{15}N . Столь большая длительность эксперимента была связана с несовершенством противоточной колонны, в которой непрерывное движение ионита сверху вниз по колонне происходило под действием силы тяжести, а скорость раствора была малой, чтобы не происходило перемешивание слоя ионита. Изотоп ^{15}N накапливался в более широкой зоне ионита, чем в эксперименте с зоной Спеддинга.

В целом, можно указать «минусы» ионообменных методов по сравнению с традиционными системами разделения изотопов азота: меньшие величины коэффициентов селективности, меньшая пропускная способность слоя ионообменника. Кроме того, в данных экспериментах также осталась проблема использования больших количеств вспомогательных реактивов.

Несмотря на указанные минусы ионообменных систем, имеется пример использования одной из них во Франции для промышленного производства 200 кг/год ^{10}B (обогащение 92%) и 800 кг/год ^{11}B (обогащение 99%) [14]. В процессе использовались 5 колонн с высотой каждой из них 14 м и диаметром 1.4 м.

Применялась та же техника вытеснительной хроматографии на неподвижном слое ионита, что и в работе [12]. Через слой высокоосновного анионита в OH-форме пропускался раствор $\text{B}(\text{OH})_3$ и происходила сорбция по реакции



Вытеснение осуществлялось 0.6 М раствором HCl по реакции



В головной части зоны накапливался ^{11}B , а в задней части ^{10}B .

Методы адсорбции и хроматографии (вытеснительной и фронтальной) активно развиваются для разделения изотопов водорода в течение многих лет ввиду большой актуальности проблемы. Еще в работе [15] была показана возможность разделения протия и дейтерия методом газовой хроматографии на палладиевой черни, нанесенной на асбест.

В работе [16] сравнивали вытеснительную и фронтальную хроматографию для разделения протия и дейтерия на порошке палладия. В варианте вытеснительной хроматографии в качестве газавытеснителя использовали водород. Определенное количество изотопной смеси газообразных протия и дейтерия вводили в колонку с чистым подготовленным сорбентом при температуре 30°C . Затем через колонку начинали пропускать газообразный природный водород.



Головная фракция выходящего из колонки газа оказывалась обогащена дейтерием. В этом режиме при исходном содержании дейтерия в смеси 5 ат.% на выходе колонки удавалось получить изотопную смесь с концентрацией дейтерия около 65 ат.%, а при исходной концентрации дейтерия 55 ат.% – практически чистый дейтерий.

В работе [17] вытеснительную газовую хроматографию на палладии, нанесенном на $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, использовали для получения дейтерия и трития чистотой >98% с целью масштабной переработки тритий-дейтерий содержащих смесей, используемых на экспериментальном термоядерном реакторе JET (Joint European Torus), расположенном в Калхэмском центре термоядерной энергии в Великобритании. Использовали несколько колонок длиной 2.7 м и внутренним диаметром 3.4 см. В качестве вытеснителя использовали протий.

В области разделения стабильных изотопов особо острой и обсуждаемой является проблема разделения изотопов лития из-за недостатков промышленной амальгамной системы (см. табл. 1), заключающихся в использовании больших количеств ртути, а также применении электролитического восстановления лития, что приводит к очень большому энергопотреблению. Поэтому уже десятилетия во всем мире идет поиск более экологичных способов разделения, в том числе с использованием ионообменной и сорбционной хроматографии. Впервые использовать ионообменную хроматографию (на цеолите) для разделения изотопов лития попытались авторы [18] еще в 1937 г., а в 1949 г. в работе [19] исследовали возможность разделения на полимерном синтетическом ионообменнике. В работе [20] впервые исследовали возможности разделения изотопов лития с использованием техники вытеснительной хроматографии на сильнокислотном сульфокатионите. Достаточно однотипные исследования

хроматографического разделения на аналогичных материалах с тех пор не прекращались и продолжают до настоящего времени (здесь упомянем лишь некоторые из них [21-23]). В целом, эти работы показывают, что на синтетических полимерных катионообменниках коэффициенты селективности изотопов лития составляют лишь 1.001-1.0035, очень значительно уступая селективности амальгамной системы (см. табл. 2). Поэтому даже на очень длинном хроматографическом слое не удастся достигать значительных обогащений по изотопу ${}^6\text{Li}$. Например, в работе [20] использовали 12 хроматографических колонок диаметром 2.2 см и длиной 100 см каждая, заполненных сильнокислотным сульфокатионитом полистирольного типа с 12% ДВБ. Ионит в первых двух колонках перевели в литиевую форму, сформировав полосу Спеддинга. Вытеснение лития и последовательное перемещение хроматографической полосы в последующие колонны осуществляли пропуском 0.153 М раствора $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$. После того, как полоса прошла по слою ионита в общей сложности 150 м, максимальная степень концентрирования ${}^6\text{Li}$ в заднем фронте составила лишь 2,0. Ясно, что использование обычных ионообменных смол не позволяет говорить о возможности их использования для промышленного производства изотопов лития ввиду слишком низкой селективности.

Более высокую селективность к изотопам лития проявляют цеолиты. Так в работах [24] показано, что коэффициенты селективности на цеолитах А и Х находятся в пределах 1.015-1.025. Однако практическое использование цеолитов для разделения изотопов лития, тем более промышленное, так и не реализовалось. Препятствием для этого является то, что обеспечить количественное элюирование разделяемых ионов из цеолита с резким фронтом десорбции не удастся.

Помимо цеолитов селективность к изотопам лития исследовали и продолжают исследоваться и на ряде других неорганических материалов с ионообменными свойствами: оксидах марганца с различной кристаллической структурой, сурьмяной кислоте, фосфатах титана, олова, циркония. Коэффициенты селективности на них могут быть на уровне значений для цеолитов, однако какие-либо сведения о возможности их успешного использования для разделения изотопов лития не известны (поэтому здесь ограничимся ссылкой на обзор [25]).

Таким образом, можно констатировать, что хроматографические методы пока не смогли составить существенную конкуренцию традиционным методам разделения стабильных изотопов. Это связано с их периодичностью, необходимостью использовать большие количества вспомогательных реактивов и недостаточно высокой производительностью.

Перспективы дальнейшего использования хроматографических методов для разделения стабильных изотопов

Упомянутые выше «плюсы» сорбционных и хроматографических методов по сравнению с традиционными физико-химическими системами газ-жидкость являются причиной продолжения работ в области разделения стабильных изотопов. Однако ясно, что здесь требуются новые идеи и новые подходы, которые позволяют «вылечить» или «смягчить» их болезни. Приведем примеры таких подходов.

Преимущество хроматографических систем, заключающееся в малых величинах ВЭТС, по сравнению с традиционными системами газ (пар) – жидкость, используемыми при разделении изотопов (см. табл. 1), в сочетании с возможностью организации непрерывного разделения в противоточных колоннах оригинально использовали при концентрировании ^{15}N в работах, выполненных в лаборатории стабильных изотопов МГУ имени М.В.

Ломоносова [26]. Разделение осуществляли в той же химической системе, которая используется в промышленности и включает азотную кислоту и оксид азота. Отличие состояло в том, что азотную кислоту (с концентрацией в интервале 3-16 М) наносили на силикагель. Процесс осуществляли в противоточной установке с непрерывным движением сверху вниз силикагеля с нанесенной азотной кислотой (рис. 4). В нижней части установки в слой силикагеля подавали диоксид серы, который восстанавливал азотную кислоту до оксида азота с резкой реакционной границей. Оксид азота снизу вверх пропускать через слой силикагеля с адсорбированной азотной кислотой.

На рис. 5 приведены зависимости степени обогащения ^{15}N в сечении установки, в котором азотная кислота восстанавливается до оксида азота, в экспериментах с 6 М HNO_3 при различных температурах.

Данному процессу присущи все те же достоинства хроматографических систем по сравнению с традиционными в практике разделения изотопов системами газ-жидкость – малые величины ВЭТС и устойчивость при кратковременной остановке процесса. При относительно небольших нанесениях азотной кислоты на силикагель возможно проводить процесс при температурах значительно ниже температуры ее кристаллизации вплоть до -75°C , за счет чего удастся повысить коэффициент селективности до значений ~ 1.07 . Эксперименты также показали, что увеличение степени обогащения и достижение стационарных степеней разделения происходят весьма быстро. При этом на относительно небольшой разделительной части установки удастся достигать высоких степеней обогащения. Особо также следует отметить, что организация такого процесса существенно проще по сравнению с традиционным промышленным процессом разделения (см. табл.2).

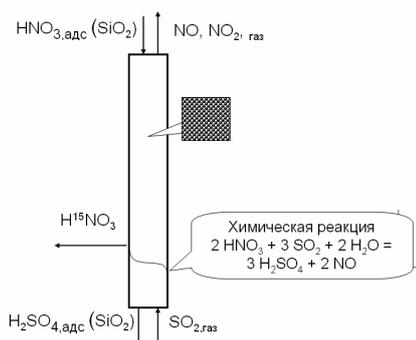


Рис. 4. Схема процесса непрерывного концентрирования ^{15}N в противоточной установке на силикагеле с адсорбированной азотной кислотой.

Fig. 4. Diagram of the process of continuous concentration of ^{15}N in a countercurrent installation on silica gel with adsorbed nitric acid.

Такой процесс может быть удобен в случае возникновения потребности в быстрой наработке азотной кислоты или оксида азота, обогащенного ^{15}N . Важно также отметить, что регенерировать силикагель с сорбированной серной кислотой возможно путем ее восстановления до диоксида серы метаном по реакции [27, 28]



Разделение изотопов водорода фронтальной хроматографией из газовой фазы в противоточных колоннах с движением слоя сорбента изучали в работах [29-31]. Такой вариант хроматографического разделения назван гиперсорбцией.

Движение твердой фазы адсорбента в колонне обычно организуется достаточно сложно. Например, в описанном процессе концентрирования ^{15}N движение слоя адсорбента обеспечивалось шнековым устройством в нижней части колонны, которое может приводить к механическому разрушению адсорбента. Кроме того, движение адсорбента приводит к

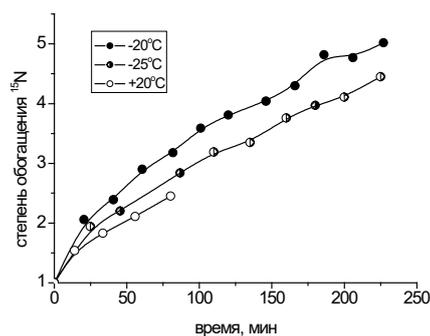


Рис. 5. Зависимости степени обогащения ^{15}N в сечении установки, в котором азотная кислота восстанавливается до оксида азота, в экспериментах с 6 М HNO_3 при различных температурах. Высота разделительной части колонны 34 см.

Fig. 5. Dependences of the degree of enrichment of ^{15}N in the cross section of the installation, in which nitric acid is reduced to nitric oxide, in experiments with 6 M HNO_3 at different temperatures. The height of the dividing part of the column is 34 cm.

некоторому увеличению ВЭТС по сравнению с плотным слоем. Для достижения непрерывности разделения и при этом устранения недостатков сорбционных процессов с движением слоя сорбента, разработаны особые виды хроматографии, которые привлекают внимание и специалистов, работающих в области разделения изотопов.

В работе [32] исследовали разделение изотопов бора с применением достаточно сложной техники аннулярной хроматографии (международное сокращение САС). В этом способе движение жидкой фазы происходит по слою сорбента в форме вертикально расположенного цилиндра, который вращается с небольшой скоростью вокруг оси, и одним расположенным сверху местом питания жидкого раствора, поток которого далее проходит по спирали по слою цилиндра. Перспективы такого способа разделения изотопов бора пока кажутся весьма неясными.

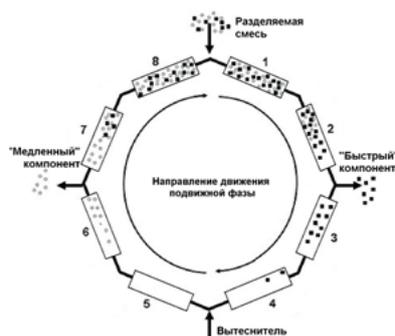


Рис. 6. Схема хроматографического процесса разделения бинарной смеси с использованием техники SMB.

Fig. 6. Diagram of the chromatographic process of binary mixture separation using SMB technique.

Другим более известным способом достижения непрерывности хроматографического разделения является предложенная еще в 1961 году [33] техника «simulated moving bed (SMB)», которую иногда в русскоязычной литературе называют «имитированным противотоком». Идея состоит в том, что процесс разделения по типу вытеснительной хроматографии проводится на неподвижном слое сорбента, представленном несколькими секциями, соединенными между собой в виде петли (рис. 6). На концах полосы разделяемых веществ непрерывно осуществляется отбор очищенных «быстрого» и «медленного» компонентов, а в среднюю часть полосы непрерывно добавляется исходная разделяемая смесь. Тем самым достигается непрерывность процесса разделения.

В установке предусмотрено устройство (ротационный кран) для ввода потока исходной смеси, вывода потока с повышенным содержанием «быстрого» компонента, вывода потока с повышенным содержанием медленного компонента и элюента. При этом по мере развития процесса разделения точки ввода и вывода указанных потоков движутся по петле, «перескакивая» от одной колонны к другой. В таком непрерывном процессе разделения реализуется преимущество использования неподвижного плотного

слоя сорбента, связанное с малыми величинами ВЭТС. Его эффективность подтверждается многими примерами промышленных процессов, таких как разделение органических веществ в нефтехимии, в сахарной промышленности и др. [34].

Исследование применимости SMB процесса для разделения стабильных изотопов на примере концентрирования ^{15}N была предпринята в работе [35]. Использовалась та же ионообменная система, что и в описанном выше опыте Спеддинга. Несмотря на то, что в 6-секционной установке высота каждой колонки составляла всего 6 см, удалось достигнуть 2-х кратного концентрирования ^{15}N , при этом величины ВЭТС в зависимости от скорости подвижной фазы варьировались в пределах 0.7-2.2 см. Дальнейшее развитие данной системы, по-видимому, не проводилось из-за того, что в ней не устраняется проблема использования больших количеств вспомогательных реактивов, в данном случае NaOH или KOH.

Также данная техника исследовалась и для случаев разделения изотопов водорода в парах протий-дейтерий, дейтерий-третий, протий-третий из газовой фазы на палладиевом адсорбенте [36]. В том числе в данной работе приведена информация, что в РФЯЦ ВНИИЭФ (г. Саров) для разделения дейтерий-третиевых смесей использовалась SMB установка

Таблица 3. Коэффициенты селективности при сорбции бинарных смесей диводородов на цеолитах NaA (верхний треугольник) и NaX (нижний треугольник) при 77 К.

Table 3. Selectivity coefficients for sorption of binary mixtures of dihydrogens on zeolites NaA (upper triangle) and NaX (lower triangle) at 77 K.

	H ₂	HD	HT	D ₂	DT	T ₂
H ₂		1.43	1.87	2.42	3.30	4.24
HD	1.40		1.31	1.70	2.31	2.97
HT	1.69	1.21		1.30	1.77	2.27
D ₂	2.12	1.52	1.26		1.37	1.76
DT	2.73	1.95	1.62	1.29		1.29
T ₂	3.38	2.42	1.60	1.60	1.25	

с 12 секциями по 6 см длиной и диаметром 1.5 см, которая позволила наработать большие объемы трития высокой концентрации. С учетом важности проблемы разделения изотопов водорода, развитие техники SMB может иметь большие перспективы.

Эффективный хроматографический процесс разделения изотопов водорода на цеолитах описан в работах [37, 38]. Цеолиты показывают высокую селективность при сорбции смесей изотопо-замещенных газообразных смесей диводородов на цеолитах (таблица 3). При этом диводороды сорбируются в значительных количествах при криогенной температуре жидкого азота и количественно десорбируются при повышении температуры до комнатных значений.

Процесс (рис. 7.) заключается в том, что в колонку с цеолитом при -196°C при открытом входном вентиле и закрытом

выходном вентиле дозируют определенную порцию разделяемой смеси газов. После этого закрывают входной и открывают выходной вентили и постепенно опускают сосуд Дьюара с жидким азотом. При контакте с окружающим теплым воздухом верхняя часть колонки нагревается до комнатной температуры и происходит десорбция газа. Происходит движение температурной границы и движение потока газа в направлении от входа к выходу. Как и в обычной элюентной хроматографии, происходит постепенное разделение и формируются зоны практически чистых компонентов. Примеры разделения показаны на рис. 8 в виде выходных кривых.

В отличие от обычной газовой хроматографии в данном процессе отсутствует вспомогательный газ-носитель. По завершении сбора фракций все операции по-

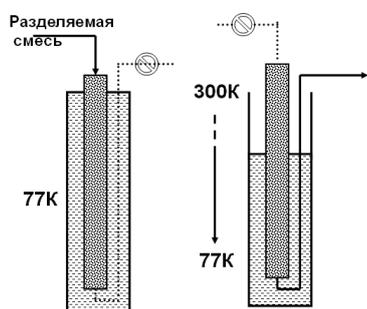


Рис. 7. Схема установки для изотопного криогенно-адсорбционного разделения.

Fig. 7. Scheme of the installation for isotopic cryogenic adsorption separation.

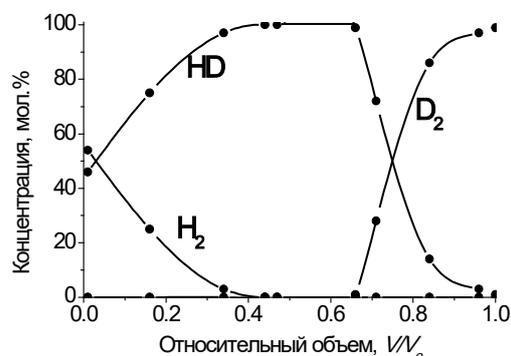


Рис. 8. Концентрирование HD из тройной смеси H₂, HD и D₂ изотопного криогенно-адсорбционного разделения.

Fig. 8. Concentration of HD from a triple mixture of H₂, HD and D₂ isotopic cryogenic adsorption separation.

вторяются. Метод позволяет успешно решать ряд «диводородных» задач. Данным методом впервые в мире получены и аттестованы дейтерий высшей изотопной чистоты (99.9999 ат.% D) и особочистый дейтериеводород (99.98 мол.% HD). Партии изотопночистых дейтерия и дейтериеводорода были переданы в ИЯИ АН СССР (г. Троицк) для использования в ионизаторе с дейтериевой плазмой для мезонной фабрики; в ГЕОХИ как спектральный эталон (HD) для отработки лазерной детекции «водородного дыхания» океана с целью обнаружения атомных подводных лодок. Для ВНИИФТРИ были подготовлены и заполнены две термометрические ячейки для реализации тройных точек дейтерия и дейтериеводорода. Разработаны оригинальные методики изотопного анализа D₂ на уровне чистоты 99.99-99.9999%. Одна из методик газохроматографического изотопного анализа передана в Курчатовский институт.

В рамках Межправительственного англо-русского соглашения по метрологии были проведены работы по подготовке, заполнению особочистым дейтерием и измерению тройных точек D₂ с помощью транспортируемых герметичных термометрических ячеек для новой версии Международной шкалы температур ITS-90. Подготовленные ячейки прошли контроль и показали очень хорошие результаты в Национальных метрологических центрах России (ВНИИФТРИ, пос. Менделеево), в Италии (Институт им. Колонетти, г. Турин) и в Великобритании (Национальная физическая лаборатория, г. Теддингтон). Также этот способ разделения может рассматриваться в плане перспективы его использования для регенерации дейтерий-тритиевого топлива термоядерных реакторов, т.к. в отличие

Список литературы/References

1. Czvet M.S. O novej kategorii adsorbcionny`kh yavlenij i o prilozhenii ix k bio-khimicheskomu analizu. *Trudy` Varshavskogo obshhestva estestvoispy`tatelej, otд. biologii.* 1903; 14: 20-29. (In Russ.)

от рассмотренных выше способов, в нем не используется дорогостоящий палладий.

Заключение

Достоинства применения сорбционных хроматографических методов по сравнению с традиционными физико-химическими системами газ-жидкость заключаются в том, что величины ВЭТС меньше, остановка процесса даже на достаточно длительное время не приводит к фатальному изменению распределения разделяемых компонентов по слою, обычно не требуются особые температурные режимы. В то же время в большинстве случаев эти методы пока не смогли составить существенную конкуренцию традиционным методам разделения стабильных изотопов. Это связано с их периодичностью, необходимостью использовать большие количества вспомогательных реактивов и недостаточно высокой производительностью. Поэтому в проводимых исследованиях по применению хроматографических методов для разделения изотопов стараются решить эти проблемы. Наибольшие успехи были достигнуты при применении адсорбционной хроматографии для разделения смесей диводородов, что находит применение при создании технологий подготовки и регенерации топлива для термоядерного синтеза, получения особо чистых ди-водородов для метрологических исследований.

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. Senchenkova E.M. Mixail Semyonovich Czvet. 1872-1919. AN SSSR. M., Nauka, 1973. 307 s. (In Russ.)

3. Senchenkova E.M. M.S. Czvet – sozdatel` khromatografii. M., Yanus-K. 1997, 440 p. (in Russ.)



4. <http://www.ehp-atom.ru/produkciya/stabilnye-izotopy/>
5. Proizvodstvo izotopnoy konstrukcii <https://www.ecp.ru/activity/nuclear/isotope>
6. Nishizawa K., Watanabe H., Ishino S.I., Shinagawa M. Lithium isotope-separation by cryptand (2B, 2, 1) polymer. *J. Nucl. Sci. Technol.* 1984; 21(2): 133-138.
7. Polevoj A.S. Razdelenie i ispol'zovanie stabil'ny'kh izotopov bora. Itogi nauki i tekhniki. Radioximiya. Yadernaya tekhnologiya. Vol.2: M., VINITI. 1990. 196 p. (in Russ.)
8. Chabak A.F., Polevoj A.S. Izotopy` v reaktorostroenii. In: Izotopy`: svojstva, poluchenie, primenenie. Vol. 2. (Red. Baranov V.Yu.) M. Fizmatlit, 2005: 192. (in Russ.)
9. Baranov V.Yu., Dyad'kin A.P., Malyuta D.D. et al. Lazerny'j razdelitel'ny'j kompleks «Uglerod». 4-ya Vserossiyskaya (mezhdunarodnaya) nauchnaya konferenciya "Fiziko-khimicheskie processy` pri selekcii atomov i molekul". Zvenigorod. 4-8 oktyabrya 1999 g. Sbornik dokladov, CzNIIATOMINFORM: Troiczsk, Moskovskaya oblast`. Tezisy. 11-15. (in Russ.)
10. Andreev B.A., Zel'venskiy Ya.D., Katal'nikov S.G. Razdelenie stabil'ny'kh izotopov fiziko-khimicheskimi metodami. M., Energoatomizdat. 1982. 205 p.
11. Borisevich V.D., Khoroshilov A.V., Gorshkov V.I., Ivanov V.A. Comparative estimation of separation methods for production of highly enriched isotope of nitrogen-15. In: Separation Phenomena in Liquid and Gases. Seventh workshop proceedings. (Ed.: V.D. Borisevich) M. Moscow Engineering Physics Institute. 2000: 218. (In Russ.)
12. Spedding F.H., Powell J.E., Svec H.J. A laboratory method for separating nitrogen isotopes by ion exchange. *J. Am. Chem. Soc.* 1955; 77(23): 6125-6132.
13. Gorshkov V.I., Chumakov V.A., Boeva V.V. Ionoobmennoe razdelenie izotopov azota. *Zhurn. fiz. khimii.* 1968; 12: 3077-3080. (in Russ.)
14. Blum J.M., Marteau S. Separation of boron isotopes. *Energie Nucleaire.* 1972; 14(1): 33-37.
15. Gluekauf E., Kitt A. Hydrogen isotope separation by chromatography. *Proc. of the Int. Symposium on Isotope Separation.* North-Holland Amsterdam, 1957. (Eds.: J. Kistemaker, J. Bigeleisen, A.O. Nier). New York: Wiley-Interscience. 1958: 210-226.
16. Fukada S., Fujiwara H. Comparison of chromatographic methods for hydrogen isotope separation by Pd beds. *J. Chromat. A.* 2000; 898: 125-131.
17. Lässer R., Bell A.C., Bainbridge N., Brennan D., Dörr L., Hemmerich J.L., Knipe S., Stagg R. The preparative gas chromatographic system for jet active gas handling system – tritium commissioning and use during and after DTE1. *Fusion Eng. Design.* 1999.; 47: 301-309.
18. Taylor T.I.; Ure H.C. On the electrolytic and chemical exchange methods for the separation of the lithium isotopes. *J. Chem. Phys.* 1937; 5: 597-598.
19. Glueckauf E., Barker K., Kitt G. Theory of chromatography. 8. The separation of lithium isotopes by ion exchange and of neon isotopes by low-temperature adsorption columns. *Discuss Faraday Soc.* 1949; 7: 199-213.
20. Hagiwara Z., Takakura Y. Enrichment of ⁶Li by ion exchange. *J. Nucl. Sci. Technol.* 1969; 6(3): 153-154.
21. Hagiwara Z. Enrichment of stable isotopes. Theoretical treatment of ion - exchange systems used for lithium isotope separation. *J. Nucl. Sci. Tech.* 1969; 6(9): 508-513.
22. Oi T., Kawada K., Hosoe M., Kakihana H. Fractionation of lithium isotopes in cation-exchange chromatography. *Sep. Sci. Tech.* 1991; 26(10-11): 1353-1375.
23. Mikes J., Durisova J., Jelínek L. Enrichment of lithium isotope ⁶Li by ion exchange resin with specific particle size. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2017; 312(1): 13-18.
24. Chumakov V.F., Gorshkov V.I., Tolmachev A.M., Fedorov V.A. O vozmozhnosti ispol'zovaniya sinteticheskix ceolitov dlya razdeleniya izotopov litiya. *Vest. Mosk. un-ta. Khimiya.* 1969; 5: 22-24. (in Russ.)
25. Isupov V.P., Mitrofanova R.P., Chupaxina L.E., Lyaxov N.E., Aleksandrov A.B., Belozеров I.M. Koeffitsienty` razdeleniya izotopov litiya pri ximicheskom izotopnom obmene. *Khimiya v interesax ustojchivogo razvitiya.* 2001; 9: 183-198. (in Russ.)
26. Bajramov V.T., Tolmachev A.M., Xlebnikov S.G., Fedorova N.N., Afonin V.V., Gorshkov V.I. Sposob razdeleniya izotopov azota. Pat. RF №1443259. 1986. (in Russ.)



27. Tolmachev A.M., Egorov E.H., Razmadze A.A., Kryuchenkova N.G. Termokataliticheskoe vosstanovlenie sernoj kisloty' metanom. *Vest. Mosk. un-ta. Khimiya*. 1999; 40(2): 88-89. (in Russ.)
28. Egorov E.N., Tolmachev A.M., Razmadze A.A., Zueva N.N. Vosstanovlenie sernoj kisloty' metanom v reaktore s dvizhushhimsya sloem katalizatora. *Vest. Mosk. un-ta. Khimiya*. 1999; 40(2): 86-88. (in Russ.)
29. Basmadjian D. The separation of H₂ and D₂ by moving bed adsorption: corroboration of adsorber design equations. *San. J. Chem. Eng.* 1963; 41(6): 269-272.
30. Clayer A., Agneray L., Vandebussche G., Petel P. Preparation des isotopes l'hydrogene par chromatographie en lit mobile. *Z. Anal. Chem.* 1968; 236: 240-249.
31. Andreev B.M., Polevoj A.S. Nepreryvnoe protivotochnoe razdelenie izotopov vodoroda v sisteme «vodorod – palladij». *Zhurn. fizich. Khimii*. 1982; 56: 349-352. (in Russ.)
32. Sağlam G., Özdural A.R. Boron isotopes enrichment via continuous annular chromatography. *Boron*. 2016; 1(1): 20-27.
33. Broughton D.B., Gerhold G.G. Continuous sorption process employing fixed bed of sorbent and moving inlets and outlets. US Patent. 2,985,589. 1961.
34. Ruthven D.M., Ching C.B. Counter-current and simulated counter-current adsorption separation processes. *Chem. Eng. Sci.* 1989; 44(5): 1011-1038.
35. Kruglov A.V., Andreev B.M. Pojidaev Y.E. Continuous isotope separation in systems with solid. II. Separation of nitrogen isotopes with use of ion-exchange resin. *Sep. Sci. Techn.* 1996; 31(4): 471-490.
36. Rozenkevich M.B., Perevezencev M.B. Razdelenie izotopov vodoroda pri vy'sokoj koncentracii tritiya v smesi metodami khromatografii i gipersorbicii. Vzaimodejstvie izotopov vodoroda s konstrukcionny'mi materialami. IHISM'21: Sb. dokladov 7-j Mezhd. konf. i 14-j Mezhd. shkoly' molody'x ucheny'x i specialistov im. A. A. Kurdyumova (Red.: A.A. Yuximchuka). Sarov: FGUP «RFYaCz-VNIIE'F». 2022. 261 p. (in Russ.)
37. Parbuzin V.S., Yakovlev V.A., Lukanov A.A., Leshchev Y.A. Cryoadsorption as universal route to dihydrogens of high and ultra-high individual purity. *Ars Separatoria Acta*. 2003; 2: 84-96.
38. Parbuzin V.S., Yakovlev V.A. MGU-DETRA – mnogocelevaya gazorazdelitel'naya ustanovka dlya polucheniya adsorbiciej vy'sokoobogashenny'x dejteriya i tritiya. *Vestn. Mosk. un-ta. Khimiya*. 2003; 44(5): 299-303. (in Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

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

V.A. Ivanov – Doctor of Chemistry, Professor, Department of Chemistry M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, minilana@mail.ru

Статья поступила в редакцию 15.09.2023; одобрена после рецензирования 19.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

The article was submitted 15.09.2023; approved after reviewing 19.09.2023; accepted for publication 20.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья
УДК 541.183.12
doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11540

Волокнистые аминокарбоксильные иониты ФИБАН К-6 и К-6М для очистки воды от ионов тяжелых металлов

Галина Владимировна Медяк[✉], Александр Акимович Шункевич, Валерий Жанович Ворса, Ольга Ивановна Исакович, Александр Петрович Поликарпов

Институт физико-органической химии национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь, MedyakG@ifoch.bas-net.by[✉]

Аннотация. Разработан новый одностадийный способ получения аминокарбоксильного ионита ФИБАН К-6 на основе полиакрилонитрильного волокна с использованием недорогих и доступных реагентов. Из волокнистого ионита ФИБАН К-6 получен новый аминокарбоксильный ионит ФИБАН К-6М с регулируемым набуханием в воде. Исследованы сорбционные свойства волокон ФИБАН К-6 и К-6М из многокомпонентных растворов. Показаны преимущества этих ионитов не только по сравнению с другими аминокарбоксильными ионитами ФИБАН К-3 и К-5, но и с лучшими сорбентами ионов тяжелых металлов ФИБАН X-1 и X-2 с иминодиацетатными группами. Установлено, что механические свойства волокнистого катионита ФИБАН К-6М позволяют переработать его с высоким выходом в нетканый материал или пряжу и использовать в виде картриджей в фильтрах очистки воды.

Ключевые слова: волокнистые иониты, механические свойства, сорбция, тяжелые металлы, очистка воды.
Для цитирования: Медяк Г.В., Шункевич А.А., Ворса В.Ж., Исакович О.И., Поликарпов А.П. Волокнистые аминокарбоксильные иониты ФИБАН К-6 и К-6М для очистки воды от ионов тяжелых металлов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 471-478. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11540>

Original article

Fibrous aminocarboxylic ion exchangers FIBAN K-6 and K-6M for purification of water from heavy metal ions

Galina V. Medyak[✉], Alexaner A. Shunkevich, Valery Zh. Vorssa, Olga I. Isakovich, Alexander P. Polikarpov

Institute of physical-organic chemistry of the national academy of sciences of Belarus, Minsk, Belarus, MedyakG@ifoch.bas-net.by[✉]

Abstract. A new one-stage method has been developed for the production of aminocarboxyl ion exchanger FIBAN K-6 based on polyacrylonitrile fibre using inexpensive and accessible reagents. The new aminocarboxyl ion exchanger FIBAN K-6M with controlled swelling in water was obtained from the fibrous ion exchanger FIBAN K-6. The sorption properties of FIBAN K-6 and K-6M fibres from multicomponent solutions were studied. The advantages of these ion exchangers are shown not only in comparison with other aminocarboxyl ion exchangers FIBAN K-3 and K-5, but also with the best sorbents of heavy metal ions FIBAN X-1 and X-2 with iminodiacetate groups. It has been established that the mechanical properties of the fibrous cation exchanger FIBAN K-6M allow to process it into non-woven material or yarn with high yield and use it in the form of cartridges in water purification filters.



Keywords: fibrous ion exchangers, mechanical properties, sorption, heavy metals, water purification.

For citation: Medyak G.V., Shunkevich A.A., Vorsa V.Zh., Isakovich O.I., Polikarpov A.P. Fibrous aminocarboxylic ion exchangers FIBAN K-6 and K-6M for purification of water from heavy metal ions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 471-478. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11540>

Введение

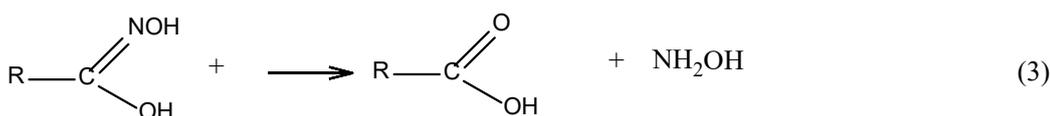
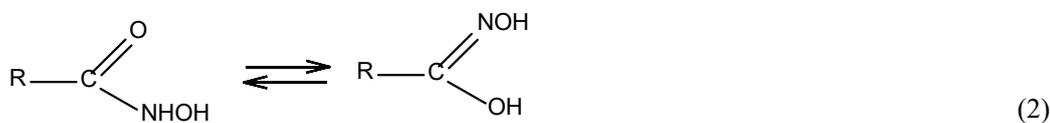
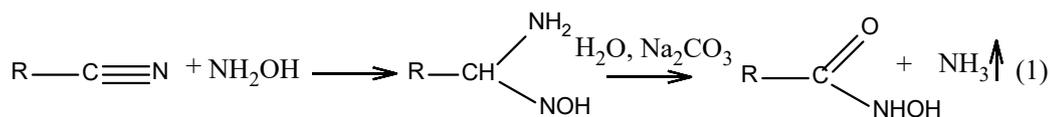
В условиях постоянного увеличения антропогенной нагрузки на окружающую среду ухудшается качество как поверхностных, так и подземных вод, в том числе по содержанию тяжелых металлов. К наиболее опасным металлам, загрязняющим воду, относят Pb, Cd, Hg, Zn, Mo, Ni, Co, Sn, Ni, Cu и V. Традиционные схемы очистки воды не всегда обеспечивают удаление ионов металлов до уровня ПДК. В современных методах водоочистки и водоподготовки активно используются мембранные и ионообменные технологии [1]. Создание селективных сорбентов, используемых в ионообменных технологиях, является актуальной задачей. Особенно большое значение приобретает разработка хемосорбционных волокон [2, 3], которые будут востребованы на мировом рынке для нужд промышленности и улучшения экологической обстановки. Важным обстоятельством для внедрения таких сорбентов служит себестоимость и конечная цена выпускаемой продукции. В ИФОХ НАН Беларуси разработаны и выпускаются в опытно-промышленном масштабе катиониты ФИБАН X-1 и X-2 с иминодиацетатными группами, отличающиеся повышенным сродством к ионам тяжелых металлов [4]. Одна из последних разработок Института – создание нового аминокарбоксильного катионита ФИБАН K-6, перспективного для использования в очистке технической и питьевой воды от катионов меди, свинца и кадмия [5]. Однако недостатком этого волокна является его высокое набухание в воде при достижении обменной емкости по карбоксильным группам 5 и более мг-экв/г.

Цель настоящей работы состояла в разработке способа получения аминокарбоксильного волокна с регулируемым набуханием, доступного по цене и не уступающего по сорбционным и механическим свойствам лучшим из уже выпускаемых волокнистых сорбентов.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовали аминокарбоксильные иониты ФИБАН K-6 и K-6M. Объектами сравнения были выбраны иониты ФИБАН K-3 и K-5 с карбоксильными группами и иониты ФИБАН X-1 и X-2 с иминодиацетатными группами. Все катиониты были синтезированы на основе полиакрилонитрильного (ПАН) волокна Нитрон Д (сополимер 90.5% акрилонитрила, 8.5% метилакрилата и 0.95% натриевой соли 2-акриламидо-2-метилпропансульфоуксусной кислоты).

Катионообменные волокна ФИБАН K-6 получали в одну стадию обработкой полиакрилонитрильного волокна раствором гидроксиламина (ГА) в присутствии избытка карбоната натрия для создания щелочной среды согласно уравнению (1) и диэтилентриамина (ДЭТА) в качестве сшивающего агента. В результате в состав волокон вводили группы гидроксамовой кислоты, которые образовывались при перегруппировке согласно уравнению (2) и подвергались последующему гидролизу в воде с образованием карбоксильных групп и высвобождением ГА по уравнению (3). Новое аминокарбоксильное волокно ФИБАН K-6M с регулируемым набуханием было получено путем сшивания волокон ФИБАН K-6 эпихлоргидрином.



Синтез катионита ФИБАН К-3 осуществляли в две стадии: сшивание ПАН волокна с помощью полиэтиленполиаминов (диэтилентриамин или триэтилентетрамина) и последующего гидролиза нитрильных групп [6]. ФИБАН К-5 синтезировали путем обработки ПАН волокна гидразингидратом и щелочного гидролиза нитрильных групп ПАН до карбоксильных [7]. Хелатные иониты ФИБАН Х-1 и Х-2 также синтезировали в две стадии [4, 8, 9]. На первой стадии проводили аминирование ПАН волокна этилендиамином (ЭДА) или ДЭТА из паровой фазы или из водного раствора. На второй стадии аминированное волокно алкилировали монохлоруксусной кислотой или ее натриевой солью.

Подготовка ионитов к испытаниям. Для определения обменной емкости образцы ионитов переводили в $H^+ - Cl^-$ форму обработкой 0.5 н раствором HCl с последующей отмывкой дистиллированной водой до pH 3.1-3.5. Для изучения сорбционных свойств образцы переводили в $H^+ - Na^+$ форму обработкой ацетатным буфером с pH 6. Влажность воздушно-сухих образцов определяли гравиметрически по потере массы после высушивания до постоянной массы при температуре $100 \pm 2^\circ C$.

Обменную емкость определяли титриметрически по методике, разработанной для полиамфолитов [10]. Величину набухания рассчитывали по разности масс сухого и набухшего образца, отцентрифугированного в течение 15 мин при

4000 об/мин (1290 г). Сорбцию ионов тяжелых металлов проводили в динамических условиях из модельного раствора, содержащего по $4 \cdot 10^{-2}$ мг-экв/г катионов меди, свинца, никеля, кобальта, кадмия и цинка на фоне 4 мг-экв/г катионов кальция, что соответствует среднему уровню жесткости воды в Беларуси. Для исключения выпадения осадков сорбцию изучали при постоянном значении pH, равном 6. Высота сорбционного слоя в колонке с внутренним диаметром 1.25 см составляла 3 см при плотности слоя сорбента 0.2 г/см^3 . Скорость потока, выраженная в величинах, пропорциональных объему сорбционного слоя, составляла $3.0 \div 3.2 \text{ BV/мин}$ и обеспечивала время контакта сорбента с раствором в течение 19-20 с.

Содержание ионов металлов в растворе до и после сорбции определяли на атомно-адсорбционном спектрофотометре Varian AA-200.

Деформационно-прочностные свойства волокон определяли с помощью электронной разрывной машины FM-27. Диаметр волокон измеряли с помощью микроскопа МБР-1, снабжённого микрометрической приставкой МОВ-1-15^х. Полученные данные статистически обработаны и приведены в виде среднего арифметического ($X_{cp.}$) с указанием доверительного интервала для математического ожидания измеренных / вычисленных величин, который установлен с надёжностью $\beta=0.95$ при числе измерений n .

Таблица 1. Физико-химические характеристики ионитов ФИБАН.

Table 1. Physico-chemical characteristics of FIBAN ion exchangers.

Тип ионита	Аминирующие и омыляющие реагенты	ОЕ, мг-экв/г		W, г H ₂ O/г ионита	
		по COOH	по аминокруппам	H ⁺ форма	H ⁺ – Na ⁺ форма
К-6	ДЭТА, ГА, Na ₂ CO ₃	4.2	1.8	0.9	2.52
К-6М	ДЭТА, ГА, Na ₂ CO ₃ , ЭПХГ	3.7	1.0	0.5-0.6	1.58
К-3	ДЭТА, ТЭТА, NaOH	5.4	1.7		
К-5	ГГ, NaOH	5.4	1.2		
Х-1	ЭДА, ДЭТА, CH ₂ ClCOOH	3.7	0.6	0.6-0.7	
Х-2	ЭДА, ДЭТА, CH ₂ ClCOOH	4.9	0.9	0.4-0.5	

ОЕ – обменная емкость, W – набухание в воде, ЭДА – этилендиамин H₂NCH₂CH₂NH₂, ДЭТА – диэтиленetriамин H₂N(CH₂)₂NH(CH₂)₂NH₂, ТЭТА – триэтилентетрамин H₂N(CH₂)₂NH(CH₂)₂NH(CH₂)₂NH₂, ГГ – гидразин гидрат H₂N–NH₂×H₂O, ГА – гидроксилламин NH₂OH, ЭПХГ – эпихлоргидрин CH₂–O–CH–CH₂Cl

Таблица 2. Динамическая сорбционная емкость (ДЕ) до проскока 5% исходной концентрации катионов металлов для волокнистых ионитов ФИБАН

Table 2. Dynamic sorption capacity (DC) up to a breakthrough of 5% of the initial concentration of metal cations for FIBAN fibrous ion exchangers

Марка ионита ФИБАН	ДЕ, мг-экв/г					
	Cu	Pb	Ni	Co	Cd	Zn
К-6	0.58	0.51	0	0	0.07	0.04
К-6М	0.42	0.83	0	0	0.9	0.12
К-3	0.30	0.30	0.04	0	0.17	0.05
К-5	0.24	0.31	0.08	0	0.08	0.05
Х-1	0.92	0.87	0.35	0.13	0.16	0.10
Х-2	0.80	0.63	0.16	0.15	0.15	0.15

Обсуждение результатов

Физико-химические характеристики объектов исследования представлены в таблице 1. Изученные иониты различаются по содержанию и природе карбоксильных групп, а также по набуханию и соотношению количества карбоксильных и аминокрупп.

В результате проведения сорбционных исследований показано, что сорбционная активность по ионам меди, свинца, кадмия и цинка для катионитов ФИБАН Х-1, Х-2 и К-6, К-6М значительно выше, чем для аминокарбоксильных ионитов ФИБАН К-3 и К-5 (таблица 2). При этом катионит ФИБАН К-6М не уступает катионитам ФИБАН Х-1 и Х-2, лучшим среди волокнистых сорбентов ионов тяжелых металлов. Это особенно важно с точки зрения получения эффективного

сорбента с использованием недорогих и малотоксичных реагентов.

Для оценки влияния скорости потока водных растворов через волокно на эффективность сорбции была исследована зависимость степени сорбции катионов меди или свинца от скорости потока. Данные приведены на рисунке 1 и в таблице 3. Установлено, что с увеличением скорости потока в 8 раз (от 10 до 80 BV/мин) степень извлечения ионов меди и свинца падает в 1.4 раза для ФИБАН К-3, в 1.3 раза для ФИБАН К-5, в 1.2 раза для ФИБАН Х-1 и К-6 и всего в 1.15 для ФИБАН Х-2 и К-6М. И это притом, что степени извлечения целевых ионов при скорости потока 0.18 м/с (10 BV/мин) для двух последних ионитов достигают 97 и 99% соответственно.

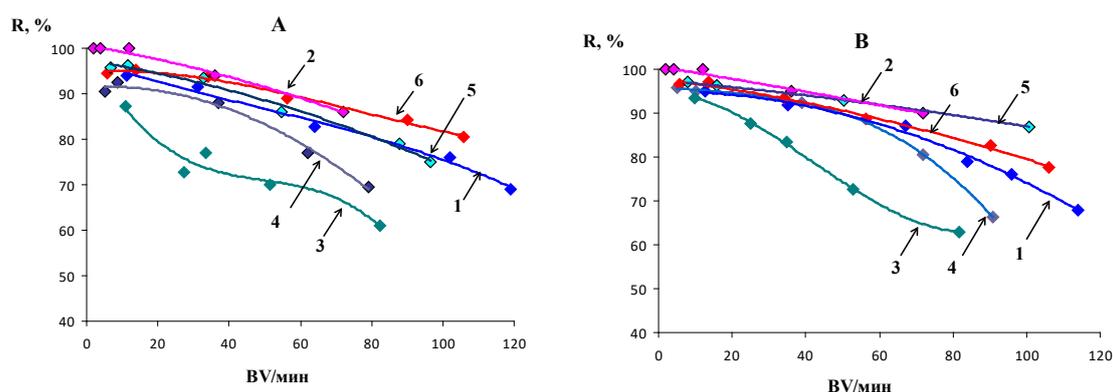


Рис. 1. Зависимость степени извлечения ионов Pb^{2+} (А) и Cu^{2+} (В) из водопроводной воды ионитами ФИБАН от скорости потока пропущенного раствора, BV/мин (BV – колоночный объем). 1 – К-6, 2 – К-6М, 3 – К-3, 4 – К-5, 5 – Х-1, 6 – Х-2.

Fig. 1. The dependence of the extraction degree of Pb^{2+} (A) and Cu^{2+} (B) ions from tap water by FIBAN ion exchangers on the flow rate of the passed solution, BV/min (BV – column volume). 1 – К-6, 2 – К-6М, 3 – К-3, 4 – К-5, 5 – Х-1, 6 – Х-2.

Таблица 3. Степени извлечения (R) катионов Cu и Pb волокнистыми ионитами ФИБАН из модельного раствора, приготовленного на водопроводной воде, при скорости потока 10 и 80 BV/мин

Table 3. Degrees of extraction (R) of Cu and Pb cations by FIBAN fibrous ion exchangers from a model solution prepared with tap water at a flow rate of 10 and 80 BV/min

Марка ионита ФИБАН	BV/мин	Cu, $C_0 \sim 60$ мкг/л	Pb, $C_0 \sim 100$ мкг/л
		R	R
К-6	10	0.95	0.90
	80	0.80	0.81
К-6М	10	0.99	0.99
	72	0.90	0.86
К-3	10	0.87	0.83
	80	0.63	0.62
К-5	10	0.92	0.91
	80	0.75	0.68
Х-1	10	0.96	0.96
	80	0.90	0.81
Х-2	10	0.97	0.95
	80	0.85	0.86

Важными для промышленного использования волокнистых ионитов являются их физико-механические свойства, которые обеспечивают возможность переработки этих материалов в различные текстильные формы: расчесанный штапель, нетканые материалы, пряжу. В свою очередь такие материалы легко могут быть интегрированы в существующие системы очистки воды, например, в виде картриджей, помещенных в корпуса магистральных фильтров.

Проведена оценка деформационно-прочностных характеристик образцов катионита ФИБАН К-6М в солевой и водородной формах, хелатного аминокарбоксильного ионита ФИБАН Х-1 и промышленного волокна Нитрон Д, который служил исходным материалом для получения катионообменных волокон (таблица 4). Средний диаметр волокон катионитов ФИБАН выше, чем у волокон Нитрон Д, что является результатом полимераналогичных превращений исходного

Таблица 4. Деформационно-прочностные характеристики исходного ПАН волокна и волокнистых ионитов ФИБАН на его основе (Доверительный интервал для математического ожидания измеренных величин рассчитан с надёжностью $\beta = 0.9^*$ и $\beta = 0.95$ при числе измерений n)

Table 4. Deformation-strength characteristics of the original PAN fibre and FIBAN fibrous ion exchangers based on it (the confidence interval for the mathematical expectation of the measured values was calculated with reliability $\beta = 0.9^*$ and $\beta = 0.95$ for number of measurements n)

Образец	Число измерений	d, мкм	F, г	σ , кг/мм ²	ϵ , %
ФИБАН К-6М (Н-форма)	15	29.7±2.3	8.1±1.0	11.9±1.1	56.9±23.1
ФИБАН К-6М (Na-форма)	10	28.8±2.3	4.7±0.9	7.13±0.6	62.9±9.3
Нитрон Д*	10 _≥ n _≥ 7	17.9±0.5	7.8±1.1	30.8±4.1	22.9±4.3
ФИБАН X-1 (Н-форма)*		23.2±1.1	5.5±1.9	12.6±3.9	44.6±5.3

d – диаметр одиночных волокон, F – разрывная нагрузка, σ – прочность на разрыв, ϵ – удлинение при разрыве.

волокна. Для волокон катионита ФИБАН К-6М в Н-форме усилие при разрыве выше, чем для волокон ФИБАН X-1, и практически не отличается от исходного волокна. Значительное уменьшение величины прочности при разрыве для катионитов ФИБАН по сравнению с исходным ПАН волокном можно объяснить увеличением площади сечения модифицированных волокон за счёт возрастания их диаметра ($\sigma=F/S$). В то же время удлинение при разрыве волокон ФИБАН К-6М, как и волокон ФИБАН X-1, заметно выше, чем исходных ПАН волокон, что может быть следствием пластификации Нитрона Д в результате полимераналогичных превращений и введения в его структуру гидрофильных групп. Поскольку удлинение при разрыве характеризует эластичность, то можно сделать вывод, что волокна ФИБАН более эластичные, по сравнению с исходным ПАН волокном, однако менее прочные. В то же время волокна катионита ФИБАН К-6М в солевой форме менее прочные и более эластичные, чем в водородной форме, что следует учитывать при их использовании в сорбционных системах.

Таким образом, деформационно-прочностные характеристики волокнистого катионита ФИБАН К-6М не уступают характеристикам хелатного волокна ФИБАН X-1, которое перерабатывается в

пряжу и нетканые материалы с высоким выходом и уже используется в составе картриджей очистки воды в бытовых фильтрах. В ноябре 2022 г. из аминокарбоксильного волокна ФИБАН К-6М (без стабилизирующих добавок) была наработана опытная партия (39 кг, два рулона) нетканого иглопробивного материала с поверхностной плотностью 470 и 437 г/м².

Заключение

Разработан новый одностадийный способ получения аминокарбоксильного ионита ФИБАН К-6 и новый аминокарбоксильный ионит ФИБАН К-6М с регулируемым набуханием в воде. Данные иониты относятся к недорогим среди аналогичной продукции, поскольку получены из промышленно выпускаемого ПАН волокна с использованием доступных реагентов. Установлено, что они обладают высокой сорбционной способностью по отношению к ионам меди, свинца, кадмия и цинка, сравнимой с таковой для лучших волокнистых сорбентов этих ионов ФИБАН X-1 и X-2. Показано, волокнистый катионит ФИБАН К-6М не уступает по механическим характеристикам хелатному волокну ФИБАН X-1, вследствие чего перспективен для использования в виде картриджей в составе фильтров очистки воды. Первая опытная партия нетканого материала из



волокна ФИБАН К-6М была произведена в 2022 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет из-

Список литературы

1. Рябчиков Б.Е. Современные методы подготовки воды для промышленного и бытового использования. М.: ДеЛи принт, 2004. 301 с.

2. Зверев М.П., Абдулхакова З.З. Волокнистые хемосорбенты. М.: Народный учитель, 2001. 176 с.

3. Soldatov V.S., Pawlowski L., Shunkevich, A.A., Wasag, H. New materials and technologies for environmental engineering. Part 1. Synthesis and structure of ion exchange fibers. Lublin. 2004. 127 p.

4. Грачек В.И., Шункевич А.А., Марцинкевич Р.В., Солдатов В.С. Хелатные сорбенты для очистки воды // *Экология и промышленность России*. 2005. № 1. С. 25-27.

5. Медяк Г.В., Поликарпов А.П., Шункевич А.А., Грачек В.И., Марцинкевич Р.В., Акулич З.И., Исакович О.И., Радкевич С.Е. Волокнистый сорбент ФИБАН К-6 и перспективы его использования для очистки воды // *Материалы XI Международного водно-химического форума г., Минск, 22-25 мая 2018 г.* С. 106-112.

6. Омельченко Т.Н., Елинсон И.С., Мартинович В.И., Солдатов В.С., Цыганков В.И. Сорбция ионов тяжелых металлов ионообменными волокнистыми материалами ФИБАН // *Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук*. 1999. № 3. С. 63-68.

7. Шункевич А.А., Марцинкевич Р.В., Медяк Г.В., Сокол В.П., Филанчук Л.П., Солдатов В.С. Сравнительная оценка волокнистых карбоксильных ионитов как средств очистки воды от ионов тяжелых металлов // *ЖПХ*. 2004. Т.77, № 2. С. 253-258.

8. Шункевич А.А., Медяк Г.В., Марцинкевич Р.В., Грачек В.И., Солдатов

вестных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

В.С. Волокнистые хелатные аминокарбоксильные иониты // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2001. Т.1, № 4. С. 741-748.

9. Грачек В.И., Лысенко Г.Н., Акулич З.И., Исакович О.И., Шункевич А.А. Исследование строения хелатных волокнистых ионитов методом ИК спектроскопии // *ЖОХ*. 2009. Т.79, № 3. С. 360-365.

10. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.П. Методы исследования ионитов. М.: Химия. 1976. 208 с.

References

1. Ryabchikov B.E. *Sovremennyye metody podgotovki vody dlya promyshlennogo i bytovogo ispolzovaniya*. M.: DeLi print, 2004, 301 p. (In Russ.)

2. Zverev M.P., Abdulkhokova Z.Z. *Voloknistyye hemosorbenty*. M., Narodnyy uchitel, 2001. 176 s. (In Russ.)

3. Soldatov V.S., Pawlowski L., Shunkevich A.A., Wasag H. *New materials and technologies for environmental engineering. Part 1. Synthesis and structure of ion exchange fibers*. Lublin. 2004. 127 p.

4. Grachek V.I., Shunkevich A.A., Marcinkevich R.V., Soldatov V.C. *Helatnyye sorbenty dlya ochistki vody. Ekologiya i promyshlennost Rossii*. 2005; 1: 25-27. (In Russ.)

5. Medyak G.V., Polikarpov A.P., Shunkevich A.A., Grachek V.I., Marcynkevich R.V., Akulich Z.I., Isakovich O.I., Radkevich S.E. *Voloknistyy sorbent FIBAN K-6 i perspektivy ego ispolzovaniya dlya ochistki vody. Materialy XI Mezhdunarodnogo vodno-himicheskogo foruma g., Minsk, 22-25 maya 2018 g.* P. 106-112. (In Russ.)

6. Omelchenko T.N., Elinson I.S., Martynovich V.I., Soldatov V.C., Cygankov V.I. *Sorbciya ionov tyazhelyh metallov ionoobmennymi voloknistymi materialami FIBAN*.



Ves. Nac. akad. navuk Belarusi. Ser. him. navuk. 1999; 3: 63-68. (In Russ.)

7. Shunkevich A.A., Marcynkevich R.V., Medyak G.V., Sokol V.P., Filanchuk L.P., Soldatov V.S. Sravnitel'naya ocenka voloknistykh karboksilnykh ionitov kak sredstv ochistki vody ot ionov tyazhelykh metallov. *ZhPH.* 2004; 77(2): 253-258. (In Russ.)

8. Shunkevich A.A., Medyak G.V., Marcynkevich R.V., Grachek V.I., Soldatov

B.C. Voloknistye helatnye aminokarboksilnye ionity. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2001; 1(4): 741-748. (In Russ.)

9. Grachek V.I., Lysenko G.N., Akulich Z.I., Isakovich O.I., Shunkevich A.A. Issledovanie stroeniya helatnykh voloknistykh ionitov metodom IK spektroskopii. *ZhOH.* 2009; 79(3): 360-365. (In Russ.)

10. Polyanskij N.G., Gorbunov G.V., Polyanskaya N.P. Metody issledovaniya ionitov. M., Himiya. 1976. 208 p. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Г.В. Медяк – к.х.н, вед. науч. сотрудник, Институт физико-органической химии, Национальная академия наук Минск, Беларусь

А.А. Шункевич – к.х.н, вед. науч. сотрудник, Институт физико-органической химии, Национальная академия наук Минск, Беларусь

В.Ж. Ворса – науч. сотрудник, Институт физико-органической химии, Национальная академия наук Минск, Беларусь

О.И. Исакович – науч. сотрудник, Институт физико-органической химии, Национальная академия наук Минск, Беларусь

А.П. Поликарпов – к.х.н, зав. лаб., Институт физико-органической химии, Национальная академия наук Минск, Беларусь

G.V. Medyak – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: medyak@ifoch.bas-net.by

A.A. Shunkevich – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: shunkevich@ifoch.bas-net.by

V.Zh. Vorsa – Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

O.I. Isakovich – Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

A.P. Polikarpov – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: mail: fiban@ifoch.bas-net.by

Статья поступила в редакцию 19.04.2023; одобрена после рецензирования 03.05.2023; принята к публикации 10.05.2023.

The article was submitted 19.04.2023; approved after reviewing 03.05.2023; accepted for publication 10.05.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544.3:543.544.5.068.7:52-17

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11541

Рекуррентные соотношения в хроматографии

Игорь Георгиевич Зенкевич[✉]

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург, Россия,
izenkevich@yandex.ru[✉]

Аннотация. Одна из главных особенностей рекуррентных уравнений первого порядка $y(x + \Delta x) = ay(x) + b$ ($\Delta x = \text{const}$) состоит в том, что они приводят к линейному виду разнообразные монотонные функциональные зависимости, в том числе химических переменных. Столь уникальные возможности рекуррентных соотношений обусловлены тем, что они объединяют свойства арифметических и геометрических прогрессий, а это объясняет возможность линеаризации различных зависимостей времен удерживания, как в газовой, так и в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Рассмотрены примеры применения рекуррентных соотношений для характеристики зависимости времен удерживания аналитов от температуры в газовой хроматографии и от концентрации органических компонентов элюентов в обращенно-фазовой ВЭЖХ. Они эффективны для аппроксимации вариаций индексов удерживания гомологов и конгенов в зависимости от их положения в соответствующих таксономических группах органических соединений. Более того, на основании линейности рекуррентной зависимости индексов удерживания аналитов различных групп можно предполагать их принадлежность к совокупностям гомологов или конгенов. Этот вариант идентификации проиллюстрирован на примере неизвестных ранее продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана – триэтоксисиланола, диэтоксисиландиола и этоксисилантриола.

Отклонения рекуррентной аппроксимации параметров удерживания от линейности не менее информативны. Эта форма сравнения газохроматографических индексов удерживания гомологов позволяет выявлять стерические взаимодействия в молекулах, что проиллюстрировано на примере серии метилзамещенных бензолов. Рекуррентная аппроксимация индексов удерживания бензола, толуола, *m*-ксилола (1,3-диметилбензол) и мезитилена (1,3,5-триметилбензол) отличается линейностью, тогда как значение индекса удерживания стерически напряженного изодурола (1,2,3,5-тетраметилбензол) не соответствует этой зависимости. В обращенно-фазовой ВЭЖХ рекуррентное представление зависимости времен удерживания аналитов от содержания органического компонента элюента позволяет выявлять смещение положений кислотно-основных равновесий в растворах. Кроме того, именно отклонения рекуррентных аппроксимаций времен удерживания от линейности в областях высокого содержания воды в элюенте позволяют детектировать обратимое образование гидратов анализируемых соединений.

Ключевые слова: газовая хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, параметры удерживания, рекуррентная аппроксимация, интерпретация отклонений от линейности.

Для цитирования: Зенкевич И.Г. Рекуррентные соотношения в хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 479-494. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11541>

Original article

Recurrent relations in chromatography

Igor G. Zenkevich[✉]

St. Petersburg State University, Institute of Chemistry, St. Petersburg, Russia, izenkevich@yandex.ru[✉]

Abstract. One of the main features of first-order recurrent equations $y(x + \Delta x) = ay(x) + b$ ($\Delta x = \text{const}$) is that they lead to a linear form of various monotonic functional dependencies, including chemical variables. Such unique capabilities of recurrent relations are due to the fact that they combine the properties of arithmetic and geometric progressions, and this explains the possibility of linearisation of various retention time dependencies, both in gas and high-performance liquid chromatography (HPLC). Examples of the use of recurrent relations



to characterize the dependence of analyte retention times on temperature in gas chromatography and on the concentration of organic components of eluents in reversed-phase HPLC are considered. They are effective in approximating variations in the retention indices of homologues and congeners depending on their position in the corresponding taxonomic groups of organic compounds. Moreover, based on the linearity of the recurrent dependence of the retention indices of analytes of various groups, it can be assumed that they belong to homologues or congeners. This identification option is illustrated by the example of previously unknown products of partial hydrolysis of tetraethoxysilane – triethoxysilanol, diethoxysilanediol and ethoxysilanetriol. Deviations of the recurrent approximation of retention parameters from linearity are also informative. This form of comparison of gas chromatographic retention indices of homologues allows identifying steric interactions in molecules, as illustrated by the example of a series of methyl-substituted benzenes. Recurrent approximation of the retention indices of benzene, toluene, *m*-xylene (1,3-dimethylbenzene) and mesitylene (1,3,5-trimethylbenzene) are linear, while the retention index of Sterically hindered isodurool (1,2,3,5-tetramethylbenzene) does not correspond to this dependence. In reversed-phase HPLC, the recurrent representation of the dependence of the retention times of analytes on the content of the organic component of the eluent allows identifying the shift in the positions of acid-base equilibria in solutions. In addition, the deviations of recurrent approximations of retention times from linearity in regions with high water content in the eluent allows detecting the reversible formation of hydrates of the analysed compounds.

Keywords: gas chromatography, high performance liquid chromatography, retention parameters, recurrent approximation, interpretation of deviations from linearity.

For citation: Zenkevich I.G. Recurrent relations in chromatography. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 479-494. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11541>

Введение

Настоящая работа представляет собой содержание пленарного доклада автора на IV Всероссийской школе-семинаре «Сорбция и хроматография» (Воронеж, ВГУ, май 2023 г.). Актуальность рассматриваемых вопросов объясняется эффективным использованием так называемых рекуррентных (синоним: рекурсивных) соотношений в различных областях хроматографии. Статья со сходным названием (Application of recurrent relationships in chromatography) была опубликована в *J. Chemometrics* в 2009 году [1]. Однако с тех пор области их применения существенно расширились, что объясняет целесообразность переосмысления проблемы на новом уровне.

Применение рекуррентных соотношений отличается удивительным разнообразием, но в газовой и высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) хроматографии они представляют интерес в первую очередь для аппроксимации зависимостей характеристик удерживания аналитов (времен удерживания, t_R) от параметров процессов. К обычно используемым для этого соотношениям относят следующие:

В газовой хроматографии логарифмы исправленных времен удерживания (t_R')

линейно зависят от обратных температур хроматографических систем [2]. Уравнение является следствием пропорциональности величин $\log t_R'$ свободным энергиям взаимодействия «сорбат – неподвижная фаза»:

$$\log t_{R'} = a/T + b \quad (1)$$

При необходимости увеличения точности аппроксимации можно использовать соответствующие трехпараметровые уравнения. В обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ эквивалентом температуры хроматографической системы является содержание органического компонента элюента (C , объемн. %), однако уравнений, аналогичных по степени общности соотношению (1), нет. Используют уравнение Скотта-Кучеры [3]

$$1/t_{R'} = aC + b, \quad (2)$$

Сочевинского-Вахтмейстера [4, 5]

$$\log t_{R'} = aC + b, \quad (3)$$

Снайдера-Сочевинского [4, 6]

$$\log t_{R'} = a \log C + b, \quad (4)$$

полиномиальные соотношения [7]

$$\log t_{R'} = aC^2 + bC + c, \quad (5)$$

и другие. Встречаются примеры, когда для разных компонентов одних и тех же образцов оптимальными (например, по

критерию максимального значения коэффициента корреляции, R) оказывались разные соотношения.

Почти во всех вариантах хроматографического разделения логарифмы исправленных времен удерживания пропорциональны числу атомов углерода в молекулах гомологов (n_C) [2], что обусловлено аддитивностью свободных энергий взаимодействий «сорбат – неподвижная фаза»:

$$\log t_{R'} = a n_C + b \quad (6)$$

Во все уравнения (1) – (6) входят так называемые исправленные времена удерживания, $t_{R'} = t_R - t_0$, где t_0 – время удерживания теоретически несорбируемого компонента, которое должно быть либо вычислено, либо определено экспериментально.

Однако все перечисленные соотношения можно заменить известными, но крайне редко используемыми на практике рекуррентными уравнениями.

Линейные рекуррентные уравнения первого порядка можно применять либо к монотонным дискретным функциям целочисленных аргументов

$$A(n+1) = aA(n) + b, \quad (7)$$

либо к равноотстоящим значениям монотонных непрерывных функций

$$B(x + \Delta x) = aB(x) + b, \quad \Delta x = \text{const} \quad (8)$$

коэффициенты a и b находят методом наименьших квадратов.

Соотношения вида (7) лучше всего характеризуют физико-химические свойства гомологов органических соединений, поскольку в этом случае аргумент (число атомов углерода в молекуле) может быть только целым числом. В форме (8) рекуррентные соотношения распространяются на свойства органических соединений, зависящие от температуры, давления, концентрации и других непрерывных характеристик [1, 8-12], для которых необходимо обеспечить вариации аргумента с постоянным «шагом» $\Delta x = \text{const}$.

Уникальные возможности применения рекуррентных соотношений обусловлены их математическими свойствами;

ниже рассмотрены только основные из них. Линейное рекуррентное уравнение (7) имеет алгебраическое решение:

$$A(n) = ka^n + b(a^n - 1)/(a - 1) \quad (9)$$

Это решение представляет собой ряд ($n + 1$ слагаемых), потому что $(a^n - 1)/(a - 1) = a^{n-1} + a^{n-2} + \dots + a + 1$ (10)

Из этого решения следует два предельных случая: если $a \equiv 1$ и $b \neq 0$, то рекуррентное уравнение эквивалентно арифметической прогрессии:

$$A(n) = k + bn \quad (11)$$

Если же $a \neq 1$ и $b \equiv 0$, то оно эквивалентно геометрической прогрессии:

$$A(n) = ka^n \quad (12)$$

Следовательно, в общем случае ($a \neq 1$ и $b \neq 0$) рекуррентные соотношения объединяют свойства арифметических и геометрических прогрессий.

Каждая точка на графике обычной (не рекуррентной) функции $y(x)$ соответствует значениям аргумента x и функции y . Это, казалось бы, естественное условие не выполняется в случае рекуррентных зависимостей, что объясняет нередко встречающиеся сложности восприятия такой формы представления данных. Каждая точка на графике рекуррентной функции отвечает двум последовательным значениям этой функции, а значения аргумента на таких графиках вовсе не представлены. Число точек на таких графиках на единицу меньше количества исходных данных.

Следующее необычное свойство заключается в следующем: если рекуррентные соотношения выполняются для некоторой переменной x , то они выполняются и для любых монотонных функций этой переменной. Эта особенность заслуживала бы графической иллюстрации, если бы не ограниченный объем журнальной публикации. Важным для хроматографических приложений следствием этого свойства оказывается то, что все рекуррентные соотношения эквивалентны как для самих значений t_R , так и их логарифмов, $\log t_{R'}$.

В результате, все известные в хроматографии соотношения для времен удерживания (1) – (6) можно заменить тремя однотипными рекуррентными уравнениями:

Газовая хроматография:

$$t_R(T + \Delta T) = at_R(T) + b, (\Delta T = \text{const}) \quad (13)$$

Высокоэффективная жидкостная хроматография:

$$t_R(C + \Delta C) = at_R(C) + b, (\Delta C = \text{const}) \quad (14)$$

Все варианты хроматографического разделения гомологов:

$$t_R(n_C + 1) = at_R(n_C) + b \quad (15)$$

Важно отметить, что в приведенных соотношениях (13)-(15) использованы абсолютные (не исправленные) времена удерживания; это означает, что необходимости в предварительном определении или вычислении «мертвого» времени удерживания t_0 нет.

В настоящей публикации рассмотрены новые примеры применения указанных рекуррентных соотношений, как в газовой, так и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Экспериментальная часть

Вычисления с использованием рекуррентных соотношений. Простота вычислений с использованием рекуррентных соотношений заслуживает специальных комментариев. В качестве конкретного примера функции целочисленного аргумента выберем, например, квадраты чисел от 3 до 8, т.е. 9, 16, 25, 36, 49 и 64. При желании этот ряд легко может быть продолжен. На рис. 1 приведена графическая иллюстрация алгоритма с использованием программного обеспечения ORIGIN.

Набор исходных данных вводят в столбец A[X], после чего числа во всех строках кроме первой нужно скопировать в столбец B[Y] со сдвигом на одну строку вверх. В некоторых случаях копирование проводят со сдвигом на одну строку вниз, что эквивалентно вычислениям по иному рекуррентному уравнению $A(n-1)=aA(n)+b$ (см. далее). Получаем двумерный набор

исходных данных, для которого можно построить график (Scatter) и вычислить параметры линейной регрессии. Поскольку в данном случае коэффициент корреляции $R = 0.9998$, то визуально этот график не отличим от идеальной прямой линии.

Условия газохроматографического анализа образцов, обсуждаемых в качестве выбранных примеров, указаны в цитируемых работах. Справочные значения газохроматографических индексов удерживания заимствованы из базы NIST [13].

Обсуждение результатов

Рекуррентная аппроксимация температурной зависимости газохроматографических времен удерживания. Времена удерживания *n*-алканов C₅–C₁₀ на WCOT-колонке со стандартной неполярной неподвижной фазой OV-101 при температуре 110°C приведены в табл. 1.

Соответствующая им нелинейная зависимость (рис. 2) может быть линеаризована обычно используемым в подобных случаях уравнением (1), что требует пересчета абсолютных времен удерживания в исправленные. На рис. 3(а) представлен график рекуррентной зависимости (15), построенный по тем же данным без вычисления исправленных времен удерживания (данные расположены по возрастанию). Параметры уравнения линейной регрессии приведены в подписи к рисунку: здесь же можно отметить, что коэффициент корреляции составляет $R = 0.99999$. Уравнение (15) может быть непосредственно использовано для вычисления абсолютных времен удерживания *n*-алканов, содержащих более 10 атомов углерода. Например, для C₁₁ получаем $t_R = 1.847 \times 10.34 - 5.20 \approx 13.90 (\pm 0.03)$ мин.

Следует специально отметить, что исходные времена удерживания *n*-алканов C₅–C₁₀ (табл. 1) можно ранжировать не только по возрастанию, но и по убыванию. Это приводит к рекуррентному соотношению, которое формально может

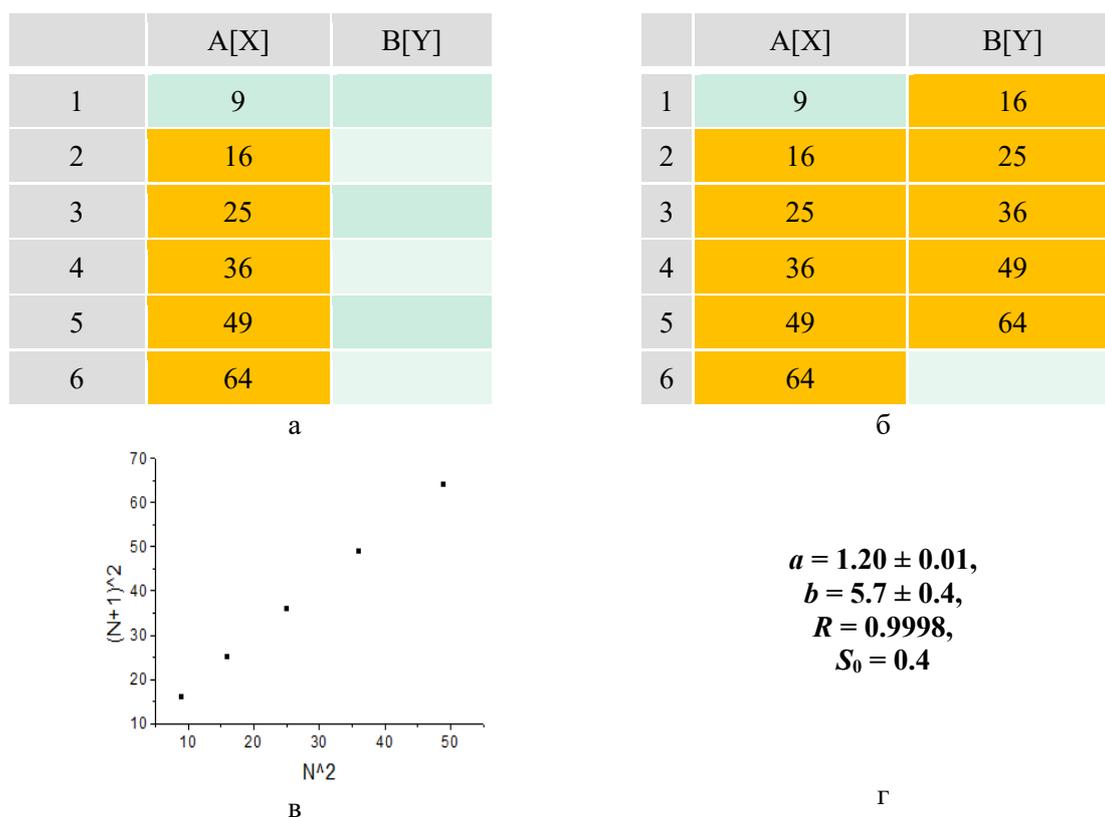


Рис. 1. Графическая иллюстрация алгоритма вычислений с использованием рекуррентных соотношений: а) ввод исходных данных в столбец A[X]; б) копирование содержимое всех строк кроме первой в столбец B[Y] со сдвигом на одну строку вверх; в) построение графика (Scatter) зависимости Y(X); г) вычисление параметров линейной регрессии.

Fig. 1. Graphical illustration of the algorithm of calculations using recurrent relations: а) entering initial data into the column A[X]; б) copying the content of all lines excluding the first one into the column B[Y] with shifting one line up; в) plotting the dependence Y[X] (Scatter); and г) calculation of the parameters of linear regression.

Таблица 1. Времена удерживания *n*-алканов C₅-C₁₀ в изотермических условиях газохроматографического анализа (WCOT-колонка, 110°C)

Table 1. Retention times of *n*-alkanes C₅-C₁₀ in isothermal regime of GC analysis

<i>n</i> -Алкан	<i>t_R</i> , МИН
C ₅	6.33
C ₆	6.50
C ₇	6.80
C ₈	7.37
C ₉	8.41
C ₁₀	10.34

быть получено из уравнения (15) путем простейших алгебраических преобразований:

$$t_R(n_C - 1) = a t_R(n_C) + b \quad (16)$$

График этой зависимости изображен на рис. 3(б); коэффициент корреляции при этом не изменяется ($R=0.99999$; остальные коэффициенты приведены в

подписи к рисунку). Этот вариант отличается от предыдущего тем, что вычисления по уравнению (16) дают времена удерживания *n*-алканов с меньшим на единицу числом атомов углерода. Так, по времени удерживания *n*-пентана (6.33 мин) можно оценить время удерживания *n*-бутана ($0.541 \times 6.33 + 2.82 \approx 6.24$ мин), а,

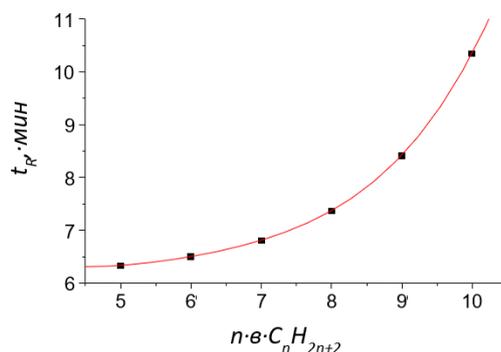


Рис. 2. График зависимости времен удерживания *n*-алканов C₅-C₁₀ от числа атомов углерода в молекуле (WCOT-колонка, температура 110°C).

Fig. 2. Retention time plot of *n*-alkanes C₅-C₁₀ on the number of carbon atoms in the molecule (WCOT column, temperature 110°C).

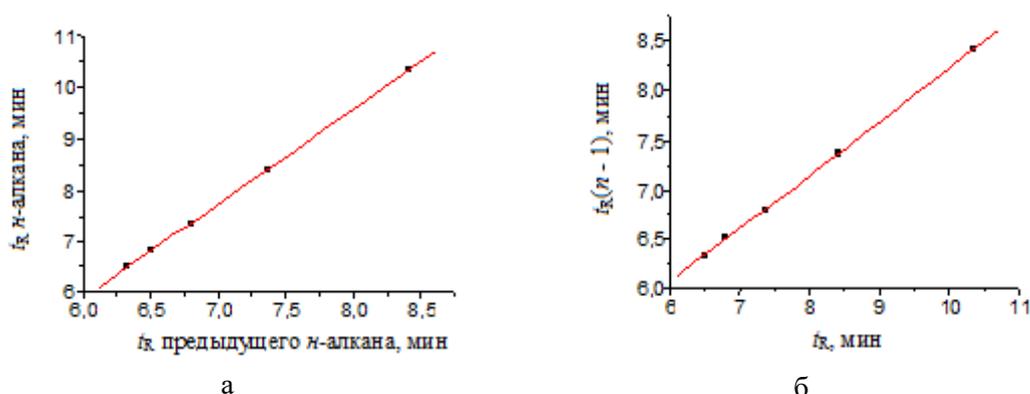


Рис. 3. Рекуррентная аппроксимация времен удерживания *n*-алканов C₅-C₁₀: а) по возрастанию (уравнение 15); параметры линейной регрессии: $a=1.847 \pm 0.005$, $b=-5.20 \pm 0.03$, $R=0.99999$, $S_0=0.008$; б) по убыванию (уравнение 16); параметры линейной регрессии: $a=0.541 \pm 0.001$, $b=2.82 \pm 0.1$, $R=0.99999$, $S_0=0.004$.

Fig. 3. Recurrent approximation of retention times of *n*-alkanes C₅-C₁₀: a) ascending (equation 15); linear regression parameters: $a=1.847 \pm 0.005$, $b=-5.20 \pm 0.03$, $R=0.99999$, $S_0=0.008$; b) descending (equation 16); linear regression parameters: $a=0.541 \pm 0.001$, $b=2.82 \pm 0.1$, $R=0.99999$, $S_0=0.004$.

в результате дальнейших последовательных вычислений, — пропана ($0.541 \times 6.24 + 2.82 \approx 6.20$ мин), этана ($0.541 \times 6.20 + 2.82 \approx 6.17$ мин) и метана ($0.541 \times 6.17 + 2.82 \approx 6.15$ мин). Еще один «шаг» вычислений дает время удерживания гипотетического несорбируемого компонента с нулевым числом атомов углерода ($0.541 \times 6.15 + 2.82 \approx 6.14$ мин). Однако можно обойтись без таких последовательных вычислений, а оценить значение t_0 в одну стадию. Известно, что если коэффициент a рекуррентных зависимостей (13)–(15) меньше единицы, то эти

рекуррентные аппроксимации стремятся к некоторым предельным значениям:

$$\lim t_R |_{n_C \rightarrow 0} = b / (1 - a) \quad (a < 1) \quad (17)$$

В данном случае для убывающей зависимости времен удерживания $\lim t_R(n_C \rightarrow 0) = t_0$. В результате получаем $t_0 \approx 2.82 / (1 - 0.541) \approx 6.14$ мин. Это значение совпадает с величиной, вычисленной по временам удерживания трех последовательных *n*-алканов (например, C₅-C₇) методом Петерсона и Хирша [14].

Рекуррентная аппроксимация зависимости времен удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ от концентрации органического компонента элюента. Времена

Таблица 2. Времена удерживания ацетофенона в изократических условиях (ОФ ВЭЖХ) при разном содержании метанола в элюенте по убыванию (А) и по возрастанию (Б)

Table 2. Retention times of acetophenone under isocratic conditions (RP HPLC) at different methanol contents in the eluent, decreasing (A) and increasing (B)

А		Б	
$C(\text{CH}_3\text{OH})$	t_R , мин	$C(\text{CH}_3\text{OH})$	t_R , мин
30	32.46	80	5.23
40	18.24	70	6.05
50	11.23	60	7.78
60	7.78	50	11.23
70	6.05	40	18.24
80 (эксперим)	5.23	30 (эксперим)	32.46
80 (расчет)	5.21	30 (расчет)	32.45*

*Precalculated t_R values are marked in bold.

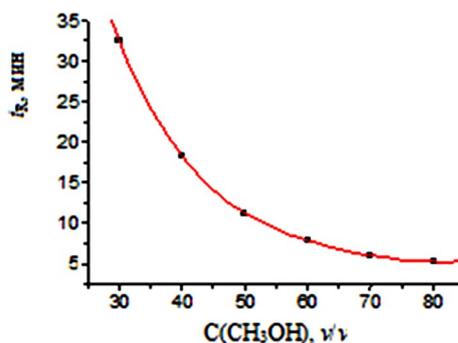


Рис. 4. График зависимости времен удерживания ацетофенона от содержания метанола в составе элюента (объемн. %).

Fig. 4. Diagram of the dependence of the retention time of acetophenone on the methanol content in the eluent (vol. %).

удерживания ацетофенона $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_3$ от содержания метанола в элюенте (изократический режим) приведены в табл. 2. График зависимости $t_R(C)$ изображен на рис. 4.

Рекуррентные представления значений $t_R(C)$ как по их убыванию (соответствует возрастанию C), так и по их возрастанию (соответствует убыванию C) линейны с коэффициентами корреляции выше 0.9999, что иллюстрирует рис. 5 (а, б). Параметры линейных регрессий указаны в подписях к рисунку. Первая из этих регрессий ($a < 1$) позволяет оценить «мертвое» время хроматографической системы по соотношению (17), что дает $t_0 \approx 2.224 / (1 - 0.494) \approx 4.40$ мин. Таким образом, рекуррентные соотношения обеспечивают возможность унификации вычислений как в газовой, так и в ОФ ВЭЖХ.

Для проверки корректности рекуррентной аппроксимации данных можно рекомендовать следующий прием. В варианте А минимальное экспериментальное значение t_R , соответствующее максимальной концентрации метанола в элюенте, исключали из набора данных и вычисляли по параметрам линейной регрессии для остальных концентраций. Наблюдаемое отклонение составило 0.02 мин. Аналогичная процедура проверки в варианте Б (для максимального экспериментального значения t_R , соответствующего минимальной концентрации метанола) показала различия расчетной величины (32.45 мин) от экспериментальной (32.46 мин) всего 0.01 мин.

Рекуррентную аппроксимацию газохроматографических индексов удержива

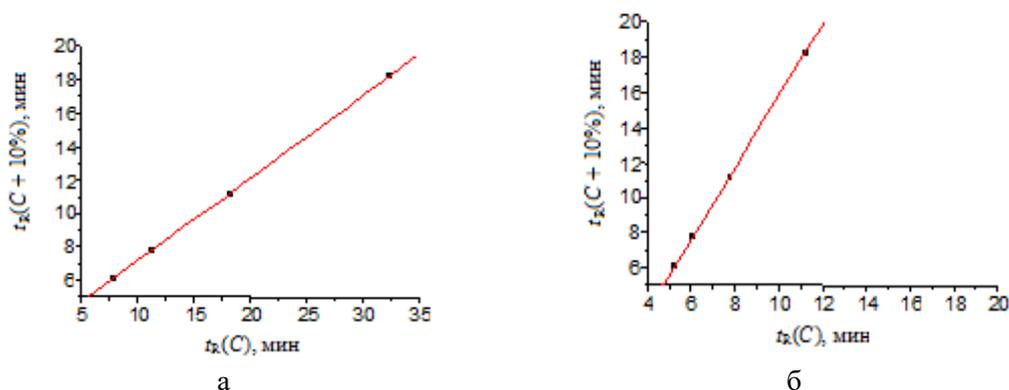


Рис. 5. Рекуррентная аппроксимация времен удерживания ацетофенона а) по убыванию (по возрастанию C , уравнение 15); параметры линейной регрессии: $a = 0.494 \pm 0.001$, $b = 2.224 \pm 0.015$, $R = 0.99999$, $S_0 = 0.014$; б) по возрастанию (по убыванию C , уравнение 16); параметры линейной регрессии:

$$a = 2.027 \pm 0.008, b = -4.52 \pm 0.06, R = 0.99998, S_0 = 0.04.$$

Fig. 5. Recurrent approximation of acetophenone retention times а) descending (according to ascending C , equation 15); linear regression parameters: $a = 0.494 \pm 0.001$, $b = 2.224 \pm 0.015$, $R = 0.99999$, $S_0 = 0.014$; б) ascending (according to descending C , equation 16); linear regression parameters: $a=2.027 \pm 0.008$, $b=-4.52 \pm 0.06$, $R=0.99998$, $S_0=0.04$.

ния конгенов проще всего проиллюстрировать на примере какой-либо простой группы соединений, например, хлорпроизводных метана $\text{CH}_3\text{Cl} \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CHCl}_3 \rightarrow \text{CCl}_4$ с индексами удерживания на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых фазах 332, 518 ± 5 , 605 ± 4 и 658 ± 5 , соответственно [13], которые представляют собой группу не гомологов, а конгенов. Термин «конгенер» (англ. *congener*) используют в разных смыслах (см., например, strephousays.com/congener-and-isomer-9905), однако в органической химии его целесообразнее всего относить к изоструктурным соединениям, различающимся числом молекулярных фрагментов, отличных от гомологической разности. Зависимость $\text{RI}(n\text{Cl})$, как и следовало ожидать, нелинейна (рис 6а), но ее представление в рекуррентном виде (рис. 6б) достаточно хорошо может быть аппроксимировано уравнением линейной регрессии (коэффициент корреляции $R=0.998$). Несколько меньшие значения R по сравнению с рассмотренными выше примерами обусловлены тем, что оценки

погрешностей самих значений RI (межлабораторная воспроизводимость) составляют около 1% их величин [13].

Аналогичный вид имеют рекуррентные аппроксимации индексов удерживания в пределах других таксономических групп, например, бромпроизводных метана.

Особая ценность таких примеров в формулировке важного «обратного» заключения. На основании линейности рекуррентной аппроксимации индексов удерживания некоторой группы химически родственных соединений можно предположить, что эти соединения могут относиться к группам гомологов или конгенов. Учет этой особенности важен при идентификации неизвестных ранее соединений, что иллюстрирует следующий пример.

Газохроматографическая идентификация необычных продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана. Тетраэтоксисилан (тетраэтилортосиликат, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, ТЭС) широко применяют в промышленности в качестве сшивающего реагента для силиконовых полимеров, прекурсора для получения особо чи

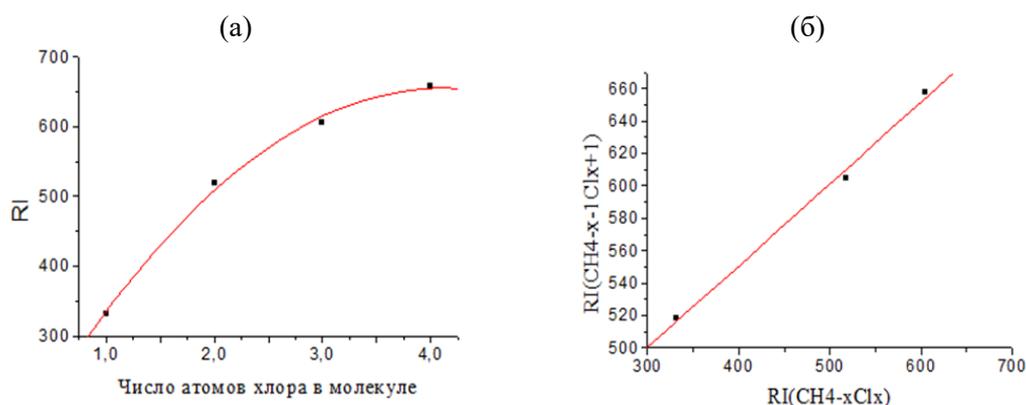


Рис. 6. а) Зависимость индексов удерживания хлорпроизводных метана $\text{CH}_{4-x}\text{Cl}_x$ ($1 \leq x \leq 4$) на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах от числа атомов хлора в молекуле; б) рекуррентное представление этой же зависимости. Параметры линейной регрессии: $a = 0.51 \pm 0.03$, $b = 348 \pm 0.17$, $R = 0.998$, $S_0 = 6.7$.

Fig. 6. a) Dependence of retention indices of methane chlorinated derivatives $\text{CH}_{4-x}\text{Cl}_x$ ($1 \leq x \leq 4$) on standard non-polar polydimethylsiloxane stationary phases, depending on the number of chlorine atoms in the molecule; b) recurrent representation of the same dependence. Linear regression parameters: $a = 0.51 \pm 0.03$, $b = 348 \pm 0.17$, $R = 0.998$, $S_0 = 6.7$

стого диоксида кремния, компонента самоотверждающихся композиций и др. [15]. Одно из основных химических свойств этого соединения – его легкий гидролиз.

Аналитическая «загадка» образца ТЭС состояла в том, что в его препарате, долго (более 40 лет) хранившемся в стандартной таре, тетраэтоксисилан полностью отсутствовал. Этот вывод следует из важной особенности хроматографических индексов удерживания (RI): совпадение значений RI аналитов с предполагаемыми значениями недостаточно для их однозначной идентификации, однако отсутствие ожидаемых значений RI позволяет сделать вполне определенный вывод об отсутствии соответствующих компонентов. В данном случае речь идет об отсутствии в образце ТЭС (индекс удерживания на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых фазах 978 ± 10) и его основной ожидаемой примеси – гексаэтоксидисилоксана $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{Si-O-Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3 - 1335 \pm 2$ [14]. При этом внешний вид образца ТЭС (бесцветная жидкость со специфическим эфирным запахом) сохраняется.

На хроматограмме этого образца (рис. 7) пик тетраэтоксисилана отсутствует, а вместо него регистрируются сигналы четырех компонентов с меньшими индексами удерживания в достаточно узком диапазоне (менее 500-727). Именно этот факт препятствует хромато-масс-спектрометрической идентификации таких компонентов, так как положение пиков большинства растворителей попадает именно в этот диапазон. Первый из этих компонентов легко может быть идентифицирован как этанол ($\text{RI } 440 \pm 13$) просто по совпадению его времени удерживания со временем удерживания образца сравнения. После этого остаются три неидентифицированных компонента:

Компонент (см. рис. 7)	Индекс удерживания
№ 1	537 ± 2
№ 2	608 ± 1
№ 3	727 ± 3

Никаких данных о примесях, более летучих, чем исходный тетраэтоксисилан, в литературе найти не удалось. Поскольку все они определенно образуются из ТЭС, то их вполне можно полагать какими-то

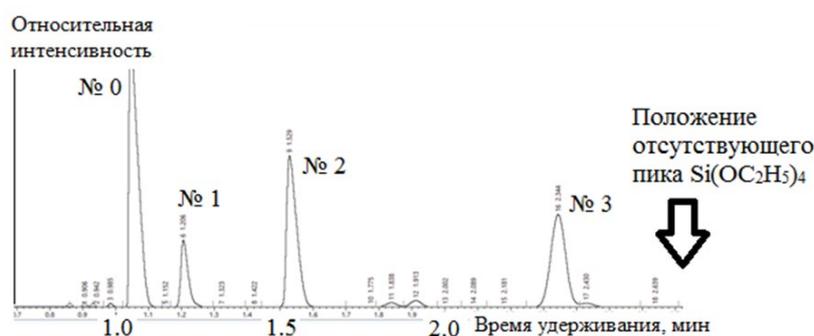


Рис. 7. Фрагмент хроматограммы примесей в образце тетраэтоксисилана (проанализирован без растворителя).

Fig. 7. Fragment of a chromatogram of impurities in a tetraethoxysilane sample (analysed without solvent).

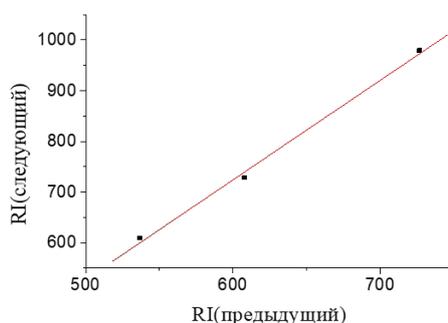


Рис. 8. Рекуррентная зависимость индексов удерживания продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана в форме «RI последующего пика – RI предыдущего пика». Параметры уравнения линейной регрессии: $a = 0.51 \pm 0.03$, $b = 233 \pm 23$, $R = 0.998$, $S_0 = 7.9$.

Fig. 8. Recurrent dependence of the retention indices of the products of partial hydrolysis of tetraethoxysilane “RI of the subsequent peak – RI of the previous peak.” Linear regression equation parameters: $a = 0.51 \pm 0.03$, $b = 233 \pm 23$, $R = 0.998$, $S_0 = 7.9$.

ранее неизвестными продуктами его частичного гидролиза. С целью их идентификации был проведен ряд специальных тестов [15]. Установлено, что указанные компоненты нестабильны, но их химические свойства идентичны свойствам самого ТЭС. Главным же критерием является линейность рекуррентной аппроксимации их времен удерживания. Ее особенность в данном случае состоит в том, что ее проводят в координатах «RI следующего пика – RI предыдущего пика». В результате получаем практически линейную зависимость (рис. 8) с коэффициентом корреляции $R=0.998$, то есть не хуже, чем в случае хлорпроизводных метана (рис. 6). Отсюда следует, что обнаруженные компоненты №№ 1-3 вполне могут представлять собой группу конгенов.

Объединение всей доступной информации для рассматриваемых компонентов №№ 1-3 (происхождение в результате частичного гидролиза ТЭС, сходные химические свойства, невысокая стабильность, принадлежность к группе конгенов) позволили идентифицировать три ранее неизвестных «экзотических» соединения. Это (по увеличению степени гидролиза исходного ТЭС и в последовательности уменьшения значений RI) триэтоксисиланол $(C_2H_5O)_3Si(OH)$, диэтоксисиландиол $(C_2H_5O)_2Si(OH)_2$ и этоксисилантриол $(C_2H_5O)Si(OH)_3$ (табл. 3). Их необычность состоит в том, что в химии соединений углерода вещества, содержащие две или три гидроксильные группы при одном атоме углерода, тем

Таблица 3. Результаты идентификации примесей в образце тетраэтоксисилана – продуктов его частичного гидролиза [15]

Table 3. Results of identification of impurities (products of tetraethoxysilane partial hydrolysis) in tetraethoxysilane sample [15]

№ пика	Индекс удерживания	Формула	Название
1	537±2	(C ₂ H ₅ O)Si(OH) ₃	Этоксисилантриол
2	608±1	(C ₂ H ₅ O) ₂ Si(OH) ₂	Диэтоксисиландиол
3	727±3	(C ₂ H ₅ O) ₃ Si(OH)	Триэтоксисиланол

более в сочетании с алкоксильными фрагментами, настолько нестабильны, что за редкими исключениями не могут быть изолированы в индивидуальном состоянии. Такие структуры относительно устойчивы только в ряду кремнийсодержащих соединений. Из всех соединений этой группы лишь для одного – триэтоксисиланол – известен масс-спектр [13].

Интерпретация отклонений рекуррентных соотношений от линейности. Изложенное выше можно резюмировать следующим образом: если процессы хроматографического разделения не сопровождаются какими-либо аномалиями, или же свойства органических соединений в пределах таксономических групп не содержат аномальных значений, то рекуррентные аппроксимации аналитических параметров или значений таких свойств характеризуются линейностью, подтверждаемой высокими значениями коэффициентов корреляции (0.999 и выше). Иллюстрацией этого положения могут служить соответствующие зависимости времен (рис. 3) и индексов удерживания (рис. 6 и 8) в газовой хроматографии и в ОФ ВЭЖХ (рис. 5). Если же такие процессы сопровождаются какими-либо

аномалиями или же аномалии проявляются в свойствах отдельных гомологов или конгенов, то можно ожидать отклонений рекуррентных зависимостей от линейности. Это положение можно проиллюстрировать следующим конкретным примером.

Выявление аномалий газохроматографических индексов удерживания метилзамещенных бензолов на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах. Рассмотрим последовательность метилзамещенных бензолов, в которых метильные группы находятся в стерически незатрудненных положениях. Таких гомологов всего четыре: незамещенный бензол, толуол, *m*-ксилол и мезитилен (все метильные группы расположены в *meta*-положениях одна к другой). Введение следующей метильной группы (изодурол) приведет к тому, что она окажется в *ortho*-положениях к двум уже имеющимся в молекуле метильным группам, что приведет к затруднению ее вращения по простой связи C(sp²)-C(sp³) (так наз. эффект шестеренок).

График рекуррентной зависимости RI(*n*_C) (рис. 9) содержит четыре точки. Три из них, соответствующие четырем гомологам, содержащим метильные

Бензол	Толуол	<i>m</i> -Ксилол	Мезитилен	Изодурол
RI 654 ± 7	757 ± 6	860 ± 6	962 ± 6	1110 ± 6

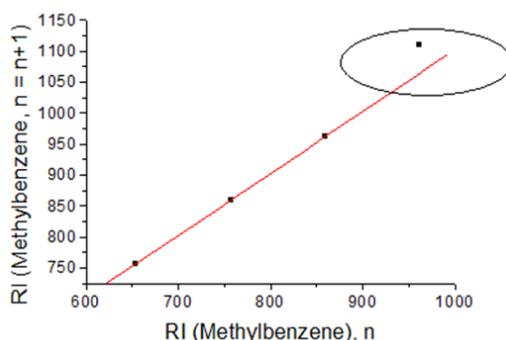


Рис. 9. Рекуррентная аппроксимация индексов удерживания метилзамещенных бензолов для выявления аномалии значения RI изодурола (правая точка). Параметры линейной регрессии для линейного участка (три точки):

$$a=0.995 \pm 0.003, b=106.3 \pm 2.1, R=0.99999, S_0=0.4$$

Fig. 9. Recurrent approximation of retention indices of methyl-substituted benzenes for the identification of anomalies in the RI value of isodurolo (right point). Linear regression parameters for linear section (three points): $a=0.995 \pm 0.003, b=106.3 \pm 2.1, R=0.99999, S_0 = 0.4$.

группы в стерически незатрудненных положениях, образуют линейный участок с коэффициентом корреляции $R = 0.9999$, тогда как четвертая точка расположена существенно выше линии регрессии. Завышение значений RI – характерное проявление стерических взаимодействий в молекулах. Выявление подобных аномалий с использованием рекуррентных аппроксимаций существенно нагляднее, чем самих значений RI.

Число подобных примеров можно существенно расширить. Аналогичные закономерности наблюдаются, например, для хлорзамещенных бензолов.

Аномалии времен удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ. Рекуррентная аппроксимация зависимости параметров удерживания в ОФ ВЭЖХ от концентрации органического компонента элюента. Таким образом, если на графиках рекуррентных зависимостей обнаруживаются отклонения от линейности подобные обсуждаемым в приведенном выше примере, то это означает необходимость выявления причин таких аномалий. Подобные аномалии впервые наблюдали на примерах рекуррентных аппроксимаций времен удерживания сложных полифункциональных органических соединений [16], три из которых представлены в табл.

4. Рекуррентные зависимости $t_R(C)$ приведены на рис. 10.

Первый из выбранных аналитов (гефитиниб, рис. 10а) не демонстрирует никаких аномалий рассматриваемой зависимости ($R = 0.9996$). Это означает, что во всем интервале концентраций CH_3CN в элюенте (35-65% объемн) это соединение, несмотря на его достаточно сложную структуру, находится в одной и той же химической форме. Поскольку рН элюента составлял 2.7-2.9, то речь может идти только о протонированных молекулах.

Для второго соединения (иматиниб, рис. 10б) в области высоких содержаний ацетонитрила в элюенте (ориентировочно, выше 60% объемн.) наблюдаются отклонение рекуррентной аппроксимации времен удерживания «вниз» от линии регрессии. Линейный участок этой регрессии характеризуется закономерно высоким коэффициентом корреляции ($R=0.9998$). Самое вероятное объяснение этой аномалии – одно из значений pK_a этого аналита, а именно 2.5 (для воды). Известно, что при увеличении содержания органического компонента в растворе значения pK_a увеличиваются. В результате становится возможным перекрытие значений pK_a и рН элюента, что

Таблица 4. Полифункциональные органические соединения, выбранные для иллюстрации аномалий рекуррентных зависимостей их времен удерживания от содержания органического компонента в элюенте [16]

Table 4. Polyfunctional organic compounds selected to illustrate the anomalies of the recurrent dependences of their retention times on the content of the organic component in the eluent [16]

Название	Структурная формула	Значения pK_a
Gefitinib		5.4; 7.2
Imatinib		1.5; 2.5; 3.7-4.0; 8.1-8.3
Pazopanib		2.3 (?); 5.1; 10.4

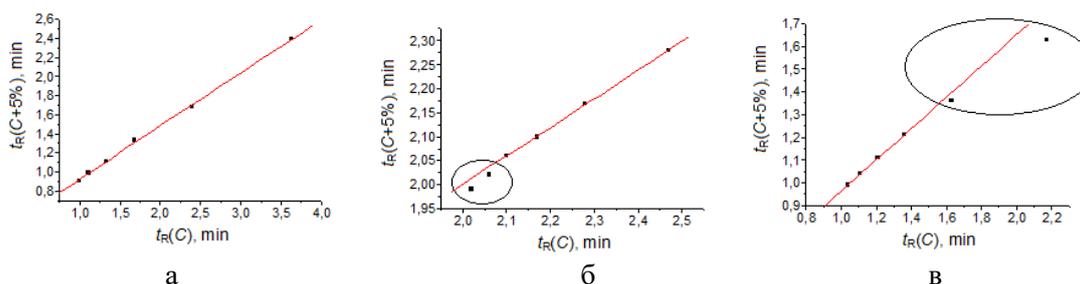
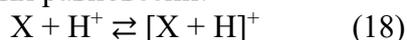


Рис. 10. Различные примеры отклонений рекуррентной аппроксимации времен удерживания аналитов в ОФ ВЭЖХ от линейности: а) гефитиниб, нет отклонений; б) иматиниб, аномалия в области малых времен удерживания (высокого содержания ацетонитрила в элюенте); в) пазопаниб, аномалия в области больших времен удерживания (высокого содержания воды в элюенте).

Fig. 10. Various examples of deviations of the recurrent approximation of the retention times of analytes in RP HPLC from linearity: a) gefitinib, no deviations; b) imatinib, anomaly in the region of low retention times (high acetonitrile content in the eluent); c) pazopanib, anomaly in the area of long retention times (high water content in the eluent).

приводит к появлению иной формы аналита в результате смещения одного из прототропных равновесий:

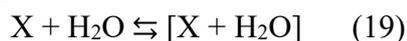


Протонированные формы аналитов обладают меньшими параметрами удерживания по сравнению с непротонированными, что вполне согласуется с

наблюдаемыми отклонениями рекуррентной аппроксимации «вниз» от линии регрессии.

Однако самая интересная, пожалуй, аномалия (отклонение «вниз» от линии регрессии) наблюдается для третьего соединения – пазопаниба (рис. 10в) в области высоких содержаний воды (ориентировочно, не менее 60-65% объемн). При

этом структурное отнесение одного из известных для этого соединения значений pK_a (2.3) неочевидно и, возможно, ошибочно, так как никаких аномалий в области высоких содержаний CH_3CN (малых времен удерживания) нет. Если так, то появление аномалии при высоком содержании воды в элюенте можно объяснить только обратимым образованием гидратов аналитов:



Гидратные формы аналитов более полярны по сравнению с исходными соединениями, что приводит к уменьшению времен удерживания (отклонение «вниз»).

Специальное рассмотрение причин образования гидратов показало, что оно обусловлено присутствием в молекуле полярных сульфонамидных $>N-SO_2-$ или $-NH-SO_2-$ групп [17]. Вопросы обратимого образования гидратов, типичного для многих органических соединений, рассмотрены в работах [18-20].

Заключение

Рассмотренные примеры иллюстрируют широкие возможности применения рекуррентных соотношений в хроматографических методах разделения. Они позволяют привести к линейному виду зависимости времен удерживания аналитов от температуры в газовой хроматографии и от концентраций органических компонентов элюентов в обращенно-фазовой ВЭЖХ. Особый интерес представ-

ляет линейность рекуррентной аппроксимации индексов удерживания гомологов и конгенеров от их положения в соответствующих таксономических группах. Во многих случаях справедливо обратное утверждение: из линейности рекуррентной зависимости индексов удерживания следует возможность их отнесения к совокупности гомологов, проиллюстрированное на примере идентификации неизвестных ранее продуктов частичного гидролиза тетраэтоксисилана.

Отклонения рекуррентной аппроксимации от линейности не менее информативны. Такая форма сравнения газохроматографических индексов удерживания гомологов позволяет выявлять и визуализировать стерические взаимодействия в молекулах. В обращенно-фазовой ВЭЖХ именно рекуррентные представления зависимости времен удерживания аналитов от содержания органического компонента элюента позволяют выявлять смещения положений кислотно-основных равновесий в растворах и обратимое образование гидратов анализируемых соединений. Другие способы выявления образования гидратов значительно сложнее и менее информативны.

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. Zenkevich I.G. Application of recurrent relationships in chromatography. *J. Chemometrics*. 2009; 23: 179-187. <https://doi.org/10.1002/cem.1214>
2. Handbuch der Gaschromatographie. Eds. E. Leibnitz, H.G. Struppe. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G. 1984. 828 p.

3. Row K.H. Comparison of retention models for the dependence of retention factors on mobile phase composition in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1998; 797: 23-31. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00969-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00969-2)
4. Soczewinski E. Mechanistic molecular model of liquid-solid chromatography retention-eluent composition relationships. *J. Chromatogr. A*. 2002; 965: 109-116.



[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01278-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01278-X)

5. Soczewinski E, Wachtmeister C.A. The relation between the composition of certain ternary two-phase solvent systems and R_M values. *J. Chromatogr.* 1962; 7: 311-320. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)86422-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)86422-0)

6. Snyder L.R, Dolan J.W. The linear-solvent-strength model of gradient elution. *Adv. Chromatogr.* 1998; 38: 115-187. <https://doi.org/10.1201/9781003210313-4>.

7. Schoenmakers P.J, Billiet H.A.H, Tijssen.R, Galan. L.De. Gradient selection in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1978; 149: 519-537. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)81008-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)81008-0)

8. Zenkevich I.G. Approximation of any physicochemical constants of homologues with the use of recurrent functions. *J. Math. Chem.* 2009; 46: 913-933.

9. Zenkevich I.G. Application of recurrent relations in chemistry. *J. Chemometr.* 2010; 24: 158-167. <https://doi.org/10.1002/cem.1297>

10. Zenkevich I.G. Approximation of physicochemical properties of homologs using recurrent and related non-recurrent relations. *J. Chemometr.* 2012; 26(3-4): 108-116. <https://doi.org/10.1002/cem.1419>

11. Zenkevich I.G. Mathematical transformations of recurrent relations for different types of homologues. *J. Chemometr.* 2016; 30: 217-225. <https://doi.org/10.1002/cem.2796>

12. Zenkevich I.G. Recurrent Relationships in Separation Science. In "Chemometrics in Chromatography" Eds. L. Komsta, Y.V. Heyden, J. Sherma. New York: Taylor & Francis. 2017. Ch. 24: 449-468.

13. The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2017 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, August 2017. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (Accessed: April 2023).

14. Peterson M.L, Hirsch. J. A calculation for locating the carrier gas front of a gas-liquid chromatogram. *J. Lipid Res.* 1959; 1: 132-134.

15. Zenkevich I.G., Baranov D.A. Gas-chromatographic identification of unusual unstable products of partial hydrolysis of tetraethoxysilane. *J. Anal. Chem. (Rus.)*. 2023; 78(1): 67-75. <https://doi.org/10.1134/S1061934823010148>

16. Zenkevich I.G., Nikitina D.A. Features of the recurrent approximation of retention parameters of polyfunctional compounds in RP HPLC. *Rus. J. Phys. Chem. A.* 2021; 95(2): 395-402. <https://doi.org/10.1134/S003602442102028X>

17. Zenkevich I.G., Nikitina D.A., Kornilova T.A. Recurrent approximation of retention parameters of N-substituted p-toluenesulfonamides in reversed-phase high performance liquid chromatography for revealing the formation of their hydrates. *Rus. J. Phys. Chem. A.* 2021; 95(9): 1923-1933. <https://doi.org/10.1134/S0036024421090326>

18. Zenkevich I.G., Derouiche A., Nikitina D.A. Detection of organic hydrates in reversed phase high performance liquid chromatography using recurrent approximation of their retention times. *J. Liquid Chromatogr. Related Technol.* 2021; 44(11-12): 588-598. <https://doi.org/10.1080/10826076.2021.1998905>

19. Zenkevich I.G., Nikitina D.A., Derouiche A. Revealing the hydration of sorbates based on the dependence of their retention parameters in reversed-phase HPLC on the concentration of the organic component of the eluent. *Protect. Metals Phys. Chem. Surf.* 2022; 58(6): 1156-1163. <https://doi.org/10.1134/S2070205122060223>

20. Zenkevich I.G. Derouiche A., Nikitina D.A. Evidence for the hydration of some organic compounds during reverse-phase HPLC analysis. *Molecules.* 2023; 28(2): 1-19; 734. <https://doi.org/10.3390/molecules28020734>



Информация об авторах / Information about the authors

И.Г. Зенкевич – профессор кафедры органической химии, д.х.н., Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия

I.G. Zenkevich – Professor, Dr. Sci, Department of Organic Chemistry, Institute for Chemistry, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation, E-mail: izenkevich@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 25.04.2023; одобрена после рецензирования 19.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 25.04.2023; approved after reviewing 19.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.07

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11543

Исследование сорбционных процессов в хромато-десорбционных системах на основе наноструктурированного полимерного сорбента Полисорб-1

**Игорь Артемьевич Платонов[✉], Екатерина Анатольевна Новикова,
Ирина Николаевна Колесниченко, Алеся Сергеевна Карсункина,
Астхик Эдиковна Маргарян**

Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева,
Самара, Россия, pia@ssau.ru[✉]

Аннотация. Необходимость оптимизировать различные способы получения стандартных газовых смесей обусловлена повышением точности и экспрессности при проведении калибровки аналитических приборов. В аналитической практике существует множество способов получения газовых смесей, содержащих летучие органические соединения, соответствующих существующим стандартам для метрологического обеспечения газового анализа, в частности – хромато-десорбционный метод. Целью работы являлось изучение процессов, протекающих в хромато-десорбционной системе на основе наноструктурированного полимерного сорбента Полисорб-1, для оптимизации хромато-десорбционного способа получения стандартных газовых смесей. Объектом исследования являются хромато-десорбционные системы, представляющие собой металлические трубки различной длины, заполненные наноструктурированным полимерным сорбентом Полисорб-1.

В данной работе для увеличения экспрессности процесса получения СГС предложено исключить хромато-сорбционную стадию. Вместо нее в начальный участок системы с помощью автоматического дозатора вносили некоторый объем летучего компонента (гексана) в жидком состоянии объемом 10 – 500 мкл, после этого ХДС подключали к компрессору воздуха.

Экспериментальное изучение полученных ХДС заключалось в варьировании скорости потока газа, проходящего через систему, длины ХДС и количества гексана, помещенного в систему. Установлено, что уменьшение скорости потока газа, проходящего через ХДС, приводит к увеличению времени поддержания квазипостоянной концентрации аналита в газовой фазе, при этом среднее значение концентрации меняется незначительно. Увеличение количества гексана внесенного в систему приводит к увеличению концентрации аналита в получаемой смеси и увеличению времени поддержания постоянной концентрации. Однако, при достижении определённого количества вносимого гексана (в исследованной системе оно составило 100 мкл) концентрация летучего компонента в получаемой газовой смеси не изменяется, при этом увеличивается время поддержания постоянной концентрации.

Ключевые слова: стандартные газовые смеси, полимерные сорбенты, летучие органические соединения, хромато-десорбционная система, аналитический контроль.

Для цитирования: Платонов И.А., Новикова Е.А., Колесниченко И.Н., Карсункина А.С., Маргарян М.Э. Исследование сорбционных процессов в хромато-десорбционных системах на основе наноструктурированного полимерного сорбента Полисорб-1 // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 495-503. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11543>



Original article

A study of sorption processes in chromato-desorption systems based on nanostructured polymer sorbent Polysorb-1

Igor A. Platonov[✉], Ekaterina A. Novikova, Irina N. Kolesnichenko,
Alesya S. Karsunkina, Asthik E. Margaryan

Korolev Samara National Research University, Samara, Russia, pia@ssau.ru[✉]

Abstract. The optimization of various methods for obtaining standard gas mixtures is required due to increased accuracy and speed when calibrating analytical instruments. In analytical practice, there are many methods for obtaining gas mixtures containing volatile organic compounds that meet existing standards for metrological support of gas analysis, in particular, the chromatography-desorption method.

The purpose of the study was investigation of the processes occurring in a chromatography-desorption system based on the nanostructured polymer sorbent Polysorb-1, in order to optimize the chromatography-desorption method for producing standard gas mixtures.

The object of the study was chromatography-desorption systems, metal tubes of various lengths filled with nanostructured polymer sorbent Polysorb-1. In this study, it was proposed to eliminate the chromatography-sorption stage to increase the speed of the process of obtaining SGM. Instead, a certain volume of a volatile component (hexane) in a liquid state with a volume of 10–500 μl was added to the initial section of the system using an automatic dispenser. After this, the CDS was connected to an air compressor.

The experimental study of the resulting CDS consisted of varying the gas flow rate passing through the system, the length of the CDS, and the amount of hexane placed in the system.

It has been established that a decrease in the flow rate of gas passing through the CDS led to an increase in the time of maintaining a quasi-constant concentration of the analyte in the gas phase, while the average concentration changed slightly. An increase in the amount of hexane introduced into the system led to an increase in the concentration of the analyte in the resulting mixture and an increase in the time of maintaining a constant concentration. However, when a certain amount of introduced hexane was reached (in the studied system it was 100 μl), the concentration of the volatile component in the resulting gas mixture did not change, and the time to maintain a constant concentration increased.

Keywords: standard gas mixtures, polymer sorbents, volatile organic compounds, chromatography-desorption system, analytical control.

For citation: Platonov I.A., Novikova E.A., Kolesnichenko I.N., Karsunkina A.S., Margaryan A.E. A study of sorption processes in chromato-desorption systems based on nanostructured polymer sorbent Polysorb-1. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 495-503. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11543>

Введение

Анализ газовых смесей различного происхождения играет важную роль в таких областях, как мониторинг окружающей среды, промышленная безопасность, здравоохранение, контроль технологических процессов и т.п. [1].

В связи с увеличением количества антропогенных факторов загрязнения окружающей среды возникает потребность в точном и экспрессном анализе воздуха для контроля содержания примесей токсичных веществ. Развитие нанотехнологий и микроэлектронномеханических систем позволило создать портативные аналитические приборы, которые с успехом

справляются с этой задачей. Но оптимизации требует не только инструментальное, но и методическое обеспечение хроматографического анализа [2, 3].

Одной из стадий анализа газовых сред, непосредственно влияющих на точность и экспрессность анализа, является проведение калибровки прибора, поэтому совершенствование способов получения стандартных газовых смесей продолжает оставаться актуальной задачей аналитической химии [4]. В аналитической практике существует много способов получения газовых смесей, содержащих летучие



Таблица 1. Характеристики хромато-десорбционных систем

Table 1. Characteristics of chromatography-desorption systems

Параметр	Номер ХДС		
	1	2	3
Длина системы, см	12	24	11
Диаметр поперечного сечения системы, мм	3	3	7
Масса сорбента, г	0.2117	0.4369	0.9071
Объем системы, занятый сорбентом, см ³	0.8	1.6	4.2
Плотность набивки, г/см ³	0.271 ± 0.003		

органические соединения (ЛОС), отвечающим существующим стандартам для метрологического обеспечения газового анализа, которые являются альтернативой использованию сертифицированных сжатых газов [5-9]. Одним из таких методов является хромато-десорбционный метод, который основан на равновесном насыщении ЛОС потоком инертного газа, проходящего через хромато-десорбционную систему (ХДС), представляющую из себя трубчатый проточный контейнер, заполненный сорбентом с известным количеством ЛОС [10-12]. С помощью ХДС можно получать газовые потоки с микроконцентрациями алифатических и ароматических углеводородов, галогенсодержащих органических соединений [13].

Целью работы являлось изучение сорбционных процессов, протекающих в хромато-десорбционной системе на основе наноструктурированного полимерного сорбента Полисорб-1, для оптимизации процесса получения газовых смесей хромато-десорбционным способом.

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлись хромато-десорбционные системы, представляющие собой металлические трубки различной длины, заполненные полимерным сорбентом Полисорб-1. Характеристики исследуемых систем представлены в таблице 1. Перед экспериментальным исследованием система подвергалась кондиционированию в динамическом режиме при температуре 120°C непрерывно в течение 5 часов для удаления летучих примесей.

Количественный анализ газовых смесей на выходе из хромато-десорбционной системы проводился газохроматографическим методом на газовом хроматографе «Кристалл 2000» с пламенно-ионизационным детектором и насадочной колонкой 1 м×3 мм, заполненной сорбентом Хроматон с 10%-ой пропиткой диизононилфталата.

Работа ХДС осуществлялась следующим образом: создавался поток воздуха компрессором, расход которого устанавливался регулятором расхода газа. Получаемый поток воздуха с определенной заданной скоростью направлялся в ХДС. На выходе из ХДС устанавливался капилляр с силиконовой трубкой 5, из которой осуществлялся отбор пробы объемом 0.5 см³ каждые 5 минут. Перед началом работы проводился количественный анализ создаваемого компрессором потока воздуха для подтверждения отсутствия фонового содержания гексана.

Калибровочная смесь производится в два этапа [13].

1. Первая стадия – приготовление сорбента, заполнение трубчатой системы, равновесное насыщение сорбента микропримесями ЛОС при температуре, превышающей рабочие температуры десорбции системы.

2. Вторая стадия включает десорбцию ЛОС потоком газа при температуре десорбции ниже температуры насыщения.

Таким образом, путем регулирования температуры десорбции, изменяется кон-

станта распределения для веществ в системе сорбент-газ и обеспечивают получение газовой смеси с заданным содержанием ЛОС, при этом не требуется дополнительное разбавление газовой смеси и изменения других параметров системы. Особенности работы и закономерности функционирования хромато-десорбционных систем описывает теория адсорбционного равновесного концентрирования [14].

Для увеличения экспрессности процесса получения газовых смесей исключали хромато-сорбционную стадию. Вместо этого насыщение проводили следующим образом: в начальный участок системы с помощью автоматического дозатора вносили калиброванный объем летучего компонента (гексана) в жидком состоянии объемом 10-500 мкл. После этого ХДС подключали к компрессору воздуха, после чего сразу проводили отбор первой пробы газовой смеси.

Получение стандартной газовой смеси летучего органического соединения с концентрацией гексана 0.65 мг/дм^3 для проведения калибровки газового хроматографа осуществляли статическим объемметрическим методом в газонепроницаемых инертных мешках «Tedlar» объемом 1 дм^3 .

Для определения сорбционной емкости ХДС проводили концентрирование летучего соединения до полного насыщения сорбента, то есть до выравнивания исходной концентрации летучего органического соединения и концентрации на выходе из системы. Количество сорбируемого гексана оценивали по разнице масс в исходной и полученной газовой смеси.

Сорбционную емкость a_c (мг/г) рассчитывалась по формуле:

$$a_c = \left[\sum_{i=1}^n (C_0 - C_{\Gamma\Phi_i}) \times V_{\text{ал}} \times 10^{-3} \right] / m_{\text{сорб}},$$

где $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты отбираемой газовой фазы, см^3 ; $m_{\text{сорб}}$ – масса сорбента, внесенная в ХДС, г; n – количество аликвот.

Время поддержания постоянной концентрации $\tau_{5\%}$ (мин) определяли как время, в течение которого СКО концентрации гексана в газовой смеси невыходе из ХДС не превышает 5%.

Расчет объема получаемой газовой смеси с постоянной концентрацией аналита $V_{\Gamma\Phi}$ проводился по формуле:

$$V_{\Gamma\Phi} = \tau_{5\%} \times F$$

где $\tau_{5\%}$ – время поддержания постоянной концентрации, мин; F – объемная скорость потока газа, пропускаемого через систему, $\text{дм}^3/\text{мин}$.

Обсуждение результатов

В ходе экспериментального исследования хромато-десорбционных систем варьировали следующие параметры:

- объемная скорость потока газа, проходящего через систему, $\text{см}^3/\text{мин}$;
- длина хромато-десорбционной системы (количество эквивалентных теоретических тарелок);
- количество гексана, помещенного в систему на хромато-сорбционной стадии.

Экспериментально полученные зависимости концентрации гексана в газовых смесях от скорости пропускания газа через ХДС 1-3 показано на рисунках 1-3. Результаты оценки рабочих характеристик системы 1 представлено в таблице 1. Как видно из представленных данных, увеличение скорости газового потока с 100 до $400 \text{ см}^3/\text{мин}$ приводит к снижению концентрации гексана в газовой смеси с 0.061 до 0.042 мг/дм^3 , но при этом практически отсутствует период поддержания постоянства концентрации. Такое состояние системы обусловлено интенсивным процессом перераспределения аналита в системе сорбент-газ при скорости потока $400 \text{ см}^3/\text{мин}$, при этом большая часть аналита десорбируется в первые 5-10 минут. Снижение скорости газа до $100 \text{ см}^3/\text{мин}$ приводит к тому, что система медленнее выходит на рабочий режим, но при этом время поддержания квазипостоянной концентрации увеличивается с 15 до 50 мин. Для практического использования

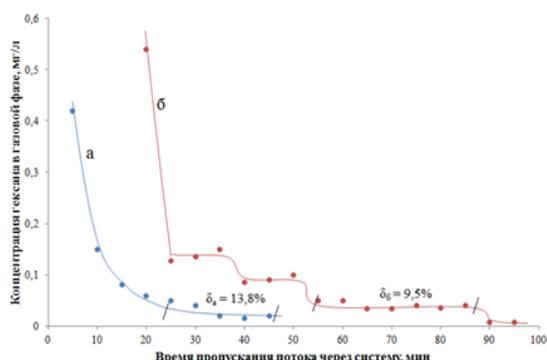


Рис. 1. Зависимость концентрации гексана в газовой фазе от времени пропускания потока воздуха через ХДС № 1

Fig. 1. Dependence of hexane concentration in the gas phase on the time of passing the air flow through the CdS No. 1

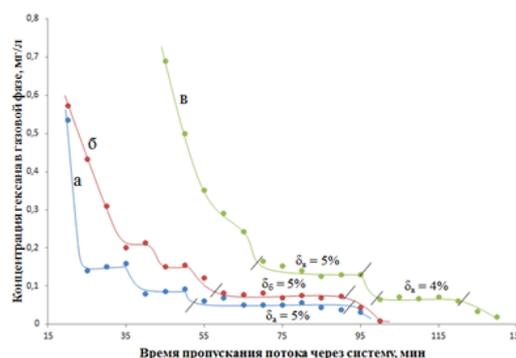


Рис. 2. Зависимость концентрации гексана в газовой фазе от времени пропускания воздуха через систему № 1

Fig. 2. Dependence of hexane concentration in the gas phase on the time of air passing through system No. 1

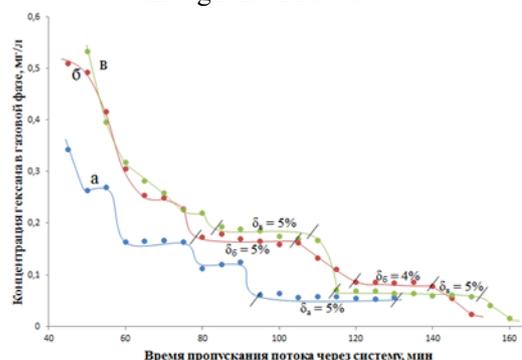


Рис. 3. Зависимость концентрации гексана в газовой фазе от времени пропускания воздуха через систему № 2

Fig. 3. Dependence of hexane concentration in the gas phase on the time of air passing through system No. 2

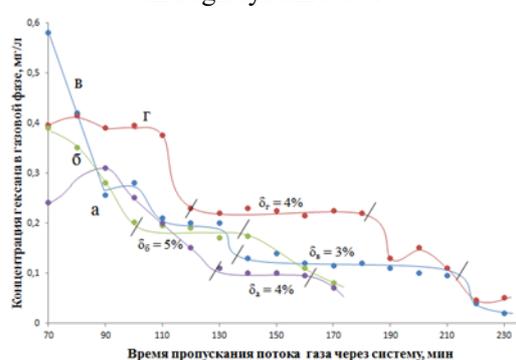


Рис. 4. Зависимость концентрации гексана в газовой фазе от времени пропускания воздуха через систему № 3

Fig. 4. Dependence of hexane concentration in the gas phase on the time of air passing through system No. 3

Таблица 2. Результаты хромато-десорбционного анализа системы № 1 при различной скорости потока инертного газа (объем гексана 50 мкл)

Table 2. Results of chromatography-desorption analysis of system No. 1 at different inert gas flow rates (hexane volume 50 μ l)

F, мл/мин	Средняя концентрация, мг/л	ОСКО, %	Время выхода системы на рабочий режим, мин	$\tau_{5\%}$, мин	$V_{ГФ}$, л
100	0.061	9.5	35	50	5.0
400	0.042	13.8	20	15	6.0

ХДС может быть рекомендовано регулирование скорости потока газа через систему: на начальном этапе работы ХДС необходимо применять более высокую скорость 400 см³/мин для ускорения распределения компонента по сорбционной системе, затем снижение скорости до 100 см³/мин для увеличения времени

поддержания квазипостоянной концентрации.

В таблице 3 представлены характеристики работы систем 1-3, при различных объемах вносимого в ХДС жидкого гексана на хромато-сорбционной стадии, аликвота которого варировалась в диапа-

Таблица 3. Результаты исследования хромато-десорбционных систем
 Table 3. Results of the study of chromatography-desorption systems

№ системы	Сорбционная емкость, мг/г	Количество гексана, мкл	Средняя постоянная концентрация, мг/дм ³	СКО, %	V _{ГФ} , дм ³
1 (l=12 см)	20	50	0.051	5	3.5
		100	0.067	5	3.5
		200	0.150	5	3.0
			0.081	4	2.5
2 (l=24 см)	28	50	0.051	5	4.5
		100	0.155	5	2.5
			0.092	4	4.5
		200	0.149	5	4.0
0.067	4		4.0		
3 (l=11 см)	35	10	0.102	3	5.0
		20	0.124	4	9.0
		50	0.167	5	10.0
		100	0.241	4	15.0

зоне 10-200 мкл. Зависимости концентрации гексана в газовой смеси на выходе из ХДС, отличающихся длиной и, соответственно, количеством эквивалентных тарелок, представлены на рисунках 1-4. Установлено, что в ряде случаев (система 1-2) наблюдается две области с квазипостоянной концентрацией гексана, причем концентрация гексана в каждой из них различается в 2 раза: первый период квазипостоянства концентрации для обеих систем характеризуется величиной средней концентрации 0.151 мг/дм³ с ОСКО=1.2%, второй период квазипостоянства концентрации для обеих систем характеризуется величиной средней концентрации 0.068 мг/дм³ с ОСКО=9.7%. Справедливо предположить, что наблюдаемая закономерность связана с буферным эффектом, характерным для гетерогенных систем [15], так как добавленное количество гексана в несколько раз превышает рассчитанное исходя из сорбционной ёмкости сорбента Полисорб-1 по отношению к гексану и создает избыток анализита в начальной части трубчатой проточной системы, который выступает в роли буфера и компенсирует динамически десорбирующийся гексан с конечной части системы, тем самым обеспечивая квазипостоянство концентрации анализита

в газовом потоке на выходе из ХДС. После истощения буфера происходит смещение равновесия в сторону расходования анализита, что проявляется экспоненциальным участком на кривой десорбции (рис. 3), после чего устанавливается равновесие в системе, отвечающего новому перераспределению зоны буфера, которая постоянно смещается к конечной части проточной системы, до полного истощения буферной зоны.

При дальнейшем увеличении объема вносимого гексана для системы № 3 увеличения концентрации компонента в газовой фазе не наблюдается: концентрация остается постоянной в пределах ОСКО=5%. Это обусловлено тем, что при данных количествах гексана в системе происходит полное насыщение сорбента. Стоит отметить, что до момента насыщения сорбента летучим компонентом он частично выходит из системы, что характеризуется временем выхода системы на режим. Следовательно, для полного насыщения системы необходим избыток летучего компонента, который создает буферный эффект.

При сравнении систем различной длины установлено, что при увеличении длины системы в 2 раза (системы 1 и 2)



объем получаемой газовой смеси увеличивается в среднем в 1.4 раза, что может быть использовано для расширения ресурса ХДС, при планировании работ в полевых условиях или при внелабораторном анализе.

Заключение

Таким образом, в работе показана возможность создания хромато-десорбционных систем, отличающихся массой сорбента и конфигурацией.

Экспериментально изучены ХДС на основе полимерного сорбента Полисорб-1, отличающиеся длиной, при варьировании скорости пропускания газа через хромато-десорбционную систему и количества гексана, используемого для насыщения системы.

Установлено, что уменьшение скорости потока газа, проходящего через ХДС, приводит к увеличению времени поддержания квазипостоянной концентрации аналита в газовой фазе, при этом среднее значение концентрации меняется незначительно. Увеличение числа теоретических тарелок за счет увеличения длины системы приводит к увеличению времени поддержания квазипостоянной концентрации аналита в газовой фазе, при этом

среднее значение концентрации меняется незначительно.

Увеличение количества гексана, внесенного в систему, не приводит к существенному изменению концентрации гексана в получаемой смеси и объема получаемой газовой смеси, но при этом возникает два периода поддержания квазипостоянной концентрации летучего компонента в газовой фазе, средние концентрации которого различаются примерно в два раза. При варьировании количества вносимого жидкого гексана в диапазоне 10-200 мкл можно варьировать концентрацию гексана в получаемой газовой смеси в диапазоне 0.05-0.24 мг/дм³, при дальнейшем повышении количества вносимого гексана концентрация сохраняется постоянной в пределах 0.23 мг/дм³±5%.

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

1. Slominska M., Konieczka P., Namiesnik J. Standard gas mixture indispensable reference materials in the analysis of gaseous media // *Trends in Analytical Chemistry*. 2010. Vol. 29. P. 419-429.
2. Алексашина О.В. Проблемы контроля вредных примесей в воздухе производственных помещений // *Экология промышленного производства*. 2015. № 3 С. 41-44.
3. Платонов И.А. Родинков О.В., Горбачева А.Р. Методы и средства приготовления стандартных газовых смесей // *Журнал аналитической химии*. 2018. Т.73, № 2. С. 84-99.
4. Смыгина И.Н. Дисс. канд. хим. Наук. Самара, 2007. 172 с.
5. Березкин В.Г., Платонов И.А., Онучак Л.А. Динамический способ получения парогазовых смесей с постоянными концентрациями летучих органических соединений с регенерируемым потоком жидкого раствора // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2006. Т. 6, № 4. С. 591-595.
6. Сакодынский К.И. Полимерные сорбенты для газовой хроматографии. М.: Наука. 1977. 168 с.
7. ГОСТ Р ИСО 6142-2008. Национальный стандарт российской федерации. анализ газов. Приготовление градуировочных газовых смесей.
8. ГОСТ Р ИСО 6144-2008. Национальный стандарт российской федера-



ции. анализ газов. Приготовление градуировочных газовых смесей. Статический объемный метод.

9. Москвин Л.Н., Родинков О.В. Хроматомембранное концентрирование микропримесей органических загрязнителей природных вод и атмосферного воздуха // *Журн. аналитической химии*. 2002. Т. 57, № 10. С. 1057-1063.

10. Березкин В.Г., Арутюнов Ю.И., Платонов И.А. Патент РФ, № 2324174, 2008.

11. Березкин В.Г., Арутюнов Ю.И., Платонов И.А. Патент РФ, № 2324473, 2008.

12. Platonov I.A., Kolesnichenko I.N., Lange P.K. Chromatographic-Desorption Method for Preparing Calibration Gas Mixtures of Volatile Organic Compounds // *Measurement Techniques*. 2017. Vol. 59, no 12. P. 1330-1333.

13. Березкин В.Г., Платонов И.А., Смыгина И.Н. Хромато-десорбционный способ получения потока газа, содержащего микропримеси летучих соединений // *Химия и химическая технология*. 2007. Т. 50, № 8. С. 22-24.

14. Новиков В.Ф. Перикова Е.С., Каратаев О.Р. Проблемы экологической безопасности воздушной среды промышленных предприятий // *Известия КазГАСУ*. 2009. № 2. С. 289-294.

15. Витенберг А.Г., Иоффе Б.В. Газовая экстракция в хроматографическом анализе. Парофазный анализ и родственные методы. Л.: Химия. 1982, 280 с.

References

1. Slominska M., Konieczka P., Namiesnik J., Standard gas mixture indispensable reference materials in the analysis of gaseous media. *Trends in Analytical Chemistry*, 2010;29: 419-429.

2. Aleksashina O.V., Problemy kontrolya vrednykh primesej v vozduhe proizvodstvennyh pomeshchenij, *Ecology of industrial production*, 2015; 3: 41-44. (In Russ.)

3. Platonov I.A. Rodinkov O.V., Gorbacheva A.R., Metody i sredstva

prigotovleniya standartnyh gazovyh smesej, *J. of Analytical Chemistry*, 2018; 73(2): 84-99. (In Russ.)

4. Smygina I.N. Diss. cand. chem. nauk. Samara, 2007. 172 p. (In Russ.)

5. Berezkin V.G., Platonov I.A., Onuchak L.A., Dinamicheskij sposob polucheniya parogazovyh smesej s postoyannymi koncentraciyami letuchih organicheskikh soedinenij s regeneriruemym potokom zhidkogo rastvora. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2006; 6(4): 591-595. (In Russ.)

6. Sakodynsky K.I. Polimernye sorbenty dlja gazovoj hromatografii. M., Nauka, 1977, 168 p. (In Russ.)

7. GOST R ISO 6144-2008. Nacional'nyj standart rossijskoj federacii analiz gazov. Prigotovlenie graduировочных газовых смесей. Sticheskiy ob'emnyj metod. Gas analysis. Preparation of calibration gas mixtures. Static volumetric method. (In Russ.)

8. GOST R ISO 6144-2008. Nacional'nyj standart rossijskoj federacii. analiz gazov. Prigotovlenie graduировочных газовых смесей. Sticheskiy ob'emnyj metod. (In Russ.)

9. Moskvin L.N., Rodinkov O.V. Hromatomembrannoe koncentrirovaniye mikroprimesej organicheskikh zagryaznitelej prirodnyh vod i atmosfernogo vozduh. *J. of Analytical Chemistry*. 2002; 57(10): 1057-1063.

10. Berezkin V.G., Arutyunov Yu.I., Platonov I.A. Patent RF, № 2324174, 2008. (In Russ.)

11. Berezkin V.G., Arutyunov Yu.I., Platonov I.A. Patent RF, № 2324473, 2008. (In Russ.)

12. Platonov I.A., Kolesnichenko I.N., Lange P.K. Chromatographic-Desorption Method for Preparing Calibration Gas Mixtures of Volatile Organic Compounds. *Measurement Techniques*. 2017; 59(12): 1330-1333.

13. Berezkin V.G., Platonov I.A., Smygina I.N. Hromato-desorbcionnyj sposob polucheniya potoka gaza, soderzhashchego mikroprimesi letuchih



soedinenij. *Chemistry and chemical technology*. 2007; 50(8): 22-24.

14. Novikov V.F., Perikova E.S., Karataev O.R. Problemy ekologicheskoy bezopasnosti vozdushnoy sredy promyshlennykh predpriyatij. *Izvestija KazGASU*. 2009; 2: 289-294. (In Russ.)

15. Vitenberg A.G., Ioffe B.V. Gazovaja jekstrakcija v hromatograficheskom analize. Parofaznyj analiz i rodstvennyye metody, 1982, 280 p.

Информация об авторах / Information about the authors

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

Е.А. Новикова – доцент кафедры химии, к.х.н., Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

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

А.С. Карсункина – аспирант кафедры химии, Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

А.Э. Маргарян – аспирант кафедры химии, Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия

I.A. Platonov – Head of the Department of Chemistry, Professor, Doctor of Technical Sciences, Department of Chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: pia@ssau.ru

E.A. Novikova – candidate of chemical sciences, associate professor, Department of Chemistry, Samara National Research University Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: novikova.ea@ssau.ru

I.N. Kolesnichenko – candidate of chemical sciences, associate professor, Department of Chemistry, Samara National Research University Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: irmiks@mail.ru

A.S. Karsunkina – the postgraduate student of the Department of Chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: karsunkina.alesya@mail.ru

A.E. Margaryan – the postgraduate student of the Department of Chemistry, Samara National Research University, Samara, Russian Federation, e-mail: asyaigithanyan@mail.ru

Статья поступила в редакцию 09.06.2023; одобрена после рецензирования 25.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 09.06.2023; approved after reviewing 25.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11544

Сравнительная оценка работы монолитных хромато-десорбционных систем в статическом и динамическом режимах экстракции

**Игорь Артемьевич Платонов[✉], Александр Сергеевич Брыксин,
Ирина Михайловна Муханова, Ирина Николаевна Колесниченко**

Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева,
Самара, Россия, pia@ssau.ru[✉]

Аннотация. Правильность, точность и прецизионность количественного хроматографического анализа определяется качеством приготовления стандартных образцов состава, разработка и применение которых позволяет решать аналитическим лабораториям широкий круг прикладных задач.

В статье представлены результаты исследования монолитных хромато-десорбционных систем (МХДС), позволяющих создавать растворы органических веществ с нормированным количеством органорастворимых аналитов динамическим способом. Целевой компонент равномерно распределен в объеме композиционного материала. Полученные экспериментальные образцы исследовались в специально разработанной экстракционной установке при температурах 25, 50 и 80°C и скорости потока элюента 3 см³/мин, в качестве которого использовали *n*-октан. Полученные экстракты были проанализированы с использованием метода газовой хроматографии. Проведена сравнительная оценка количества десорбированного органорастворимого аналита экстрагентом в статическом и динамическом режимах экстракции. Показано, что динамический способ экстракции характеризуется возможностью создавать потоки органических растворителей в течение более длительного времени, при этом выход на рабочий квазистационарный режим, который характеризуется отклонением концентрации аналита не более 10%, достигается быстрее. Установлено, что для получения квазистационарных концентраций в режиме динамической экстракции необходимо обеспечить прохождение через исследуемые образцы, массой 1.54 г, содержащие органорастворимые аналиты, 500–600 см³ экстрагента при скорости потока 3 см³/мин. Полученные результаты позволяют рекомендовать изготовленные МХДС для создания растворов органических растворителей с известным содержанием целевого вещества.

Ключевые слова: хроматография, градуировочные смеси, статические методы, динамические методы, монолитные хромато-десорбционные системы, полимеры, органические растворители.

Для цитирования: Платонов И.А., Брыксин А.С., Муханова И.М., Колесниченко И.Н. Сравнительная оценка работы монолитных хромато-десорбционных систем в статическом и динамическом режимах экстракции // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 504-513. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11544>

Original article

A comparative assessment of the operation of monolithic chromatography-desorption systems in static and dynamic extraction modes

**Igor A. Platonov[✉], Alexander S. Bryksin,
Irina M. Mukhanova, Irina N. Kolesnichenko**

Korolev Samara National Research University, Samara, Russia, pia@ssau.ru[✉]

Abstract. The correctness, accuracy and precision of quantitative chromatographic analysis are determined by the quality of preparation of standard composition samples, the development and use of which allows analytical laboratories to solve a wide range of applied problems.



The article presents the results of a study of monolithic chromatography-desorption systems (MCDS), which allows creating solutions of organic substances with a normalized amount of organosoluble analytes in a dynamic way. The target component is evenly distributed throughout the volume of the composite material. The resulting experimental samples were studied in a specially designed extraction unit at temperatures of 25, 50, and 80°C and an eluent flow rate 3 cm³/min, which was *n*-octane. The obtained extracts were analysed using gas chromatography. A comparative assessment of the amount of desorbed organosoluble analyte by the extraction solution in static and dynamic extraction modes was carried out. It has been shown that the dynamic extraction method is characterized by the ability to create flows of organic solvents for a longer time, while reaching a working quasi-stationary mode, characterized by a deviation of the analyte concentration of no more than 10%, is achieved faster. It has been established that in order to obtain quasi-stationary concentrations in the dynamic extraction mode, it is necessary to ensure the passage of 500-600 cm³ at a flow rate of 3 cm³/min through the studied samples, weighing 1.54 g, containing organosoluble analytes. The results obtained allowed us to recommend the manufactured MCDS for creating solutions of organic solvents with a known content of the target substance.

Keywords: gas chromatography, calibration mixtures, static methods, dynamic methods, monolithic chromatography-desorption systems, polymers, organic solvents.

For citation: Platonov I.A., Bryksin A.S., Mukhanova I.M., Kolesnichenko I.N. A comparative assessment of the operation of monolithic chromatography-desorption systems in static and dynamic extraction modes. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 504-513. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11544>

Введение

На современном этапе развития аналитической химии решаются несколько важных задач, к числу которых относятся усовершенствование существующих методов и средств приготовления газовых и жидких смесей известного состава, а также создание принципиально новых способов получения стандартных образцов [1-6].

Труды многих научных коллективов со всего мира по разработке данных способов и устройств легли в основу их классификации, и на сегодняшний день все способы получения стандартных газовых смесей (СГС) принято делить на статические и динамические [7-13]. Классификация способов получения СГС представлена на рисунке 1. Статические и динамические способы получения СГС имеют свои преимущества и недостатки.

Достоинством статических способов создания СГС является простота аппаратного оформления, для обслуживания которого не требуется привлечение высококвалифицированного персонала. Недостатком статических способов, особенно для летучих органических соединений (ЛОС), являются адсорбционные потери целевых компонентов на стенках сосуда,

что позволяет рекомендовать статические способы для создания только высококонцентрированных газовых смесей. По причине наличия адсорбционных потерь статические способы не позволяют проводить многоточечные калибровки без дополнительного разбавления, однако, несмотря на это, статические способы сегодня широко используются при калибровке аналитического лабораторного оборудования.

Создание СГС динамическими способами позволяет избежать адсорбционные потери на стенках сосуда, в котором происходит динамическое смешение паров ЛОС и газа-разбавителя, а также адсорбции целевых компонентов на внутренней поверхности капилляров, по которым смесь переносится к калибруемому прибору, за счет варьирования параметров установления динамического равновесия в системе. Адсорбционные потери становятся значимыми только при быстром изменении расхода газа-носителя, что преодолимо за счет увеличения времени установления равновесия. Недостатком динамических способов является сложность аппаратного оформления, высокие трудозатраты и сложность процедуры оценки вкладов неопределенностей



Рис 1. Классификация способов получения СГС [13]
 Fig 1. Classification of methods for obtaining SGM [13]

процедуры приготовления при оценке аттестованного значения концентрации аналита.

Можно с уверенностью заключить, что сегодня существует большое число способов, позволяющих изготовить стандартные образцы. Новые возможности аналитического оборудования и потребность в измерении более низких концентраций газообразных аналитов в различных газообразных образцах являются движущими силами процесса модификаций традиционных способов и создания новых, экономичных и экологичных способов приготовления СГС. В последние годы большой интерес у аналитиков вызывают динамические способы, позволяющие получать однородные и стабильные по своему составу смеси в широком диапазоне концентраций целевых веществ. Стоит отметить, что разработанные на сегодняшний день способы применимы, в основном, к созданию газовых смесей, а создание стандартных жидких смесей динамическими методами остается актуальной проблемой по сей день [13].

Одним из перспективных решений данной задачи могут служить предлагаемые МХДС, с помощью которых представляется возможным получение потоков органических растворителей с известным содержанием целевого компонента [14].

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка работы МХДС в жидких органических средах при различных температурных условиях в динамическом режиме экстракции.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выступали МХДС, полученные в результате полимеризации эпоксидной смолы. Внутри изготовленного полимерного стержня равномерно распределен органорастворимый аналит, предварительно нанесенный на нанодисперсный адсорбент. В работе исследовалась возможность получения растворов с известным содержанием тетрадекановой (C14), пентадекановой (C15), гексадекановой (C16), октадекановой (C18) кислот в потоке *n*-октана – малолетучего предельного орга

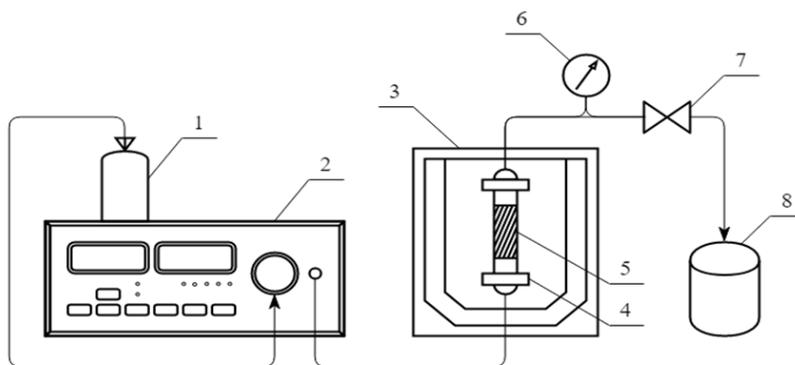


Рис 2. Схема установки для экстракции. 1 – сосуд с экстрагентом; 2 – насос высокого давления; 3 – термостат; 4 – экстрактор; 5 – образец; 6 – манометр; 7 – кран тонкой регулировки; 8 – сосуд для приёма экстракта

Fig 2. Scheme of installation for extraction. 1 – vessel with the extraction solution; 2 – high pressure pump; 3 – thermostat; 4 – extractor; 5 – sample; 6 – pressure gauge; 7 – fine adjustment valve; 8 – vessel for receiving the extract

нического растворителя, имеющего высокую растворимость по отношению к исследуемым жирным кислотам (ЖК) [15].

Исследуемые МХДС изготавливались в соответствии с указанными в работе [16] этапами и обладают аналогичными характеристиками.

На кафедре химии Самарского национально-исследовательского университета имени академика С.П. Королева была спроектирована и изготовлена экстракционная установка (рисунок 2), с использованием которой оценивалась возможность применения изготовленных МХДС в целях создания потоков органического растворителя с известным содержанием органорастворимых аналитов в режиме динамической экстракции. Принцип работы данной установки заключается в подаче экстрагента из сосуда 1 с помощью насоса высокого давления 2 в экстрактор 4, находящийся внутри термостата 3. Экстрагируемые вещества из образца 5 элюируются из экстрактора потоком подвижной фазы и попадают в сосуд 8. Экстрактор 4 представляет собой колонку из нержавеющей стали с известным количеством исследуемого образца в виде МХДС. Процесс подачи экстрагента и отбора проб регулируется манометром 6 и краном 7.

Экстракция органорастворимых аналитов из образцов МХДС в динамическом режиме осуществлялась при температурах 25, 50 и 80°C и постоянной скорости потока подвижной фазы 3 см³/мин, в качестве которой применялся *n*-октан. Скорость потока экстрагента была выбрана исходя из оптимального времени проведения экстракции и установления равновесия в системе «экстрагент-аналит». Выбор подвижной фазы обусловлен свойствами экстрагируемых ЖК, характеризующихся высокой растворимостью в неполярных органических растворителях. Массы исследуемых образцов 1.54±0.01 г. Общий объем пропущенного экстрагента составлял 1000 см³ для исследуемых температурных режимов. Каждые 100 см³ отбирали аликвоту для последующей пробоподготовки и анализа.

Полученные экстракты, содержащие органорастворимые аналиты, анализировали методом газовой хроматографии в соответствии с условиями хроматографирования, приведенными в работе [16].

Обсуждение результатов

Результаты хроматографического анализа октановых растворов ЖК, полученных в динамическом режиме экстракции

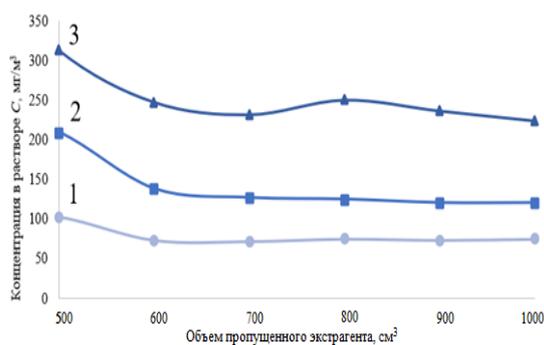


Рис 3. Зависимость концентрации тетрадекановой кислоты в *n*-октаноле от объема пропущенного экстрагента при температурах 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

Fig 3. Dependence of the concentration of tetradecanoic acid in *n*-octane on the volume of the extraction solution passed through at temperatures 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

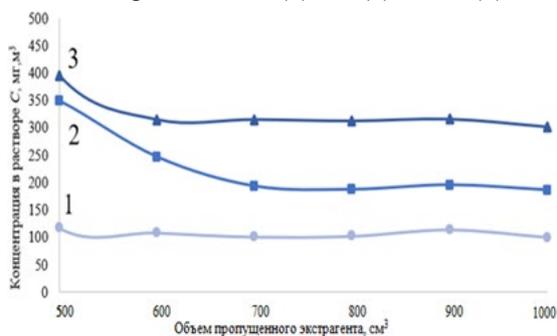


Рис 5. Зависимость концентрации гексадекановой кислоты в *n*-октаноле от объема пропущенного экстрагента при температурах 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

Fig 5. Dependence of the concentration of hexadecanoic acid in *n*-octane on the volume of the extraction solution passed through at temperatures 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

при температурах 25, 50 и 80°C, визуализированы на рисунках 3-6. Средняя относительная погрешность результатов измерений не превышает 10%.

Исходя из полученных данных можно заключить, что в первых циклах динамической экстракции наблюдается интенсивная десорбция молекул ЖК с поверхности МХДС, о чем свидетельствует высокое содержание определяемых компонентов в экстрактах. Подвижная фаза, движущаяся вдоль поверхности, проникает в поры полимера и нанодисперсного сорбента и экстрагирует в свой объем

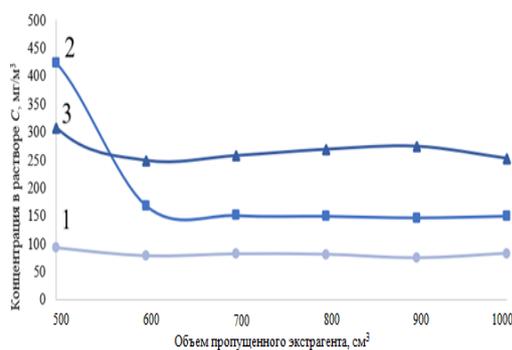


Рис 4. Зависимость концентрации пентадекановой кислоты в *n*-октаноле от объема пропущенного экстрагента при температурах 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

Fig 4. Dependence of the concentration of pentadecanoic acid in *n*-octane on the volume of the extraction solution passed through at temperatures 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

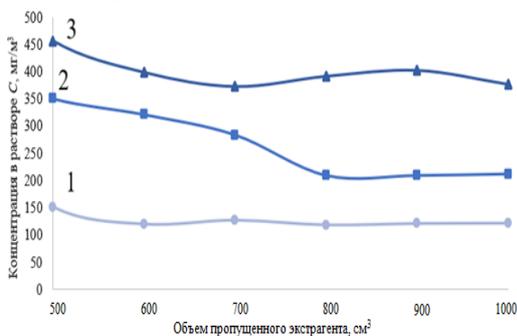


Рис 6. Зависимость концентрации октадекановой кислоты в *n*-октаноле от объема пропущенного экстрагента при температурах 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

Fig 6. Dependence of the concentration of octadecanoic acid in *n*-octane on the volume of the extraction solution passed through at temperatures 25 (1), 50 (2), 80°C (3)

ЖК, что сопровождается скачком концентрации аналита за счет присоединения диффузионного механизма извлечения. Далее, с увеличением общего объема пропущенного экстрагента, выделение ЖК начинает происходить не только с поверхности, но и из более глубоких слоев полимера, в том числе за счет растворения матрицы. За счет разрушения внешнего слоя МХДС начинает работать внутренний объем, обеспечивающий буферный эффект, что приводит к увеличению скорости диффузии и установлению скорости высвобождения ЖК из МХДС в



экстракционную среду на некотором постоянном уровне, лимитируемом растворимостью аналитов в экстрагенте, коэффициентом диффузии и константой распределения ЖК в системе «*n*-октан-нанодисперсный адсорбент». Разница в длине углеводородных радикалов и молекулярной структуре органорастворимых аналитов определяет характер влияния описанных выше лимитирующих факторов, что в свою очередь объясняет разницу в содержании этих аналитов в растворах после каждого этапа экстракции.

Установлено, что в случае с октадекановой кислотой, выход на плато квазистационарных концентраций при температуре экстракции 50°C обеспечивается пропуском через образец МХДС 800 см³ экстрагента, что является исключением, так как в других исследуемых температурных режимах начало выделения близких количеств органорастворимых аналитов наступает после прохождения вдоль поверхности МХДС 600 см³ *n*-октана.

Повышение температуры экстрагента приводит к значительному увеличению растворимости ЖК в *n*-октане, что подтверждается экспериментальными данными. Так, уровень содержания ЖК в экстрактах, полученных при температурах 50 и 80°C, выше, чем в экстрактах, соответствующих 25°C, в два и три раза соответственно. На основании выявленных зависимостей можно заключить, что повышение температуры динамической экстракции приводит к увеличению содержания ЖК в подвижной фазе и сокращает жизненный цикл изготовленных МХДС за счет более быстрого высвобождения целевых компонентов.

По результатам хроматографического анализа экстрактов, полученных в динамическом режиме, установлен следующий порядок расположения ЖК по мере увеличения содержания аналита в *n*-октане: тетрадекановая, пентадекановая, гексадекановая, октадекановая кислота. Можно предположить, что с увеличением

числа атомов углерода в цепи соединения растёт сродство молекул аналита к растворителю, что способствует облегчению процесса перехода ЖК в подвижную фазу.

По результатам эксперимента установлено, что использование МХДС, изготовленных из двухкомпонентного полимера и нанодисперсного адсорбента с нанесенными аналитами, позволяет получать растворы *n*-октана с известным содержанием органорастворимых аналитов в режиме динамической экстракции при 25, 50 и 80°C и скорости потока экстрагента 3 см³/мин.

В работе [16] изучалась возможность получения постоянных концентраций органорастворимых аналитов в органических средах в среде неподвижного экстрагента при тех же температурных условиях.

При проведении сравнительной оценки десорбции органорастворимых аналитов в процессе статической и динамической экстракции следует отметить, что из образцов МХДС, исследуемых в статическом режиме, десорбция ЖК происходит более интенсивно, за счет длительности времени экспозиции и сокращения объема экстрагента. Данное обстоятельство согласуется с известными из литературы [17] принципами и закономерностями создания СГС и позволяет рекомендовать изготовленные МХДС для получения высококонцентрированных растворов органических веществ. При этом динамический метод позволяет за счет варьирования параметров экстракции получать растворы с разным содержанием аналита из одной матрицы в цикле одного анализа.

Динамическая экстракция сопровождается постоянным обновлением экстрагента, в том числе вблизи поверхности МХДС, в результате чего насыщение экстрагента не происходит, и выход на плато

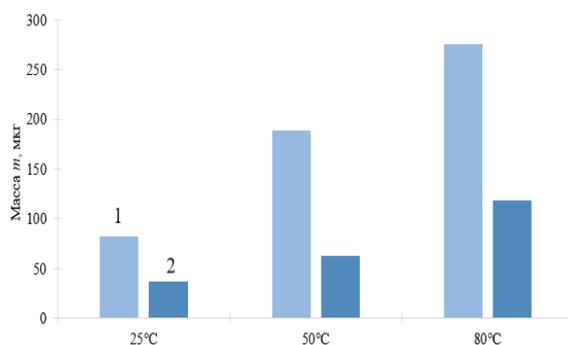


Рис 7. Выделившаяся масса тетрадекановой кислоты в процессе статической (1) и динамической (2) экстракции [16]

Fig 7. The released mass of tetradecanoic acid during static (1) and dynamic (2) extraction [16]

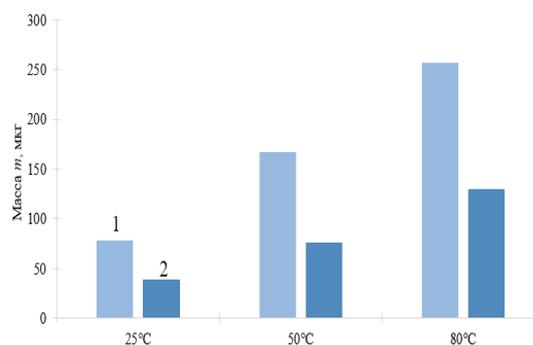


Рис 8. Выделившаяся масса пентадекановой кислоты в процессе статической (1) и динамической (2) экстракции [16]

Fig. 8. The released mass of pentadecanoic acid during static (1) and dynamic (2) extraction [16]

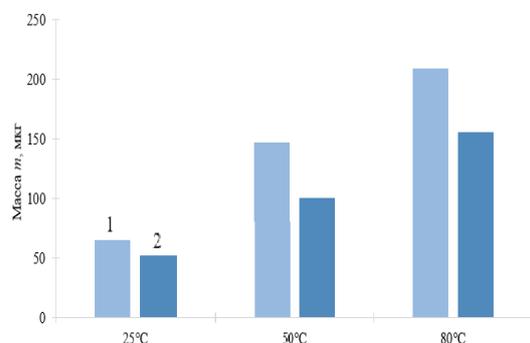


Рис 9. Выделившаяся масса гексадекановой кислоты в процессе статической (1) и динамической (2) экстракции [16]

Fig. 9. The released mass of hexadecanoic acid during static (1) and dynamic (2) extraction [16]

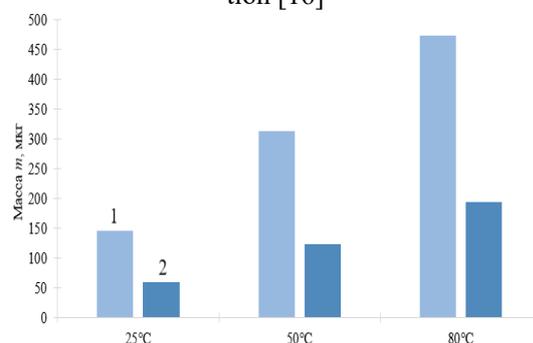


Рис 10. Выделившаяся масса октадекановой кислоты в процессе статической (1) и динамической (2) экстракции [16]

Fig.10. The released mass of octadecanoic acid during static (1) and dynamic (2) extraction [16]

квазистационарных концентраций лимитируется такими факторами, как коэффициент диффузии и константа распределения.

На рисунках 7-10 представлены данные об общей выделившейся массе ЖК из образцов МХДС в процессе проведения статической и динамической экстракции, начиная с шестого погружения в экстракционную среду, когда и в статическом, и в динамическом режимах образовалось плато квазистационарных концентраций. Как видно на представленных данных, статическая экстракция сопровождается более интенсивной степенью десорбции ЖК из МХДС в органический растворитель (в 2-3 раза).

На основании результатов анализа растворов *n*-октана, полученных в режиме

статической экстракции, установлен следующий порядок ЖК по мере увеличения содержания в экстрактах: гексадекановая, пентадекановая, тетрадекановая, октадекановая [16]. Прямой зависимости степени десорбции от длины углеводородного радикала установить не удалось, однако по результатам анализа экстрагента, используемого в качестве подвижной фазы при исследовании МХДС в динамическом режиме экстракции, можно заключить, что растворимость ЖК увеличивается с ростом углеводородного радикала в цепи соединения.

Заключение

Таким образом, в работе проведена сравнительная оценка степени извлечения органорастворимых аналитов из МХДС при температурах 25, 50 и 80°C и



скорости потока экстрагента $3 \text{ см}^3/\text{мин}$ в динамическом режиме экстракции. Показано, что для получения квазистационарных концентраций органорастворимых аналитов в режиме динамической экстракции при температурах 25, 50 и 80°C необходимо обеспечить прохождение через образцы МХДС 500-600 см^3 экстрагента (за исключением образца МХДС, исследуемого при 50°C и содержащего в качестве органорастворимого аналита октадекановую кислоту). Погрешность поддержания постоянных концентраций не превышает 10%.

Повышение температуры экстракции приводит к увеличению содержания органорастворимых аналитов в экстрактах, что может сократить время, в течение которого изготовленные МХДС будут работать стабильно.

Анализ экстрактов *n*-октана, полученных в процессе динамических испытаний МХДС, позволил установить четкую зависимость интенсивности десорбции от длины углеводородной цепи аналита: активнее десорбируются ЖК, имеющие более длинную углеводородную цепь.

Список литературы

1. ГОСТ Р ИСО 6142-2008 *Анализ газов. Приготовление градуировочных газовых смесей. Гравиметрический метод*. М.: Стандартинформ. 2008. 35 с.

2. ГОСТ Р ИСО 6144-2008 *Анализ газов. Приготовление градуировочных газовых смесей. Статический объемный метод*. М.: Стандартинформ. 2008. 27 с.

3. Tjandra A.D., Pham A.-H., Chandrawati R. Polydiacetylene-Based Sensors To Detect Volatile Organic Compounds // *Chem. Mater.* 2022. Vol. 34. P. 2853-2876.

4. Sartone L., Polvara E., Invernizzi M., Sironi S. Determination of Air Pollutants: Application of a Low-Cost Method for Preparation of VOC Mixtures at Known Concentration // *Sustainability*. 2022. Vol. 14. P. 9149.

5. Rodinkov O., Postnov V., Spivakovskiy V., Znamenskaya E., Zheludovskaya

Сравнение результатов анализа растворов, полученных в процессе статических и динамических испытаний МХДС, позволяет заключить, что в режиме статической экстракции выход на плато квазистационарных концентраций происходит быстрее, что, вероятно, связано с насыщением раствора вблизи исследуемых образцов. Показано, что динамическая экстракция характеризуется менее интенсивной десорбцией органорастворимых аналитов в подвижную фазу, в качестве которой использовался *n*-октан. Полученные результаты могут быть использованы для создания растворов с известным содержанием органорастворимого аналита динамическим способом.

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.

A., Nesterenko P. Preconcentration of Volatile Organic Compounds on Carbon Magnetic Sorbents in the Analysis of Air by Using the Configuration Change of the Sorbent Bed during the Transition from Sorption to Thermodesorption GC-FID // *Separations*. 2023. Vol. 10. P. 416.

6. Rodinkov O., Postnov V., Spivakovskiy V., Vlasov A., Bugaichenko A., Slastina S., Znamenskaya E., Shilov R., Lanin S., Nesterenko P. Comparison of Adsorbents Containing Carbon Nanotubes for Express Pre-Concentration of Volatile Organic Compounds from the Air Flow // *Separations*. 2021. Vol. 8. P. 50.

7. Barratt R.S. The preparation of standard gas mixtures. A review // *Analyst*. 1981. Vol. 106. P. 817-849.

8. Slominska M., Konieczka P., Namiesnik J. New developments in preparation and use of standard gas mixtures // *Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 62. 3. 135-143.



9. Milton M.J.T., Vargha G.M., Brown A.S. Gravimetric methods for the preparation of standard gas mixtures // *Metrologia*. 2011. Vol. 48ю P. R1-R9.
10. Nelson G. Gas Mixtures. Routledge, 2018. Vol. 1. 282 p.
11. Fijalo C., Dymerski T., Gebicki J., Namiesnik J. Devices for the Production of Reference Gas Mixtures // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2016. Vol. 46. P. 361-373.
12. Платонов И.А., Родинков О.В., Горбачева А.В., Москвин Л.Н., Колесниченко И.Н. Методы и средства приготовления стандартных газовых смесей // *Журнал аналитической химии*. 2018. Т. 73, № 2. С. 83-105.
13. Платонов И.А., Колесниченко И.Н., Новикова Е.А., Муханова И.М. Получение газовых смесей известного состава динамическими методами // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2017. Т. 17, № 3. С. 378-387.
14. Платонов И.А., Марилов С.С., Никишин И.А., Арутюнов Ю.И., Минахметов Р.А., Ефимов Е.Г., Брыксин А.С., Лабаев М.Ю. Патент РФ, № 202679, 2021.
15. Кипер Р.А. Растворимость веществ : Справочник. Пушино, 2-е электронное издание. 2020. 290 с.
16. Платонов И. А., Муханова И. М., Колесниченко И. Н., Брыксин А. С. Изучение возможности получения постоянных концентраций органорастворимых аналитов в органических средах в процессе эксплуатации монолитных хромато-десорбционных систем // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 2. С. 158-170.
17. Витенберг А.Г., Конопелько Л.А. Парофазный газохроматографический анализ: метрологические приложения // *Журнал аналитической химии*. 2011. Т. 66, № 5. С. 452-472.
1. GOST R ISO 6142-2008 Analiz gazov. Prigotovlenie graduirovochnyh gazovyh smesey. Gravimetricheskij metod. М., Standartinform, 2008, 35 p.
2. GOST R ISO 6144-2008 Analiz gazov. Prigotovlenie graduirovochnyh gazovyh smesey. Sticheskiy ob'emnyj metod. Moskva, Standartinform, 2008, 27 p.
3. Tjandra A.D., Pham A.-H., Chandrawati R. Polydiacetylene-Based Sensors To Detect Volatile Organic Compounds. *Chem. Mater*, 2022; 34(7): 2853-2876. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.1c04318>
4. Sartone L., Polvara E., Invernizzi M., Sironi S. Determination of Air Pollutants: Application of a Low-Cost Method for Preparation of VOC Mixtures at Known Concentration, / *Sustainability*, 2022; 14(15): 9149. <https://doi.org/10.3390/su14159149>
5. Rodinkov O., Postnov V., Spivakovskiy V., Znamenskaya E., Zheludovskaya A., Nesterenko P. Preconcentration of Volatile Organic Compounds on Carbon Magnetic Sorbents in the Analysis of Air by Using the Configuration Change of the Sorbent Bed during the Transition from Sorption to Thermodesorption GC-FID. *Separations*, 2023; 10(7): 416. <https://doi.org/10.3390/separations10070416>
6. Rodinkov O., Postnov V., Spivakovskiy V., Vlasov A., Bugaichenko A., Slashtina S., Znamenskaya E., Shilov R., Lanin S., Nesterenko P. Comparison of Adsorbents Containing Carbon Nanotubes for Express Pre-Concentration of Volatile Organic Compounds from the Air Flow. *Separations*, 2021; 8(4): 50. <https://doi.org/10.3390/separations8040050>
7. Barratt R.S. The preparation of standard gas mixtures. A review. *Analyst*, 1981; 106(1265): 817-849. <https://doi.org/10.1039/AN9810600817>
8. Slominska M., Konieczka P., Namiesnik J. New developments in preparation and use of standard gas mixtures, *Trends Anal. Chem.*, 2014; 62: 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.07.013>
9. Milton M.J.T., Vargha G.M., Brown A.S. Gravimetric methods for the preparation of standard gas mixtures, *Metrologia*,

References



2011; 48(5): R1-R9. <https://doi.org/10.1201/9780203755105>

10. Nelson G. *Gas Mixtures*. Routledge, 2018; 1: 282. <https://doi.org/10.1201/9780203755105>

11. Fijalo C., Dymerski T., Gebicki J., Namiesnik J. Devices for the Production of Reference Gas Mixtures. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2016; 46(5): 361-373. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.953672>

12. Platonov I.A., Rodinkov O.V., Gorbatcheva A.V., Moskvina L.N., Kolesnichenko I.N. Methods and devices for the preparation of standard gas mixtures. *J. of analytical chemistry*, 2018; 73(2): 109-127. <https://doi.org/10.1134/S1061934818020090>

13. Platonov I.A., Kolesnichenko I.N., Novikova E.A., Mukhanova I.M. Poluchenie gazovykh smesei izvestnogo sostava dinamicheskimi metodami, *Sorbtsionnyye i Khromatograficheskiye Protssy*, 2017; 17(3): 378-387. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2017.17/391> (In Russ.)

14. Platonov I.A., Marilov S.S., Nikishin I.A., Arutjunov Ju.I., Minahmetov R.A., Efimov E.G., Bryksin A.S., Labaev M.Ju. Patent RF, no. 202679, 2021. (In Russ.)

15. Kiper R.A. *Rastvorimost' veshhestv: Spravochnik*. Pushhino, 2-e jelektronnoe izdanie, 2020, 290 p. (In Russ.)

16. Platonov I.A., Muhanova I.M., Kolesnichenko I.N., Bryksin A.S. Izuchenie vozmozhnosti poluchenija postojannykh koncentracij organorastvorimyykh analizov v organicheskikh sredah v processe jekspluatacii monolitnykh hromato-desorbtsionnykh system, *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*, 2023; 23(2): 158-170. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11140> (In Russ.)

17. Vitenberg A.G., Konopel'ko L.A. *Gas-chromatographic headspace analysis: metrological aspects*, 2011: 66(5): 438-457. <https://doi.org/10.1134/S106193481103018X> (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

И.А. Платонов – д.т.н., профессор кафедры химии самарского национально-исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

А.С. Брыксин – аспирант самарского национально-исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

И.М. Муханова – к.х.н., доцент кафедры химии самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

И.Н. Колесниченко – к.х.н., доцент кафедры химии самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

I.A. Platonov – prof., grand Ph.D (technical sciences), Head of the department of chemistry, Samara National Research University, Samara, e-mail: pia@ssau.ru

A.S. Bryksin – the postgraduate student of the Department of Chemistry, Samara National Research University, Samara, E-mail: 79376442669@yandex.ru

I.M. Mukhanova – candidate of Chemical Sciences. Associate Professor of the chemistry Department, Samara National Research University, Samara, e-mail: mim042004@mail.ru.

I.N. Kolesnichenko – candidate of Chemical Sciences. Associate Professor of the chemistry Department, Samara National Research University, Samara, e-mail: irniks@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 07.09.2023; одобрена после рецензирования 13.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

The article was submitted 07.09.2023; approved after reviewing 13.09.2023; accepted for publication 20.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544.5:544.722.1

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11561

Обращенно-фазовая ВЭЖХ на «мономерных» обращенных фазах: факторы, определяющие удерживание сорбатов

Виктор Иванович Дейнека^{1✉}, Елена Юрьевна Олейниц¹,
Владимир Федорович Селеменев², Татьяна Викторовна Елисеева²

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия, deineka@bsu.edu.ru[✉]

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. В кратком обзоре рассмотрены варианты характеристики «мономерных» обращенных фаз, направленные на понимание типов взаимодействий, определяющих удерживание сорбатов в жидкостной хроматографии. Рассмотрены имеющие отношение к оценке дисперсионных взаимодействий традиционные точечные (определенные при одном заданном составе подвижной фазы) методы определения удерживающей способности, гидрофобности (как метиленовой селективности); показаны их преимущества и недостатки и предложен в качестве альтернативы вариант использования карт разделения веществ по методу анализа относительного удерживания. Обращено внимание на то, что в реальных обращенно-фазовых сорбентах плотность прививки алкильных цепей в два раза менее плотная по сравнению с твердыми *n*-алканами. В таком случае молекулы сорбатов могут проникать внутрь привитой фазы, и такое проникновение зависит от формы молекул. Следовательно, обычные «мономерные» обращенные фазы имеют специфическую селективность по отношению к удерживанию ряда веществ с особым строением. Показано, что в литературе не уделяется достаточного внимания к различию в механизмах удерживания веществ: абсорбционного или адсорбционного, хотя в этих механизмах перво-степенное значение имеют различные параметры. Более того, в двух наиболее часто применяемых в настоящее время очень интересных и информативных методах - методе линейных соотношений между энергиями сольватации (LSERs) и в гидрофобно-разностной модели (*The hydrophobic-subtraction model*) этой характеристике не уделено должного внимания. В методе линейных соотношений не дифференцированы сорбаты, удерживающиеся по различным механизмам (абсорбции или адсорбции), и получаемые заметные различия между расчетными и экспериментальными данными не удивительны. При этом интерпретация результатов анализа по методу LSERs осложнена неопределенностью доли в энергии сольватации сорбатов парциальных свойств в подвижной и в стационарной фазах, поскольку рассчитывается только их разность. Впрочем, сопоставление различных колонок в одних и тех же подвижных фазах может быть достаточно информативным. Недостатком второго подхода является не только требование использования нескольких колонок, но и требование значительных качественных различий между удерживанием сорбатов на них. Кроме того, вызывает сомнение возможность разложения всех взаимодействий на характеристические типы, поскольку в методе не используются никакие ортогональные (не зависящие от применяемого расчета) свойства сорбатов.

Ключевые слова: обращенно-фазовые колонки, строение «мономерных» фаз, характеристика колонок, метод линейных соотношений между энергиями сольватации, гидрофобно-разностная модель.

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: Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Селеменев В.Ф., Елисеева Т.В. Обращенно-фазовая ВЭЖХ на «мономерных» обращенных фазах: факторы, определяющие удерживание сорбатов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 514-528. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11561>



Original article

Reversed-phase HPLC on the “monomeric” reversed phases: factors determining the retention of sorbates

Viktor I. Deineka¹✉, Elena Yu. Oleinits¹, Vladimir F. Selemenev², Tatyana V. Eliseeva²

¹Belgorod State University, Belgorod, Russia, deineka@bsu.edu.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russia

Abstract. This brief review discusses options for the characterization of “monomeric” reverse phases aimed at understanding the types of interactions that determine the retention of sorbates in liquid chromatography. Traditional point (determined at one certain composition of the mobile phase) methods for determining the retention capacity, hydrophobicity (as methylene selectivity) relevant to the assessment of dispersion interactions are considered; their advantages and disadvantages are shown and the option of using substance separation maps based on the relative retention analysis method was proposed as an alternative. Attention was drawn to the fact that in real reverse-phase sorbents the density of grafting of alkyl chains is two times less dense compared to solid *n*-alkanes. In this case, sorbate molecules can penetrate into the grafted phase, and such penetration depends on the shape of the molecules. Consequently, conventional “monomer” reverse phases have a specific selectivity with respect to the retention of a number of substances with a special structure. It has been shown that modern methods of analysis do not pay enough attention to the difference in the mechanisms of retention of substances: absorption or adsorption, although different parameters are important for these mechanisms. Moreover, attention to this characteristic is not paid in the two most frequently used now very interesting and informative methods - the linear solvation energy relationships (LSERs) and the hydrophobic-subtraction model. The linear solvation energy relationships method does not differentiate between sorbates retained by different mechanisms (absorption or adsorption), and the resulting noticeable differences between calculated and experimental data are not surprising. At the same time, interpretation of the analysis results using the LSERs is complicated by the uncertainty of the contribution of sorbates of partial properties in the mobile and stationary phases to the solvation energy, since only their difference is calculated. However, comparison of different columns in the same mobile phases can be quite informative. The disadvantage of the second approach is not only the requirement to use several columns, but also the requirement of significant qualitative differences between the retention of sorbates on them. In addition, the possibility of decomposing all interactions into characteristic types is questionable, since the method does not use any of the orthogonal (independent of the calculation used) properties of sorbates.

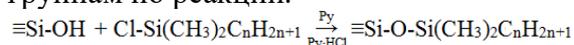
Keywords: reversed-phase columns, structure of “monomeric” phases, characterization of columns, linear solvation energy relationships, hydrophobic-subtraction model.

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: Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Selemenev V.F., Eliseeva T.V. Reversed-phase HPLC on the “monomeric” reversed phases: factors determining the retention of sorbates. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2023. 23(4): 514-528. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11561>

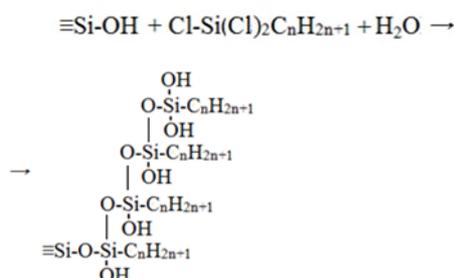
Введение

Обращенно-фазовыми сорбентами назвали первично нормально-фазовые силикагели, поверхность которых была дериватизирована силилированием алкилдиметилхлорсиланом [1] за счет ковалентного связывания по силанольным группам по реакции:



Указанная схема соответствует приготовлению так называемых «мономерных» обращенных фаз. Кроме «мономерных» существуют технологии получения «полимерных» обращенных фаз, из которых наиболее известен и широко используется вариант «вертикальных полимерных» фаз, получаемых с использованием силанов с тремя гидролизуемыми группами. При этом в «вертикальных полимерных» фазах вначале проводят конден-

сацию между молекулами алкилтрихлорсиланов, а затем полученный продукт иммобилизируется на сорбенте:



Такие фазы в значительной мере отличаются от «мономерных» и имеют принципиально иную селективность [2].

При анализе структуры и свойств «мономерных» обращенно-фазовых сорбентов следует учесть, что количество силанольных групп на поверхности полностью гидроксिलированного силикагеля равно примерно 4.8 групп на nm^2 (правило Журавлева-Киселева [3]). При этом вследствие наличия в прививаемой молекуле двух метильных групп у атома кремния силилирующего агента возникают стерические препятствия, позволяющие дериватизировать не более половины поверхностных силанольных групп [1]. Простой анализ [4] показывает, что в таких фазах плотность привитых алкильных групп оказывается примерно вдвое меньше, чем для *n*-алканов в твердой фазе. Следовательно, пространство между привитыми радикалами может

быть заполнено компонентами подвижной фазы или использовано сорбатами для проникновения вглубь такого слоя, обеспечивая распределительный механизм удерживания [5, 6].

С другой стороны, высоко гидрофильные соединения могут удерживаться и по адсорбционному механизму, оказываясь на поверхности стационарной фазы, если они не способны вытеснить из объема заполнившие просветы между привитыми алкильными радикалами молекул органического модификатора. Отметим, что изначально именно адсорбционный механизм удерживания был предложен в качестве первого механизма удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ под названием механизм гидрофобного выталкивания [7].

Таким образом, удерживание в обращенно-фазовой ВЭЖХ возможно по двум принципиально различающимся механизмам удерживания – по абсорбционному и по адсорбционному типам. Кроме того, возможен и гибридный механизм, названный «поплавочным», в котором часть молекулы проникает внутрь привитой фазы, а гидрофильная часть остается на поверхности стационарной фазы [8], рис. 1.

Различить указанные механизмы по хроматографическому поведению веществ на одной стационарной фазе невоз-

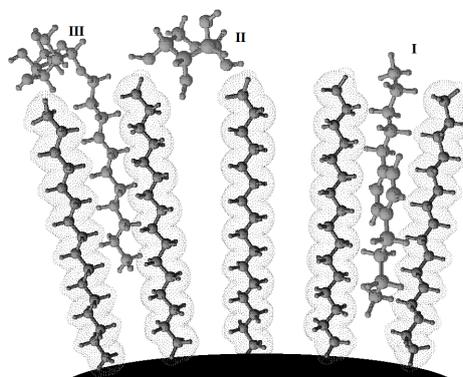


Рис. 1. Механизмы удерживания сорбатов на «мономерных» обращенных фазах:

I – абсорбционный; II – адсорбционный; III – поплавочный

Fig. 1. Mechanisms of retention of sorbates on “monomeric” reverse phases:

I – absorption; II – adsorption; III – float

можно, но можно воспользоваться анализом удерживания сорбатов на стационарных фазах с различной длиной привитого слоя. Фактор удерживания сорбата i на стационарной фазе j , $k_j(i)$, равен его константе распределения между стационарной и подвижной фазами, $K_j(i)$, и фазовым соотношением колонки, φ_j :

$$k_j(i) = K_j(i) \cdot \varphi_j. \quad (1)$$

Если воспользоваться колонками, заполненными стационарными фазами, синтезированными на одном и том же силикагеле, то фазовые соотношения для сорбатов, удерживающихся по адсорбционному механизму должны быть близкими и удерживание сорбатов будет мало зависеть от длины привитого радикала. Тогда при переходе от C18-фазы к C8-фазе и сорбционные свойства поверхностей будут достаточно близкими, хотя в фазе C8 остаточная активность силанольных групп будет выше, чем в фазе C18. При абсорбционном механизме объем привитого слоя при таком же переходе уменьшается более чем в два раза, поэтому и фактор удерживания должен уменьшиться более чем в 2 раза [9].

1. Дисперсионные взаимодействия

Ковалентная иммобилизация на поверхности силикагеля силанов с неполярными алкильными группами изменяет полярный сорбент на неполярный. Привитые алкильные группы имеют практически нулевой дипольный момент, поэтому взаимодействие «сорбат – сорбент» происходит в основном за счет дисперсионных взаимодействий, и удерживание возрастает при

- а) росте гидрофобности сорбата;
- б) росте гидрофобности стационарной фазы;
- в) росте полярности подвижной фазы.

С точки зрения термодинамики удерживание сорбатов в общем случае определяется разностью их свободных энергий в стационарной и подвижной фазах (в области линейности изотермы сорбции).

Но в литературе различают варианты, при которых определяющими считаются:

а) гидрофобные взаимодействия сорбата с компонентами водно-органической подвижной фазы [7];

б) липофильные взаимодействиями сорбата со стационарной фазой [10].

Мономерные обращенные фазы могут различаться по:

- свойствам использованного при дериватизации силикагеля (по удельной поверхности, по размеру и объему пор, по степени чистоты поверхности),
- степени и качеству дериватизации (с эмбедингом или без него, по дендатности прививки),
- активности остаточных силанольных групп (по наличию дополнительной обработки – по эндкепину – неполярному или полярному).

По данным причинам сорбционные свойства сорбентов различных марок (а иногда и между партиями одной марки) возникают существенные различия. Поэтому для характеристики стационарных фаз были введены параметры взаимодействия сорбатов со стационарной и подвижной фазами. Так, абсолютное удерживание этилбензола обеспечивает оценку удерживающей способности (column retentiveness, column strength) обращенно-фазовой колонки, которое предлагается определять в элюенте, содержащем 80 об. % метанола и 20 об. % воды при 23°C в стандарте США [11]. По предложению Галушко [12] для оценки гидрофобности колонок предлагают использовать полусумму факторов удерживания бензола и толуола. Еще по одному варианту в качестве меры гидрофобности колонки предложено использовать логарифм фактора удерживания, аппроксимированный на нулевое содержание органического модификатора [12]. Но применение этих трех параметров при сопоставлении свойств колонок различных производителей содержит неопределенность

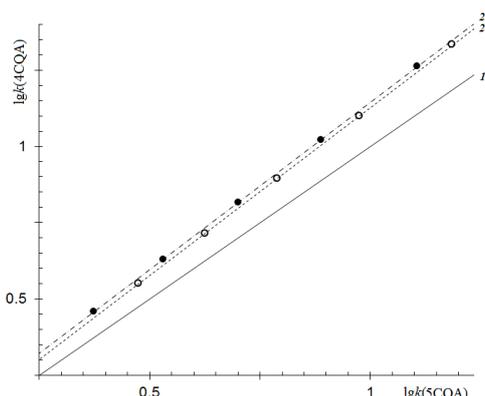


Рис. 2. Карта разделения второго типа: удерживание 4-кофеoilхинной кислоты (4CQA) относительно удерживания 5-кофеoilхинной кислоты (5CQA) в элюентах системы «ацетонитрил – 0.3 об.% ортофосфорной кислоты – вода» на двух колонках (а и б) марки Symmetry C18

Fig. 2. Second type separation map: retention of 4-caffeoylquinic acid (4CQA) relative to retention of 5-caffeoylquinic acid (5CQA) in eluents of the system “acetonitrile - 0.3 vol.% ortho-phosphoric acid - water” on two columns (A and B) Symmetry C18

связанную с возможным (и значительным) различием в фазовом соотношении в уравнении (1). Но если в качестве параметра свойства использовать соотношение факторов удерживания двух веществ на одной и той же колонке, то фазовое соотношение сокращается:

$$\frac{k_j(a)}{k_j(b)} = \frac{K_j(a)}{K_j(b)} \cdot \frac{\varphi_j}{\varphi_j} = \frac{K_j(a)}{K_j(b)} \quad (2)$$

Поэтому такое соотношение (называемое селективностью) является более надежным параметром, определяющим гидрофобность колонок. Параметры гидрофобности (или метиленовой селективности) по тесту Танака определяются как соотношение факторов удерживания амилбензола и бутилбензола, соотношение факторов удерживания этилбензола и толуола (тест Энгельгардта), и даже антрацена и бензола (тест Уолтерса), уже не имеющие смысла метиленовой селективности [12].

В этом отношении анализ карт разделения второго типа [13], рис. 2 имеет ряд преимуществ.

На рис. 2 приведена зависимость удерживания 4-кофеoilхинной кислоты (4CQA) от удерживания 5-кофеoilхинной кислоты (5CQA) в элюентах системы «ацетонитрил – 0.3 об.% ортофосфорной

кислоты – вода». Линии для относительного удерживания 4CQA имеют больший наклон по сравнению с линией для 5CQA. Из этого следует, что селективность разделения этих двух изомеров увеличивается с ростом их удерживания. Отметим, что и метиленовая селективность зависит от состава подвижной фазы. На предложенной карте разделения можно сопоставить свойства различных стационарных фаз. Это позволяет обнаружить различия в удерживании этих соединений при замене одной колонки на колонку такой же марки, но находившуюся в длительном использовании в жестких условиях (в подвижной фазе, содержащей 10 об. % муравьиной кислоты с pH около 1.5). Поскольку pH не ниже 2 является верхним пределом допустимой кислотности подвижных фаз с гарантированной устойчивостью традиционных C18-фаз [14], то при длительной работе в более кислых подвижных фазах часть привитых алкильных групп гидролизуеться. Это приводит к заметному падению удерживания; селективность разделения этих изомеров при этом также снижается, но в меньшей степени.

Другой пример был приведен в работе [15]. В этой работе логарифм фактора

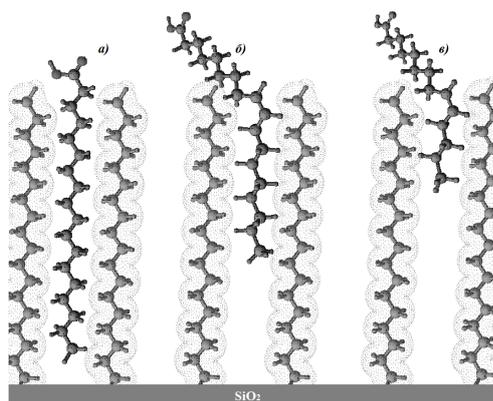


Рис. 3. О легкости и стерических затруднениях сорбции жирных кислот:
 а) *n*-алкановая кислота; б) ω -9 *n*-алкеновая кислота и в) ω -5 *n*-алкеновая кислота
 Fig. 3. On the ease and steric hindrance of fatty acid sorption:
 а) *n*-alkanoic acid; б) ω -9 *n*-alkenic acid and в) ω -5 *n*-alkenic acid

удерживания толуола относительно логарифма фактора удерживания бензола для 21 колонки, анализ которых был выполнен в стандарте США [11] при одном и том же составе подвижной фазы (см. выше), укладывался на прямую линию, близкую к прямой линии для относительного удерживания этих же соединений на одной колонке, но в различных составах подвижных фаз. Отметим, что абсолютно строгого совпадения относительного удерживания на различных колонках ожидать в принципе не следовало, поскольку в используемые параметры входят логарифмы фазовых соотношений, которые для различных стационарных фаз не должны быть одинаковыми, как отмечалось выше.

2. Селективность к форме сорбатов

Это свойство стационарных обращенных фаз принципиально важно для разделения сложных смесей. Причем, когда обращают внимание на селективность к форме сорбатов, то чаще относят это свойство к «полимерным» обращенным фазам. Чувствительность удерживания к форме сорбатов для «полимерных» и «мономерных» фаз зависит от различных факторов. В случае «мономерных» обращенных фаз:

а) условно линейные *n*-алкильные группы могут легко проникать вглубь

привитого слоя; но при наличии двойных С=С-связей в *цис*-конфигурации в проникающих в привитой слой сорбатах необходима конформационная перестройка алкильных цепей привитого слоя, требующая затрат свободной энергии в привитом слое, причем тем сильнее, чем ближе к «головной» метильной группе проникающего в привитой слой алкильного радикала она находится [16, 17], рис. 3. Кстати, такая модель строения «мономерной» обращенной фазы является единственным обоснованием применимости топологической модели, объясняющей различие в удерживании сорбатов с изомерным строением алкильных радикалов [18];

б) при распределительном механизме сорбции каротиноидов полное погружение в привитой слой молекул каротиноидов требует наличия на поверхности сорбента линейных рядов с недериватизированными силанольными группами. Хаотичность же положения дериватизации и нерегулярность строения аморфного силикагеля потребует при сорбции каротиноидов дополнительных конформационных перестроек алкильных цепей привитого слоя. Эта идея позволяет объяснить, например, экспериментально наблюдаемый порядок элюирования полностью *транс*, 9-*цис*, 13-*цис* и 15-*цис* изомеров β -каротина: [19-21];

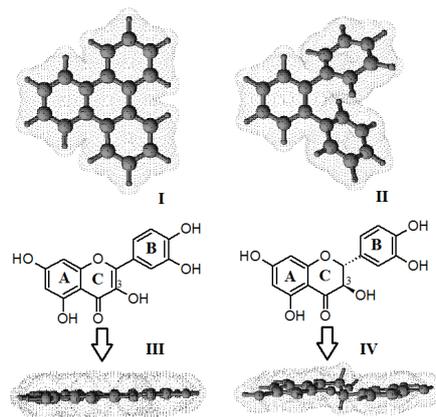


Рис. 4. Структуры трифенилена (I), *орто*-терфенила (II), кверцетина (III) и дигидрокверцетина (IV)

Fig. 4. Structures of triphenylene (I), *ortho*-terphenyl (II), quercetin (III), and dihydroquercetin (IV)

в) при плоском строении сорбатам проще проникнуть в привитой слой по сравнению с сорбатами неплоского строения. Именно этот аспект особенности сорбции специально подобранных соединений «мономерными» обращенными фазами широко известен. Так, по тесту Танака определяют соотношение факторов удерживания плоского трифенилена и неплоского (из-за отталкивание атомов водорода первого и третьего фенильных колец) *орто*-терфенила (рис. 4) для «мономерных» обращенных фаз, хотя высокая эффективность «полимерных» фаз в дифференцировании сорбатов по их пространственному строению сделала их использование предпочтительным в ВЭЖХ [22]. Именно плоская структура кверцетина, в которой ОН-группа в положении 3 частично экранирована ароматическим кольцом В, объясняет существенно большее удерживание этого соединения по сравнению с не плоским дигидрокверцетином, несмотря на замену связи С=С на более липофильную группировку СН₂-СН₂, рис. 4, [23].

3. Активность остаточных силанольных групп

Полярные взаимодействия «сорбат–сорбент» для «мономерных» обращенно-фазовых сорбентов определяются доступностью остаточных силанольных

групп, число которых составляет примерно половину от изначально существовавших на поверхности силикагеля перед дериватизацией. Именно активность остаточных силанольных групп является причиной серьезных различий сорбционных свойств обращенных фаз различных производителей. Вследствие хаотичности силилирования силанольных групп и нерегулярности строения аморфного силикагеля на начальном этапе на его поверхности могут появиться участки, на которых между привитыми группами может образоваться не одна свободная силанольная группа, а две. В этом случае дополнительное силилирование триметилхлорсиланом одной из таких групп позволяет уменьшить их суммарную активность – процесс, названный эндкепингом [24]. Существует еще одна технология снижения активности остаточных силанольных групп – эмбединг [25], но стационарные фазы такого типа не столь распространены, как фазы с эндкепингом, поэтому в данном обзоре рассматриваться не будут.

Таким образом, для традиционных «мономерных» обращенных фаз с эндкепингом молекула сорбата с полярными группами, способные проникать внутрь привитой фазы, могут образовываться

вать с остаточными силанольными группами водородные связи или вступать в другие типы полярных взаимодействий. В ряде случаев для подавления таких взаимодействий в подвижную фазу вносят добавки, конкурирующие с сорбатами за право образовать водородную связь. Например, по опыту нашей лаборатории, при определении высших жирных кислот, получаемых омылением жиров, на хроматограммах пики кислот оказываются уширенными с затянутым тылом; но добавка в подвижную фазу менее 1 об.% триэтиламина или уксусной кислоты позволяет существенно улучшить формы пиков.

Для оценки активности силанольных групп предложено несколько различных вариантов тестов. В работе [26] приводятся варианты тестов:

а) Энгельгардта – для «силанофильных взаимодействий» (silanophilic interactions – крайне неудачное определение, поскольку силаны и силанольные группы – различные с химической точки зрения объекты), определяемые соотношением факторов удерживания анилина и фенола в подвижной фазе, содержащей 55 об. % метанола в воде при 40°C;

б) Уолтерса (Walters) – как соотношение факторов удерживания N,N-диметил-мета-толуамида (ДЭТА) и антрацена в 100%-ном ацетонитриле при 40°C;

в) Галушко предложил странную формулу с учетом факторов удерживания анилина и фенола:

$$S_G = 1 + 3 \cdot \left[\frac{k(\text{анилин})}{k(\text{фенол})} - 1 \right] \quad (3)$$

В работе [12] в качестве теста на силанольную активность по Энгельгардту предлагается оценка асимметрии пика пара-этиленамина на уровне 5% от высоты пика в элюентах 49:51 или 55:45 об.% системы «метанол-вода» при 40°C. В тесте Танаки рассчитывается способность к образованию водородных связей при использовании соотношения факторов удерживания существенно более стабильного при хранении (по сравнению с

анилином) кофеина и фенола при использовании в качестве метчика мертвого времени урацила в элюенте, содержащем 30 об.% метанола в воде. Но при этом добавляется и тест на ионообменную емкость при pH > 7 и ионообменную емкость при pH < 7 – как соотношение факторов удерживания бензиламина и фенола в элюентах: 30:70 по объему метанол-водный раствор 0.02 М фосфатного буфера с pH 7.6 в первом случае, или водный раствор 0.02 М фосфатного буфера с pH 2.7 – во втором.

В стандарте США [11] используются амитриптилин и хинизарин. Хинизарин (1,4-дигидроксиантрахинон) представляет собой реагент, хелатирующий металлы, поэтому его хроматографическое поведение зависит от наличия или отсутствия металлов в хроматографической системе. При низкой активности сорбента по отношению к хелатирующим реагентам образуются симметричные пики, при высокой активности пик становится несимметричным с затянутым тылом. Хинизарин обычно элюируется после этилбензола и перед амитриптилином. Для колонок с некоторым типом эмбеддинга хинизарин может элюироваться последним с хорошей симметрией пиков. Амитриптилин (трициклический антидепрессант) является основным фармацевтическим препаратом (pK_a=9.4), широко используемым производителями колонок для их характеристики. Элюирование органических оснований с затянутым тылом («хвостом») пика обычно связывают с высокой силанольной активностью. Поэтому асимметрия пика считается подходящей мерой силанольной активности. Как и в выше предложенном варианте для избавления от недостатков точечных методов возможно использование анализа карт разделения второго типа [13].

Таким образом, при удерживании сорбатов на «мономерных» обращенных фазах возможны два различных механизма сорбции (как и промежуточный меха-

низм, получивший название «поплавочный» [8]). Каждый из этих механизмов обладает своими стереоспецифическими свойствами, поэтому оценка соотношения между строением сорбатов и их удерживанием должна приводиться после разделения сорбатов по механизму удерживания.

4. Линейные соотношения между энергиями сольватации (*linear solvation energy relationships, LSERs*)

Метод стал распространением подхода, разработанного известными специалистами в физической органической химии Камлетом, Тафтом и сотр. (Kamlet, Taft et al, [28]). Метод предназначен для определения вклада типов межмолекулярных взаимодействий в энергию удерживания веществ в обращенно-фазовой хроматографии при предположении аддитивности этих характеристик. Энергия Гиббса переноса сорбата с подвижной фазы на стационарную пропорциональна логарифму фактора удерживания, а для исключения влияния фазового соотношения необходимо вычесть из этого логарифма логарифм фактора удерживания вещества, принятого в качестве вещества сравнения. По предложенному Абрахамсом и сотр. методу [29, 30] удерживание сорбатов в обращенно-фазовой хроматографии определяется уравнением:

$$\lg k = \lg k_o + M(\psi_s - \psi_m)V_2 + S(\pi_s^* - \pi_m^*)\pi_2^* + A(\beta_s - \beta_m)\alpha_2 + B(\alpha_s - \alpha_m)\beta_2 \quad (4)$$

В уравнении (3) нижние индексы s и m относятся к стационарной и подвижной фазам, соответственно; нижний индекс 2 указывает на парциальные свойства сорбата, такие как молярный объем (V), полярность и поляризуемость (π); активность в образовании водородной связи в качестве донора (α) (называемая кислотностью) и активность при образовании водородной связи в качестве акцептора (β) (называемая основностью). Множители перед этими параметрами являются разностью комплементарных свойств

между стационарной и подвижной фазами. Предполагается, что коэффициенты, обозначенные заглавными буквами, как и $\lg k_o$ являются подгоняемыми параметрами, не зависящими от сорбата и природы хроматографических фаз.

Терм $M(\psi_s - \psi_m)V_2$ является наиболее сложным термом представленного выше уравнения. Он является термом полости, создание которой необходимо для заполнения молекулой сорбата в обеих фазах, определяемым как энергия когезии, выражаемой через параметры Хильдебранда: $M_1(\delta_{H,s}^2 - \delta_{H,m}^2)V_2$, стабилизированный дисперсионными взаимодействиями между молекулами сорбата и дисперсионными средами, $M_2(D_2 - D_m)V_2$.

Алкильные радикалы привитой фазы, казалось бы, должны сообщать этой фазе нулевые парциальные компоненты, связанные с полярностью (и поляризуемостью) и со способностью образовывать водородные связи. Но при сорбции воды и органических модификаторов внутрь привитой фазы они приобретают определенные значения таких параметров (от 0.7 до 1.1 для π^*).

Для фиксированных стационарной и подвижной фаз уравнение упрощается:

$$\lg k = \lg k_o + mV_2 + s\pi_2^* + a\alpha_2 + b\beta_2. \quad (5)$$

Главная задача метода – оценить соответствующие параметры сорбата любыми подходящими методами. В качестве V_2 удобно использование McGowan параметра, V_x [31]. Остальные параметры были определены при исследовании различных свойств сорбатов, например, хроматографического поведения веществ в условиях газовой хроматографии [32]. Если все дескрипторы определены, то задача сводится к множественной линейной регрессии для нахождения термов, относящихся к хроматографической системе – т.е. к используемой колонке и составу подвижной фазы. Это должно определить основные виды взаимодействий, управляющие процессами сорбции, и установить их вклад в суммарное удерживание.

Вид уравнений для линейных соотношений между энергиями сольватации во многих публикациях несколько изменялся или дополнялся. Так, в работе [33] вместо уравнения (4) применяли уравнение (5):

$$\lg k = \lg k_0 + vV_2 + s\pi_2^* + a \sum \alpha_2^H + b \sum \beta_2^H + rR_2, \quad (6)$$

в котором появилось дополнительное слагаемое (последнее) – избыточная молярная рефракция сорбата, R_2 ; и комплементарное значение r , зависящее от подвижной и стационарной фаз.

Анализ коэффициентов, связанных со стационарной и подвижной фазами показывает, что для обычных «мономерных» C18 фаз:

- коэффициент v положительный и уменьшается с ростом концентрации ацетонитрила в подвижной фазе. Это указывает на большой вклад дисперсионных взаимодействий энергии сольватации сорбата в стационарной фазе по сравнению в подвижной, а уменьшение такой разности связано с ростом липофильности подвижной фазы при увеличении концентрации ацетонитрила в ней;

- коэффициент s , связанный с полярностью или поляризуемостью сорбата отрицателен и почти не изменяется с ростом концентрации ацетонитрила в подвижной фазе – т.е. полярные взаимодействия в подвижной фазе сильнее, чем в стационарной;

- коэффициенты a и b также отрицательны, но уменьшаются по модулю с ростом концентрации ацетонитрила в подвижной фазе, что указывает на воду – важнейшего компонента, отвечающего за образование водородных связей, причем в подвижной фазе этот эффект выражен значительно сильнее, чем в стационарной.

При переходе к C8-фазе (при этом доступность остаточных силанольных групп сорбента повышается) коэффициент s также положителен, но почти в полтора раза меньше, чем для C18-фаз, что

может указывать на усиление полярных взаимодействий в стационарной фазе вследствие увеличения доступности остаточных силанольных групп сорбента. При этом, как и следовало предполагать, энергии водородных связей (как кислотность, так и основность) уменьшаются по абсолютной величине при одинаковых составах подвижных фаз.

Таким образом, метод позволяет оценить вклад различных взаимодействий в обеих фазах, но количественное разделение этого вклада на роль стационарной и подвижной фаз, к сожалению, мало вероятно. Явный недостаток модели состоит в том, что она может быть применена только к веществам, дескрипторы для которых определены заранее.

По мнению авторов работы [34], использование представленных выше уравнений, как способа характеристики колонок, ограничено. Во-первых, предсказательная точность метода не лучше 10-20%, что во многих случаях не приемлемо, особенно для веществ с R_s от 0.5 до 2.0. Во-вторых, использование вкладов в суммарное удерживание некоторых (ограниченного числа) параметров, требует обоснования; кроме того, использование дескрипторов сорбатов, определенных методами, далекими от ВЭЖХ, не гарантирует их применимость в ВЭЖХ.

К сказанному выше можно добавить, что в этом методе не селективно учитываются геометрические параметры сорбатов, и все использованные сорбаты не распределены по механизму удерживания, что может быть причиной обычно высокой дисперсии расчетных значений логарифма фактора удерживания относительно экспериментальных данных.

5. Гидрофобно-разностная модель (*The hydrophobic-subtraction model*)

Как следует из приведенной выше информации, удерживание сорбатов в обращенно-фазовой хроматографии зависит не только от дисперсионных взаимодействий между сорбатом и стационарной

фазой, но и от других типов взаимодействий. При сопоставлении логарифмов факторов удерживания 90 различных сорбатов на 10 различных колонках было установлено, что на колонке Intersil ODS-3 относительно колонки StableBond C18 найдена зависимость с наклоном близким к 1 (1.01) с довольно высоким коэффициентом корреляции ($R^2=0.995$) и относительно небольшим стандартным отклонением (0.034) [24]. Дальнейший анализ полученных данных привел авторов к выводу о том, что вклад основных типов взаимодействий качественно примерно одинаков для большинства использованных сорбатов (за исключением сильных оснований и алифатических амидов), но различия значительны для веществ основного типа. Следовательно, общая модель должна учитывать вклады различных типов взаимодействий.

В гидрофобно-разностной модели (*The hydrophobic-subtraction model*, [25]) предлагается использовать селективность разделения всех сорбатов относительно неполярного этилбензола по уравнению:

$$\lg \alpha = \lg \left(\frac{k}{k_{ЭБ}} \right) = \eta' H - \sigma' S + \beta' A + \alpha' B + \kappa' C \quad (7)$$

где k – фактор удерживания рассматриваемого сорбата, $k_{ЭБ}$ – фактор удерживания этилбензола, измеренные в одних и тех же условиях; остальные символы указывают на эмпирические, зависящие от состава подвижной фазы и от температуры дескрипторы, относящиеся к данному сорбату (η' , σ' , β' , α' , κ'), или относящиеся к сорбенту не зависящие от состава элюента и температуры дескрипторы сорбента (H , S , A , B , C).

Ориентировочная природа (на самом деле, эту природу предположительно определяют только после классификации сорбатов, использованных в методе) учтенных в уравнении вкладов:

- параметр, связанный с гидрофобностью (первое произведение),
- параметр, связанный со стерическими факторами (второе

произведение),

- A – дескриптор, оценивающий склонность неионизированных остаточных силанольных групп к образованию водородных связей в качестве донора водородной связи;

- B – то же, только в качестве акцептора водородной связи – связывают с молекулой воды, адсорбированной на поверхности силикагеля;

- C отвечает за катионообменные свойства сорбента.

Аддитивные параметры (η' , σ' , β' , α' , κ') указывают на соответствующее комплексментарные свойства сорбатов. Подробно метод определения приведенных выше параметров изложен в [35]. В итоге авторы цитируемой работы установили, что надежность полученных корреляций существенно выше, чем в методе линейных соотношений между энергиями сольватации.

Но получаемые в предложенном методе параметры на самом деле имеют не до конца понятный физический смысл, поскольку ни с каким физическим свойством сорбатов не были сопоставлены. Изначально по сопоставлению относительного удерживания всех 67 сорбатов (от удерживания этилбензола, использованного в качестве вещества сравнения) выделяются те, для которых существует группа с линейной зависимостью между удерживанием на всех колонках относительно колонки, принятой за колонку сравнения (SB 100). Затем вещества, для которых нет такой корреляции, группируют по иному признаку – линейности между разностью удерживания пар веществ между собой для 10 использованных стационарных фаз. Используя множественную линейную корреляцию для всего базиса сорбатов, определяют дескрипторы сорбатов. И, наконец, множественная линейная корреляция для относительного удерживания всех сорбатов используется для уточнения параметров



колонок (на самом деле – хроматографических систем, включающих подвижную и стационарную фазы).

Классифицируя типы взаимодействий, авторы никак не моделируют стерическую селективность, предполагая, что она проявится автоматически. Наконец, подход применим для анализа удерживания большого ряда сорбатов на ряде колонок с заведомо различающимися парциальными (по типам взаимодействий) свойствами. Понятно, что использование метода для колонок с близкой химией поверхности не имеет смысла. Наконец, в исходных данных, как и в предыдущем методе, присутствуют большие отрицательные значения логарифмов факторов удерживания, численные значения которых сильно зависят от надежности использованного способа определения мертвого времени.

Заключение

Анализ литературных данных указывает на то, что проблема выяснения типов межмолекулярных взаимодействий,

Список литературы/References

1. Himiya privityh poverhnostnyh soedinenij / Pod red. G.V. Lisichkina. M.: FIZMATLIT. 2003. 592 s. (in Russ.)
2. Deineka V.I., Burzhinskaya T.G., Deineka L.A. The Surface Structure of “Monomeric” and “Polymeric” Reversed Stationary Phases and Mechanisms of Carotenoid Separation. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2022; 58(6): 1188-1192. <https://doi.org/10.1134/S2070205122060053>
3. Zhuravlev L.T. Concentration of hydroxyl groups on the surface of amorphous silicas. *Langmuir*. 1987; 3: 316-318. <https://doi.org/10.1021/la00075a004>.
3. Deineka V.I., Nguyen Anh Van, Deineka L.A. Model of a Reversed Phase Grafted on Silica Gel, *Russ. J. Phys. Chem. A*, 2019; 93(12): 2490-2493. <https://doi.org/10.1021/cr00092a005>

определяющих удерживание сорбатов в условиях «мономерных» обращенных стационарных фаз, очень сложна. Причем сложность такого описания существует не только на количественном, но даже и на качественном уровнях. Это связано, прежде всего, со сложностью учета чувствительности стационарных фаз к объемным факторам сорбатов в распределительном механизме сорбции, обоснованных дескрипторов для которых к настоящему времени не существует. Наконец, необходима дифференциация сорбатов, удерживающихся по адсорбционному или абсорбционному механизмам, закономерности удерживания которых могут существенно различаться по всем типам взаимодействий.

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. Deineka V.I., Burzhinskaya T.G., Deineka L.A. The Surface Structure of “Monomeric” and “Polymeric” Reversed Stationary Phases and Mechanisms of Carotenoid Separation, *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, 2022; 58(6): 1188-1192. <https://doi.org/10.1134/S2070205122060053>
5. Žuvela P., Skoczylas M., Jay Liu J., Bączek T. Column Characterization and Selection Systems in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Chem. Rev.*, 2018; 119: 3674-3729. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00246>
6. Rafferty J.L., Zhang L., Siepmann J.I., Schure M.R. Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography: A Molecular Perspective. *Anal. Chem.* 2007; 79: 6551-6558. <https://doi.org/10.1021/ac0705115>
7. Horváth C., Melander W., Molnár I. Solvophobic Interactions in Liquid Chromatography with Nonpolar Stationary Phases.



- J. Chromatogr. A.* 1976; 125: 129-156. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)93816-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)93816-0)
8. Deineka V.I., Deineka L.A., Saenko I.I., Chulkov A.N. A Float Mechanism of Retention in Reversed-Phase Chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A.* 2015; 89: 1300-1304. <https://doi.org/10.1134/S0036024415070079>
9. Deineka V.I., Burzhinskaya T.G., Deineka L.A. Separation of carotenoids during reversed-phase HPLC: retention mechanism and methylene selectivity on a monomeric stationary phase. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2022; 22(4): 393-405. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2022.22/1056>
10. Carr P.W., Li J., Dallas A.J., Eikens D.I. *et al.* Revisionist Look at Solvophobic Driving Forces in Reversed-Phase Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1993; 656: 113-133. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80800-N](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80800-N)
11. Carlos A. Gonzalez Standard Reference Material® 870 Column Performance Test Mixture for Liquid Chromatography / National Institute of Standards & Technology Certificate of Analysis. Gaithersburg, MD 20899. 2016. https://www.hplc.eu/Downloads/NIST_SRM_870.pdf
12. Claessens H.A., van Straten M.A., Cramers C.A., Jezierska M. *et al.* Comparative study of test methods for reversed-phase columns for high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1998; 826: 135-156. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00749-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00749-3)
13. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A. Comparing Two Versions of a Separation Map in Reversed Phase Liquid Chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A.* 2022; 96(8): 1768-1772. <https://doi.org/10.1134/S003602442208007>
14. Moldoveanu S.C. HPLC Analysis. Ch. 9 / In: Essentials in Modern HPLC Separations. Serban C. Moldoveanu, Victor David. Elsevier. 2012. 550 p.
15. Deineka V.I. Relative retentions analysis in reversed-phase HPLC. Columns standardization. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2006; 6(4): 596-01. (In Russ.)
16. Deineka V.I., Nguyen Anh Van, Deineka L.A. Model of a Reversed Phase Grafted on Silica Gel. *Russian Journal of Physical Chemistry A.* 2019; 93(12): 2490-2493. <https://doi.org/10.1134/S0036024419120057>
17. Czauderna M., Kowalczyk J. HPLC Separation of Some Unsaturated and Saturated Fatty Acids. *Chem. Anal. (Warsaw).*, 2002; 47: 867-882. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.baztech-article-BPP1-0031-0019>
18. Kurbatova S.V., Shumskaya N.Yu. Issledovanie vzaimosvyazi mezhdu strukturoj i hromatograficheskim povedeniem karbonil'nyh proizvodnyh adamantana v usloviyah obrashchenno-fazovoj VEZHKKH, *Vestnik SamGU. Estestvennonauchnaya seriya.* 2004. Vtoroj spec. vypusk. 123-130. (In Russ.)
19. Stahl W., Sundquist A.R., Hanusch M., Schwarz W. *et al.* Separation of β -Carotene and Lycopene Geometrical Isomers in Biological Samples. *Clin. Chem.*, 1993; 39/5: 810-814. <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.5.810>
20. Saleh M.H., Tan B. Separation and Identification of *Cis/Trans* Carotenoid Isomers. *J. Agric. Food Chem.* 1991; 39: 1438-1443. <https://doi.org/10.1021/jf00008a015>
21. Deineka V.I., Burzhinskaya T.G., Deineka L.A., Blinova I. P. Determination of Carotenoids of Tomato Fruits of Different Colors. *J. Anal. Chem.* 2021; 76(2): 196-203. <https://doi.org/10.1134/S1061934820120060>
22. Engelhardt H., Nikolov M., Arangio M., Scherer M. Studies on Shape Selectivity of RP C18-Columns. *Chromatographia.* 1998; 48(3/4): 186-189. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF02467669.pdf>



23. Deineka V.I., Deineka L.A., Blinova I.P., Kostenko M.O., Oleinits E.Yu. About chromatographic behavior of flavonoids in reversed-phase HPLC. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2016; 16(3): 377-383. (In Russ.)
24. Gritti F., Guiochon G. Effect of the endcapping of reversed-phase high-performance liquid chromatography adsorbents on the adsorption isotherm. *J. Chromatogr. A*. 2005; 1098: 82-94. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.08.045>
25. Wilson N.S., Gilroy J., Dolan J.W., Snyder L.R. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography VI. Columns with embedded or end-capping polar groups. *J. Chromatogr. A*. 2004; 1026: 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.11.041>
26. Vyňuchalová K., Jandera P. Selectivity Tests of Stationary Phases for Reversed-Phase HPLC. *Anal. Lett.* 2011; 44(9): 1640-1662. <https://doi.org/10.1080/00032719.2010.520393>
27. Deineka V.I. A New Method for Assessing the Effect of Residual Silanol Groups on Total Retention in Reversed-Phase HPLC. *J. Anal. Chem.* 2007; 62(7): 665-668. <https://doi.org/10.1134/S106193480707009X>
28. Kamlet M.J., Taft R.W. Linear solvation energy relationships. Local empirical rules – of fundamental laws of chemistry? A reply to the chemometricians. *Acta Chem. Scand. B*. 1985; 39: 611-628. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.41b-0589>
29. Sadek P.C., Carr P.W., Doherty R.M., Kamlet M.J. *et al.* Study of Retention Processes in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography by the Use of the Solvatochromic Comparison Method. *Anal. Chem.* 1985; 57: 2971-2978. <https://doi.org/10.1021/ac00291a049>
30. Tan L.C., Carr P.W., Abraham M.H. Study of retention in reversed-phase liquid chromatography using linear solvation energy relationships I. The stationary phase. *J. Chromatogr. A*. 1996; 752: 1-18. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00459-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00459-1)
31. Abraham M.H., McGowan J.C. The Use of Characteristic Volumes to Measure Cavity Terms in Reversed Phase Liquid Chromatography. *Chromatographia*. 1987; 23(4): 243-246. <https://doi.org/10.1007/BF02311772>
32. Abraham M.H., Whiting G.S., Doherty R.M., Shuely W.J. Hydrogen bonding XVI. A new solute solvation parameter, π^H_2 , from gas chromatographic data. *J. Chromatogr.* 1991; 587: 213-228. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(91\)85158-C](https://doi.org/10.1016/0021-9673(91)85158-C)
33. Zhai J., Carr P.W. Comparison of the Retention Characteristics of Aromatic and Aliphatic Reversed Phases for HPLC Using Linear Solvation Energy Relationships. *Anal. Chem.* 1998; 70: 3619-3628. <https://doi.org/10.1021/ac980173v>
34. Wilson N.S., Nelson M.D., Dolan J.W., Snyder L.R. *et al.* Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography. I. A general quantitative relationship. *J. Chromatogr. A*. 2002; 961: 171-193. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00659-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00659-3)
35. Snyder L.R., Dolan J.W., Carr P.W. The hydrophobic-subtraction model of reversed-phase column selectivity. *J. Chromatogr. A*. 2004; 1060: P. 77-116. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.121>

Информация об авторах / Information about the authors

В.И. Дейнека – профессор кафедры общей химии, д.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

V.I. Deineka – Professor of the Department of General Chemistry Belgorod state national research University, Belgorod, e-mail deineka@bsu.edu.ru



Е.Ю. Олейниц – ассистент кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

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

Т.В. Елисева – к.х.н., зав. кафедрой аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

E.A. Oleynits – Assistant of the Department of General Chemistry, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation, e-mail: oleinits_e@bsu.edu.ru

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

T.V. Eliseeva – Head of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: tatyanaeliseeva@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 21.05.2023; одобрена после рецензирования 25.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 11.12. 2023; approved after reviewing 25.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 542.08:543.64

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11562

Тенденции развития хроматографических методов и их востребованность в фармакопейной практике

**Людмила Васильевна Рудакова[✉], Анастасия Петровна Терских,
Елена Николаевна Ветрова, Татьяна Николаевна Никитина**

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия,
vodoley65@mail.ru[✉]

Аннотация. Анализ фармацевтической продукции осуществляется на всех этапах ее производства и на всем пути до потребителя. Основным инструментом для проведения аналитического контроля является такой нормативный документ как Государственная фармакопея, которая содержит общие фармакопейные статьи с описанием законодательно рекомендованных методов анализа. Настоящее наукометрическое исследование имело своей целью сопоставить тенденции развития аналитической науки и уровень востребованности различных аналитических методов в фармакопейной практике, оценить динамику развития хроматографии и внедрения ее достижений в фармацевтический анализ.

Был проведен анализ ряда отечественных и зарубежных фармакопей, определено, когда разработанные методы анализа оказываются в списке регламентированных общих фармакопейных статей; какие методы анализа наиболее часто рекомендуются в частных фармакопейных статьях для определения тех или иных показателей качества. Полученные данные сопоставлены с динамикой развития различных направлений аналитической науки. Всего 70 лет назад основным инструментом аналитиков была титриметрия, но уже к 2000 году доля публикаций по химическим методам анализа уменьшилась примерно в 30 раз. Максимум публикаций, посвященных спектральным методам, приходится на 70-е годы прошлого столетия. Резко увеличилось к рубежу столетий число статей по хроматографии. Доля статей по электрохимическим методам анализа к 2000 году существенно не изменилась, однако изменилась их структура в сторону значительного увеличения публикаций по электрохимическим сенсорам. К 2000 году резко возросло число статей по электрофоретическим и масс-спектрометрическим методам (МС), особенно по хромато-масс-спектрометрии. К 2010 году первое место среди всех методов анализа заняла высокоэффективная жидкостная хроматография, которая с той поры удерживает свои позиции, при этом все большее внимание уделяется тандему МС и ВЭЖХ.

Анализ частных Российских фармакопей, начиная с X издания, а также Международной, Европейской, Фармакопеи США, Великобритании показал, что если обобщить средние значения частоты упоминания различных методов анализа в частных фармакопейных статьях, то среди инструментальных методов анализа во всех первоисточниках к 2010 году чаще всего рекомендуются оптические и спектральные методы (на их долю приходится в среднем 55% - 65%), хроматография составляет 27-32%, остальное приходится на электрохимические методы. Примерно такое же соотношение по числу публикаций наблюдалось на 2000 год. Таким образом, можно сделать вывод, что внедрение аналитических разработок в фармакопейную практику отставало примерно на десятилетие от пика научного интереса к соответствующему методу анализа. В современной Государственной Фармакопее IX издания хроматография занимает лидирующее положение по числу рекомендаций, причем самым востребованным является ВЭЖХ, что логично соответствует природе анализируемых объектов. Данный метод применяется в основном для определения родственных примесей, количественного определения действующего вещества и подтверждения подлинности.

Ключевые слова: государственная фармакопея, лекарственный препарат, методы анализа, хроматография.
Для цитирования: Рудакова Л.В., Терских А.П., Ветрова Е.Н., Никитина Т.Н. Тенденции развития хроматографических методов и их востребованность в фармакопейной практике // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 529-538. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11562>*



Original article

Trends in the development of chromatographic methods and demand in pharmacopey practice

Lyudmila V. Rudakova[✉], Anastasiya P. Terskikh,
Elena N. Vetrova, Tatyana N. Nikitina

Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia, vodoley65@mail.ru[✉]

Abstract. Analysis of pharmaceutical products is carried out at all stages of its production and sale. The main tool for analytical control is the State Pharmacopoeia, which contains general pharmacopoeia articles describing legally recommended methods of analysis. This scientometric study was aimed at comparing the trends in the development of analytical science and the level of demand for various analytical methods in pharmacopoeial practice, assessing the dynamics of the development of chromatography and the introduction of its achievements into pharmaceutical analysis.

An analysis of Russian and foreign pharmacopoeias was carried out, it was determined when the developed methods of analysis are included in the list of regulated general pharmacopoeia articles; what methods of analysis are most often recommended in pharmacopoeial articles to determine the quality and authenticity of medicines. The data obtained are compared with the dynamics of the development of various areas of analytical science. Just 70 years ago, titrimetry was the main tool for analysts, but by 2000, the share of publications on chemical methods of analysis had decreased by about 30 times. The maximum number of publications devoted to spectral methods falls on the 70s of the last century. By the turn of the century, the number of papers on chromatography increased sharply. The share of articles on electrochemical methods of analysis did not change significantly by 2000, but their structure changed towards a significant increase in publications on electrochemical sensors. By 2000, the number of papers on electrophoretic and mass spectrometry (MS) methods, especially on chromato-mass spectrometry, had increased dramatically. By 2010, high-performance liquid chromatography took the first place among all methods of analysis, which has maintained its position since then, with increasing attention being paid to the tandem of MS and HPLC. An analysis of the private Russian Pharmacopoeias, starting from the 10th edition, as well as the International, European, US and UK Pharmacopoeias showed that if we generalize the average values of the frequency of mentioning various methods of analysis in pharmacopoeial articles, then among the instrumental methods of analysis in all primary sources by 2010, most often recommended optical and spectral methods (they account for an average of 55% - 65%), chromatography is 27-32%, the rest is electrochemical methods. Approximately the same ratio in the number of publications was observed in 2000. Thus, we can conclude that the introduction of analytical developments into pharmacopoeial practice lagged behind the peak of scientific interest in the corresponding method of analysis by about a decade. In the modern State Pharmacopoeia of the IX edition, chromatography occupies a leading position in terms of the number of recommendations, and HPLC is the most popular, which logically corresponds to the nature of the analyzed objects. This method is mainly used for the determination of related impurities, quantitative determination of the active substance and authentication.

Keywords: State Pharmacopoeia, medicinal product, analysis methods, chromatography

For citation: Rudakova L.V., Terskikh A.P., Vetrova E.N., Nikitina T.N. Trends in the development of chromatographic methods and demand in pharmacopey practice. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 529-538. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11562>

Введение

Химический анализ, как известно, важнейшее средство оценки качества любой продукции, в том числе и фармацевтической, на всех этапах ее производства и на всем пути до потребителя. Система государственного контроля за качеством,

эффективностью и безопасностью лекарственных средств (ЛС) включает в себя фармацевтическую экспертизу: 1) на этапе регистрации ЛС; 2) предварительный государственный контроль качества на этапе запуска в промышленное производство или начале импорта в Российскую Федерацию; 3) выборочный госу-



дарственный контроль качества, экспертиза качества на этапе обращения. И на каждом этапе проверок выявляется 2-10% несоответствующей стандартам продукции.

Основным инструментом для проведения аналитического контроля является такой нормативный документ как Государственная фармакопея. Фармакопея переводится с греческого как «лекарство делать или изготавливать», но современная фармакопея посвящена не фармацевтической технологии, она представляет собой сборник официальных положений, устанавливающих показатели качества и законодательным образом определяющая методы аналитического контроля лекарственных средств. Фармацевтическая служба, опираясь на рекомендации Государственной Фармакопеи, должна обеспечивать фармакопейное качество – «входной билет» (по словам А.П. Арзамасцева) лекарственному препарату для его применения в медицинской практике.

Что сегодня аналитическая наука может предложить для решения задач фармацевтического контроля? Каковы были тенденции развития аналитических методов и как они на сегодняшний день соотносятся с нуждами фармацевтического анализа? Как быстро берет на вооружение фармакопейная практика научные достижения и разработки? Чтобы ответить на эти вопросы был проведен анализ ряда фармакопей, определено, когда разработанные методы анализы оказываются в списке регламентированных общих фармакопейных статей; какие методы анализа наиболее часто рекомендуются в частных фармакопейных статьях для определения тех или иных показателей качества. Полученные данные сопоставлены с динамикой развития различных направлений аналитической науки. Наукометрическими исследованиями в области аналитической химии в течение ряда лет занимались Ю.А. Золотов, Д.Б. Архипов, В.Г. Березкин, Я.И. Яшин и др. [1, 2]. Интерес к тем или иным методам

анализа и степень их проработанности оценивались в этих работах по числу публикаций в основных журналах по аналитической химии (*Analytical Chemistry*, *Журнал Аналитической Химии*), а также по числу работ, представленных на ежегодной Питсбургской конференции (PITTCON).

Всего 70 лет назад основным инструментом аналитиков была титриметрия, но уже к 2000 году доля публикаций по химическим методам анализа в «*Analytical Chemistry*» уменьшилась в 30 раз. Максимум публикаций, посвященных спектральным методам, пришлось на 70-е годы прошлого столетия. Резко увеличилось к рубежу столетий число статей по хроматографии (рис. 1). Такая же тенденция наблюдалась и для публикаций в ЖАХ. Доля статей по электрохимическим методам анализа за эти годы существенно не изменилась, однако изменилась их структура в сторону значительного увеличения публикаций по электрохимическим сенсорам. К 2000 году резко возросло число статей по электрофоретическим и масс-спектрометрическим методам (МС), особенно по хромато-масс-спектрометрии.

Анализ результатов известной Питсбургской конференции, которая ежегодно собирает ведущих ученых-аналитиков и лидеров аналитического приборостроения, показал, что уже к 2010 году первое место по публикуемым материалам среди всех методов анализа заняла высокоэффективная жидкостная хроматография, которая с той поры удерживает свои позиции, при этом все большее внимание уделяется тандему МС и ВЭЖХ. Приблизительно одинаково активно в этот период времени исследовались масс-спектрометрия (отчасти как инструмент в гибридных методах анализа), ИК- и Рамановская спектроскопии, сенсоры. Научный интерес к новым разработкам в газовой хроматографии (включая МС-ГЖХ)

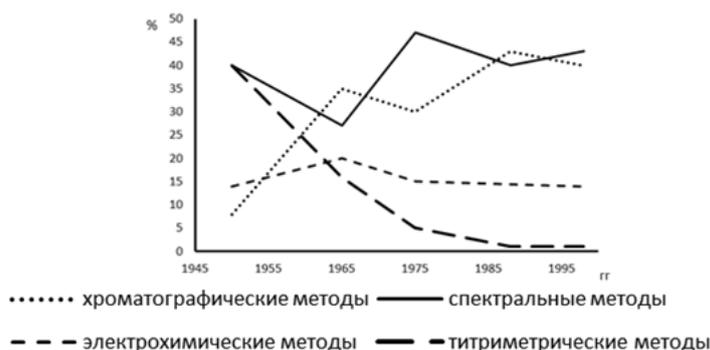


Рис. 1. Развитие аналитических методов (по публикациям в «Analytical Chemistry» за период 1950-2000 годы).

Fig. 1. Development of analytical methods (according to publications in Analytical Chemistry for the period 1950-2000).

Таблица 1. Соотношение числа публикаций, посвященных соответствующим методам анализа (по результатам Питсбургской конференции 2020 года).

Table 1. The ratio of the number of publications devoted to the relevant methods of analysis (based on the results of the Pittsburgh Conference in 2020).

Хроматография (в т.ч. хромато-масс-спектрометрия)	36.2% (10%)
Спектроскопия	25.3%
Масс-спектрометрия	12.8%
Сенсоры	9.4%
Электрохимические методы	9.2%
Микроскопия	2.1%
Элементный анализ	1.7%
Капиллярный электрофорез	2.3%
Химические методы	0.9%

постепенно снижался, приближаясь к атомной спектроскопии и электрохимии.

В следующее десятилетие по-прежнему лидируют хроматографические методы (табл.1). По результатам той же Питсбургской конференции 2020 года большинство исследований и представленных материалов посвящено методам жидкостной хроматографии [3]. Большинство химических анализов в настоящее время осуществляется хроматографическими методами, а именно с помощью ВЭЖХ. Она же привлекает основной научный интерес (табл. 2), и, в первую очередь, это гибридные методы анализа (ВЭЖХ/МС, ГХ/МС). Достаточно активный интерес проявляется к ионной, хиральной хроматографии, двумерной ВЭЖХ и ГХ. Сверхкритическая флюидная хроматография так и не получила широкого распространения, тем не

менее позволяет решать ряд задач и научные исследования в этой области продолжают. Свою постоянную отраслевую нишу занимает препаративная хроматография.

Методы спектроскопии занимают вторую позицию по числу цитирований в материалах Pittcon 2020. Основное число докладов и публикаций посвящено Рамановской спектроскопии и спектроскопия в УФ- и видимой областях (табл. 3). Появились новые направления исследования, такие как микрофлюидные системы, нанотехнологии и наноматериалы, анализы и исследования в области протеомики и метаболомики.

Другой подход к оценке перспективности научных направлений, исходя из импакт-факторов (IF) журналов, профильных для соответствующей области



Таблица 2. Соотношение числа публикаций, посвященных различным хроматографическим методам (по результатам Питсбургской конференции 2020 года).

Table 2. The ratio of the number of publications devoted to various chromatographic methods (based on the results of the Pittsburgh Conference in 2020).

ВЭЖХ	33.9%
ВЭЖХ/МС	13.6%
УВЭЖХ	4.3%
Ионная хроматография	6.4%
Хиральная хроматография	3.7%
Сверхкритическая флюидная хроматография	1.5%
Двумерная ВЭЖХ	2.4%
ГХ	16.8%
ГХ/МС	12.8%
Двумерная ГХ	4.6%

Таблица 3. Соотношение числа публикаций, посвященных различным спектральным методам (по результатам Питсбургской конференции 2020 года).

Table 3. The ratio of the number of publications devoted to various spectral methods (based on the results of the Pittsburgh Conference in 2020).

Рамановская спектроскопия	30.4%
Спектроскопия в УФ- и видимой областях	29.0%
ИК- спектроскопия	19.4%
Флуоресцентная спектроскопия	11.1%
Спектроскопия ЯМР	10.1%

аналитических исследований, был предложен Нестеренко П.Н. [4]. Критерием перспективности была принята положительная динамика роста усредненного импакт-фактора ведущих журналов, отражающая интерес специалистов к статьям, опубликованным в соответствующих профильных журналах (табл. 4).

Хроматографические методы анализа демонстрируют согласно этим данным положительную динамику роста импакт-фактора. Отрицательные показатели этого фактора для ряда методов П. Нестеренко объясняет либо высокой степенью их разработанности на настоящий момент, либо эффектом старения метода. Масс-спектрометрия переключалась в хроматографические журналы, поскольку все чаще рассматривается как способ высокочувствительного и селективного детектирования. Электрохимические методы анализа привлекли к себе внимание ученых в связи с перспективами использования новых наноматериалов

В целом, наноанализ, сенсоры, микрофлюидика в настоящее время являются самыми «модными» направлениями науки и технологии.

В научных публикациях по аналитической химии с течением времени «меняется мода» не только на методы, но и на объекты анализа. Внимание аналитиков постепенно переместилось от изучения традиционных органических и неорганических объектов к исследованию биологических, медицинских и фармацевтических объектов, одним из наиболее актуальных объектов анализа оказалась природная среда. В последнее десятилетие растет число анализов и исследований в области протеомики и метаболомики, появились нейроаналитические измерения на уровне одной клетки (рис. 2).

В соответствии с задачами развиваются и методы анализа. Например, быстро совершенствующаяся хромато-масс-спектрометрия теперь предлагает варианты масс-спектрометрии с мягкой

Таблица 4. Изменение импакт-факторов профильных журналов по направлениям аналитической химии

Table 4. Changes in the impact factors of specialized journals in the areas of analytical chemistry

Методы определения	Изменение импакт-фактора. %
Спектрометрические	0.04
Хроматографические	1.11
Планарная хроматография	-1.45
Электрофоретические	-1.47
Масс-спектрометрические	-1.24
Электрохимические	3.08
Способы осуществления анализа	
Сенсоры	8.45
Микрофлюидика. Микрочипы	4.62
Наноаналитика	6.40
Хемометрика	1.29



Рис. 2. Объекты анализа (по публикациям в «Analytical Chemistry») / Fig. 2. Objects of analysis (according to publications in "Analytical Chemistry")

ионизацией, пригодные для анализа биологических объектов. Все большее число современных публикаций посвящено хемометрике, использованию наночастиц, миниатюризации анализа, прежде всего с использованием микрофлюидных систем, микрочипов (они позволяют проводить анализ даже в клетках). Речь уже идет о конструировании микроколонок для газовой хроматографии.

Какие же методы из современного аналитического арсенала приведены в качестве рекомендованных в различных фармакопеях?

Десятая Фармакопея РФ 1968 года так же, как и аналитическая наука того времени опиралась на химический анализ, чаще всего для количественного анализа рекомендовалось неводное титрование. В

арсенале были представлены оптические и спектральные методы, хроматографические методы составляли менее 2%.

Двенадцатая Фармакопея вышла в свет в 2007 году. Доля инструментальных методов анализа в ней увеличилась более чем в два раза. Впервые была введена масс-спектрометрия, выросла востребованность хроматографических методов, ИК-спектроскопия стала основным методом идентификации лекарственных веществ.

Такую же тенденцию к 2010 году демонстрировали Международная, Европейская, Фармакопея США, Великобритания. В них появились такие методы анализа как ЯМР, магнито-резонансная спектроскопия.

Если обобщить средние значения частоты упоминания различных методов



Таблица 5. Соотношение методов, рекомендуемых для анализа Государственной Фармакопеей РФ XIV издания.

Table 5. The ratio of methods recommended for analysis by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition.

Методы анализа	Использование, %
Спектральные	29
Оптические	3
Хроматографические	36
Электрохимические	10
Химические	9
Физические	13

Таблица 6. Соотношение инструментальных методов, рекомендуемых для анализа Государственной Фармакопеей РФ XIV издания.

Table 6. The ratio of instrumental methods recommended for analysis by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition.

Методы анализа		Использование, %	
Оптические	УФ-спектрофотометрия	20	41
	ИК-спектроскопия	10	
	ААС	6	
	АЭС	2	
	Поляриметрия	3	
	Рефрактометрия	1	
Хроматографические	ВЭЖХ	24	46
	ТСХ	13	
	ГХ	9	
Электрохимические	Потенциометрия	13	13

анализа в частных фармакопейных статьях в рассмотренных Фармакопеях, то оказывается, что к 2010 году среди инструментальных методов анализа во всех первоисточниках чаще всего рекомендовались оптические и спектральные методы (на их долю приходится в среднем 55-65%), хроматография составляла 27-32%, остальное приходилось на электрохимические методы.

Если сопоставить эти данные с данными анализа публикационной активности, то довольно близкое соотношение наблюдалось примерно к 2000 году: на оптические и спектральные методы приходилось ~53% публикаций, хроматографии было посвящено ~37%, и около 10% – на электрохимические методы, включая капиллярный электрофорез.

Таким образом, можно сделать вывод, что внедрение аналитических разработок в фармакопейную практику отставало

примерно на десятилетие от пика научного интереса к соответствующему методу анализа.

Что предлагает актуальная на настоящий момент 14 Государственная Фармакопея РФ? Доля химического анализа составляет теперь меньше 10%, но исключать из арсенала фармакопейной практики этот экономичный и доступный метод, позволяющий проводить количественный анализ, не рационально (табл. 5).

Среди инструментальных методов анализа на первое место вышла хроматография (табл. 6). В целом на хроматографические методы приходится 46% статей, на оптический спектральный и неспектральный анализ – 41%, электрохимия остается на том же уровне 10-13%. Атомный спектральный анализ используется только для определения тяжёлых ме-

Таблица 7. Соотношение хроматографических методов, рекомендуемых для анализа Государственной Фармакопеей РФ XIV издания

Table 7. The ratio of chromatographic methods recommended for analysis by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition

Хроматографические методы	Использование, %
ВЭЖХ	52
ТСХ	29
ГХ	19

Таблица 8. Испытания, для которых в ГФ XIV рекомендована ВЭЖХ

Table 8. Tests for which HPLC is recommended in GF XIV

Наименование испытания	Использование, %
Определение примесей	44
Молекулярные параметры	1
Подлинность	21
Однородность дозирования	8
Компонентный состав	2
Количественное определение	22
Растворение	2

таллов, что является обязательным в анализе лекарственного растительного сырья. Спектрофотометрия в УФ и ИК диапазоне имеет более широкий спектр применения. Наиболее часто они применяются для определения подлинности и количественного определения действующего вещества. Электрохимический анализ представлен потенциометрией. Прямая потенциометрия в основном применяется для определения рН, косвенная – для количественного определения действующего вещества.

Самым применяемым методом в современной Российской Фармакопее является ВЭЖХ, что логично соответствует природе анализируемых объектов (табл. 7).

Данный метод применяется в основном для определения родственных примесей, количественного определения действующего вещества и подтверждения подлинности (табл. 8).

Тонкослойная и газовая хроматографии применяются реже, однако они также позволяют выполнять возлагаемые на них функции: в основном это также подтверждение подлинности и определение примесей (табл. 9-10).

Таким образом, можно сделать вывод, что отечественная Государственная Фармакопея берет на вооружение разработки аналитической науки, но с определенной (как минимум десятилетней) задержкой. Иногда метод попадает в общие фармакопейные статьи, когда интерес ученых к данному направлению уже начинает спадать. Это, конечно, может быть связано и с достаточной разработанностью метода, но может и с выявленной «ограниченностью потребления». В связи с чем, метод так и остается в списке общих рекомендованных статей, но не попадает ни в одну частную фармакопейную статью для анализа конкретного лекарственного препарата. Так, например, произошло со сверхкритической флюидной хроматографией.

В целом, если говорить о проблемах реализации фармацевтического контроля, то стоит отметить, что далеко не каждая лаборатория может себе позволить иметь оснащение для проведения большинства современных методов анализа. Очевидно, что большинство лабораторий не имеет возможности использовать весь арсенал аналитического парка. В лучшем случае в регионе может быть



Таблица 9. Испытания, для которых в ГФ XIV рекомендована ТСХ

Table 9. Tests for which TLC is recommended in GF XIV

Наименование испытания	Использование, %
Подлинность	52
Определение активных веществ	26
Определение примесей	22

Таблица 10. Испытания, для которых в ГФ XIV рекомендована Г

Table 10. Tests for which the GF XIV recommends G

Наименование испытания	Использование, %
Определение примесей	59
Остаточные органические растворители	29
Количественное определение	6
Подлинность	2

одна полностью укомплектованная лаборатория. Разрешить ситуацию возможно отчасти за счет выбора более экономичных альтернативных приборных баз. Второе решение – это внедрение высокорентабельных тест-методов, химических сенсоров, отказ от обязательного покомпонентного анализа в пользу обобщенных показателей качества.

К основным проблемам фармацевтической экспертизы можно отнести следующие факторы: устаревшая нормативная документация, устаревшие методики, устаревшая приборная база; внесение изменений в состав препарата без учета влияния на работоспособность методик; не валидированы новые аналитические методики; качество стандартных образцов не соответствует представленным документам; отсутствуют экспрессные тест-методы обнаружения фальсификатов.

В связи с этим фармацевтической контроль ставит перед собой основные задачи: перенос акцента с контроля готового продукта на контроль условий производства в целом; создание лабораторных комплексов в федеральных округах; организация передвижных экспресс-лабораторий; внедрение неразрушающих экспресс-методов контроля.

Список литературы

1. Яшин А.Я., Веденин А.Н., Яшин Я.И. Конференция «Питкон» в 2012-2016 гг. // Журнал аналитической химии. 2016. Т.71. С. 1-3.

Исходя из интересов и нужд отечественной фармации можно обозначить такие перспективы развития аналитической химии в области фармацевтического анализа, как расширение исследований по анализу фармацевтических объектов: дальнейшее развитие и совершенствование спектроскопических, масс-спектрометрических, хроматографических и электрохимических методов анализа, методов анализа поверхности; интенсивное развитие тест-методов и средств химического on-line анализа в технологии производства фармпрепаратов; использование достижений математики и теории информации (хеометрики) для перехода от обычного «покомпонентного» анализа к оценке обобщенных показателей; миниатюризация приборной базы фарманализа; дальнейшее развитие методов и средств дистанционного и неразрушающего анализа.

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. Яшин А.Я., Веденин А.Н., Яшин Я.И. Наукометрия материалов конференции РИТCON 2019. Методы, применения, новые направления // Лаборатория и производство. 2019. №3. С.30-32



3. Яшин Я.И., Яшин А.Я., Веденин А.Н. Наукометрия материалов конференции PITTCON 2020: методы, применения, тенденции / *Лаборатория и производство*. 2020 (13). №3-4. С.70-72

4. Нестеренко П.Н. Наукометрический взгляд на пути развития современной аналитической химии // *Лаборатория и производство*. 2020 (15). №6. С.46-53

References

1. YAshin A.YA., Vedenin A.N., YAshin YA.I. Konferenciya «Pitkon» v 2012-2016 gg. *ZHurnal analiticheskoy himii*. 2016; 71: 1-3. (In Russ.)

2. YAshin A.YA., Vedenin A.N., YAshin YA.I. Naukometriya materialov konferencii PITTCON 2019. Metody, primeneniya, novyе napravleniya. *Laboratoriya i proizvodstvo*. 2019; 3: 30-32. (In Russ.)

3. YAshin YA.I., YAshin A.YA., Vedenin A.N. Naukometriya materialov konferencii PITTCON 2020: metody, primeneniya, tendencii. *Laboratoriya i proizvodstvo*. 2020; 13(3-4): 70-72. (In Russ.)

4. Nesterenko P.N. Naukometriceskij vzglyad na puti razvitiya sovremennoj analiticheskoy himii. *Laboratoriya i proizvodstvo*. 2020; 15(6): 46-53. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Л.В. Рудакова – заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, д.х.н., Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

А.П. Терских – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.ф.н., Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Е.Н. Ветрова – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.х.н., Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Т.Н. Никитина – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.х.н., Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

L.V. Rudakova – Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Doctor of Chemical Sciences, Voronezh State Medical University named after V.I. N.N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation, e-mail: vodoley65@mail.ru

A.P. Terskikh – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Candidate of Philological Sciences, Voronezh State Medical University. N.N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation

E.N. Vetrova – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Ph.D., Voronezh State Medical University. N.N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation

T.N. Nikitina – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Ph.D., Voronezh State Medical University. N.N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation

Статья поступила в редакцию 08.06.2023; одобрена после рецензирования 28.06.2023; принята к публикации 05.07.2023.

The article was submitted 08.06.2023; approved after reviewing 28.06.2023; accepted for publication 05.07.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.183; 66.081.62

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11563

Сорбционные, диффузионные характеристики и электропроводность анионообменных мембран в растворах молочной кислоты и хлорида натрия

Ольга Анатольевна Козадерова^{1,2}

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия, kozaderova-olga@mail.ru[✉]

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. На отдельных этапах производства молочной кислоты из молочной сыворотки могут быть применены мембранные технологии, в том числе процессы с использованием ионообменных мембран. В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ сорбционных характеристик, диффузионной проницаемости и электропроводности сильноосновных анионообменных мембран с четвертичными аммониевыми группами – МА-41 (Щекиноазот, Россия) и Ralex AM(H)-PP (Мега, Чехия) - в индивидуальных водных растворах молочной кислоты и хлорида натрия в широком диапазоне концентраций. Для мембраны МА-41, имеющей более крупные частицы ионита внутри композита, в сравнении с Ralex AM(H)-PP, наблюдается более высокая необменная сорбция молочной кислоты и более высокие диффузионные потоки как молочной кислоты, так и хлорида натрия. Это может быть связано: с большей неравномерностью распределения фиксированного заряда по объему мембраны по причине меньшей степени дисперсности ионообменника и, как следствие, с меньшей площадью заряженной поверхности дисперсных частиц внутри мембраны (что приводит к менее действенному доннановскому исключению коионов из фазы мембраны); с ростом макропор на поверхности образца и уменьшением площади активной поверхности мембраны (поверхности, занятой частицами ионита). Измерена электропроводность образцов анионообменных мембран в растворах молочной кислоты и хлорида натрия. Для мембран в растворе минеральной соли с привлечением трехпроводной и микрогетерогенной модели проводимости проведен расчет вклада каналов проводимости (смешанный канал гель-раствор, гелевая фаза) в общую электропроводность системы. Наличие более широкого канала проводимости гель-раствор для Ralex AM(H)-PP в сочетании с сопоставимыми значениями доли гелевой и межгелевой фаз в образцах МА-41 и Ralex AM(H)-PP служит косвенным подтверждением влияния степени дисперсности ионита, входящего в состав гетерогенных образцов, на транспортные характеристики мембран.

Ключевые слова: молочная кислота, сильноосновная анионообменная мембрана, сорбция, необменное поглощение, диффузионная проницаемость, электропроводность.

Для цитирования: Козадерова О.А. Сорбционные, диффузионные характеристики и электропроводность анионообменных мембран в растворах молочной кислоты и хлорида натрия // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 539-546. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11563>

Original article

Sorption, diffusion characteristics and electrical conductivity of anion-exchange membranes in lactic acid and sodium chloride solutions

Olga A. Kozaderova^{1,2},

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia, kozaderova-olga@mail.ru[✉]

²Voronezh State University, Voronezh, Russia



Abstract. Membrane technologies, including processes involving ion-exchange membranes, can be used at certain stages during the production of lactic acid from whey. In this study, a comparative analysis of the sorption characteristics, diffusion permeability and electrical conductivity of strong basic anion exchange membranes with quaternary ammonium groups - MA-41 (Shchekinoazot, Russia) and Ralex AM(H)-PP (Mega, Czech Republic) in individual aqueous lactic acid and sodium chloride solutions was performed over a wide range of concentrations. For the MA-41 membrane, which has larger ion exchanger particles inside the composite, in comparison with Ralex AM(H)-PP, higher non-exchange sorption of lactic acid and higher diffusion fluxes of both lactic acid and sodium chloride were observed. This may be due to: a greater uneven distribution of a fixed charge throughout the membrane volume due to a lower degree of dispersion of the ion exchanger and, as a consequence, a smaller charged surface area of dispersed particles inside the membrane (which led to a less effective Donnan exclusion of co-ions from the membrane phase); with the growth of macropores on the surface of the sample. The electrical conductivity of samples of anion-exchange membranes in solutions of lactic acid and sodium chloride was measured. For membranes in a mineral salt solution, using a three-wire and microheterogeneous conductivity model, the contribution of conductivity channels (mixed gel-solution channel, gel phase) to the overall electrical conductivity of the system was calculated. The presence of a wider gel-solution conduction channel for Ralex AM(H)-PP in combination with comparable values of the proportion of gel and intergel phases in MA-41 and Ralex AM(H)-PP samples served as indirect confirmation of the influence of the degree of dispersion of the ion exchanger included in the composition of heterogeneous samples, on the transport characteristics of membranes.

Keywords: lactic acid, strong basic anion exchange membrane, sorption, non-exchange absorption, diffusion permeability, electrical conductivity.

For citation: Kozaderova O.A. Sorption, diffusion characteristics and electrical conductivity of anion-exchange membranes in lactic acid and sodium chloride solutions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 539-546. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11563>

Введение

Молочная кислота (2-гидроксипропионовая кислота, НЛас) применяется в разных областях промышленности. На отдельных стадиях получения молочной кислоты из молочной сыворотки могут быть использованы мембранные технологии, в том числе процессы с ионообменными мембранами [1-4]. Эффективность применения мембранных технологий зависит от селективности ионообменных мембран, их электрического сопротивления. Для получения процесса с высокой производительностью и низким энергопотреблением необходимо фундаментальное изучение явлений сорбции и транспорта ионов в ионообменных мембранах.

Цель работы – сравнительный анализ сорбционных характеристик, диффузионной проницаемости и электропроводности сильноосновных анионообменных мембран MA-41 и Ralex AM(H)-PP в растворах молочной кислоты и хлорида натрия.

Характеристики мембран MA-41 и Ralex AM(H)-PP довольно хорошо изучены в растворах минеральных солей и

некоторых минеральных и органических кислот (в основном, аминокислот) [5-7]. Что касается молочной кислоты, то можно найти работы по изучению сорбции, где в качестве сорбентов применяются цеолиты, анионообменные смолы [8, 9]. Описание процессов деминерализации растворов, содержащих молочную кислоту, методами диализа и электродиализа приведено в исследованиях [1-4] с экспериментальными анионообменными мембранами АК-70 и промышленными – MA-41 [3]; с мембранами Neosepta CMB и Neosepta АНА, (Astom Co., Ltd., Tokyo, Japan) [4]. Сравнение свойств серийно выпускаемых в промышленном масштабе гетерогенных мембран MA-41 и Ralex AM(H) можно найти в работах [10-13]: в растворах карбоновых кислот [10] и растворах минеральных солей [11-13]. Закономерности, полученные для одних ионообменных мембран, не всегда будут сохраняться в системах с аналогичными растворами, но другими мембранами. Например, мембраны разного типа (или разных производителей) могут иметь различную селективность, электропроводность, сорбционную емкость в растворах одного и того же состава. В



связи с этим при планировании применения тех или иных мембран в конкретном мембранном процессе необходимо предварительное изучение их физико-химических и электрохимических характеристик.

Экспериментальная часть

Исследуемые мембраны – МА-41 и Ralex AM(H)-PP – выпускаются предприятиями ООО ИП «Щекиноазот» [14], Россия и АО «Мега», Чехия [15] соответственно. Гетерогенные мембраны марки МА-41 получают из композиции измельченного сильноосновного анионообменника АВ-17 и порошка полиэтилена. Сформированные из полученных смесей листы прессуют с армирующей тканью сначала в течение 50 мин при 150°C и давлении 5 атм., затем в течение минуты при давлении 290 атм. [16]. В отличие от мембран МА-41 мембраны Ralex получают методом горячего вальцевания. Свойства этих мембран приведены в табл. 1. Мембраны МА-41 имеют немного меньшее значение обменной емкости и отличаются меньшим набуханием. Перед применением ионообменные мембраны проходили стандартную процедуру кондиционирования [17].

Растворы молочной кислоты заданной концентрации готовили разбавлением концентрированного раствора молочной кислоты (80% масс.). Приготовленные растворы имели рН не более 2.65. В растворах с таким рН молочная кислота находится преимущественно в молекулярной форме [18]. Растворы хлорида натрия готовили по навеске.

Таблица 1. Характеристики мембран
Table 1. Membrane characteristics

Показатель	Ralex AM(H)-PP	МА-41
Фиксированные группы	-N ⁺ (CH ₃) ₃	
Инертное связующее	Полиэтилен	
Армирующая ткань	полипропилен	капрон
Обменная емкость, ммоль/г _{сух.}	2.2±0.1	2.0±0.3
Толщина в набухом состоянии, мкм	540	520
Число переноса, %	>95	>95
Влагосодержание, %	44	36

Получение изотерм сорбции молочной кислоты мембранами в хлоридной форме проводили в статических условиях методом переменных концентраций [19]. Величину сорбции молочной кислоты (q , моль/г) находили с учетом массы навески мембраны, объема контактирующего с мембраной раствора и изменения состава раствора. Обменное поглощение оценивали по увеличению содержания хлорид-ионов в растворе, необменное поглощение – по уменьшению содержания в растворе коионов водорода, концентрацию которых определяли методом кислотно-основного титрования. Диффузионные потоки молочной кислоты или хлорида натрия (J , моль/(см²·с)) находили из эксперимента по определению диффузионной проницаемости ионообменной мембраны, проведенному согласно методике [20]. Эксперимент проводили в проточной двухкамерной ячейке, в приемную камеру изначально в режиме рецикла подавали воду [18]. Удельную электропроводность ионообменных мембран (k , Ом⁻¹ см⁻¹) рассчитывали из сопротивления образцов (R , Ом), измеренного контактно-разностным методом [21], частота переменного тока 100 кГц. Формулы для расчета этих характеристик приведены ниже:

$$q = \frac{\Delta c \cdot V}{m}; \quad (1)$$

$$J = \frac{V_w \cdot dc}{S \cdot d\tau}; \quad (2)$$

$$k = \frac{d}{R \cdot S^2} \quad (3)$$

где Δc – изменение содержания в контактирующем с мембраной растворе противоионов или коионов, моль/дм³;

V – объем контактирующего с мембраной раствора молочной кислоты, дм^3 ; m – масса навески мембраны, г; V_w – объем воды, дм^3 ; dc – изменение содержания электролита в приемной камере (моль/дм^3) за время dt , с; S – площадь мембраны, см^2 ; d – толщина мембраны, см.

Обсуждение результатов

Изотермы сорбции молочной кислоты приведены на рис. 1. Изотермы обменного поглощения имеют вид кривой насыщения. Однако полная обменная емкость мембран не достигается, и мембрана находится в смешанной форме – хлорид/лактат. Это необходимо учитывать при расчете кинетических характеристик противоионов в мембранах. Более высокие значения обменной сорбции для Ralex AM(H)-PP могут быть связаны как с ее большими полной обменной емкостью и влагосодержанием, так и определяться долей активной поверхности мембран (поверхности, занятой частицами ионита). В работе [11] было показано, что эта характеристика для Ralex AMH-Pes составляет 35-40%, в то время как для MA-41 – 15-20%. В [12] найдена доля активной поверхности гетерогенных мембран Ralex – 25-30%, что в 2 раза выше, чем у гетерогенных мембран MA-41, исследованных в этой работе. Необменное поглощение молочной кислоты изучаемыми мембранами экспоненциально растет с увеличением концентрации сорбтива. Для MA-41, в сравнении с Ralex AM(H)-PP, величина необменной сорбции молочной кислоты имеет более высокое значение. Это может быть связано как с меньшей площадью активной поверхности мембран, так и с большей неравномерностью распределения фиксированного заряда по объему образца и формированию в объеме мембраны меньшей по площади заряженной поверхности дисперсных частиц. Эти эффекты являются следствием меньшей степени дисперсности ионообменника, входящего в состав

мембраны MA-41 [22]. В результате наблюдается менее эффективное донновское исключение коионов из фазы мембраны. Кроме того, в работе [23] было показано, что гетерогенные мембраны с меньшей степенью дисперсности ионообменника характеризуются макропорами большего радиуса и площади, что также будет влиять на селективность образцов.

Концентрационная зависимость удельной электропроводности изучаемых ионообменных мембран в индивидуальных водных растворах молочной кислоты и хлорида натрия приведена на рис. 2. Мембрана Ralex имеет более высокую удельную электропроводность как в растворах NaCl, так и в растворах молочной кислоты. Это может быть следствием ее более высокой обменной емкости и влагосодержания. При увеличении концентрации внешнего раствора NaCl наблюдается рост электропроводности мембран, что связано с влиянием необменно поглощенного сильного электролита на проводимость гетерогенного образца:

$$k_i = F \sum_i z_i u_i (\bar{c}_i + \bar{c}) = 2F \sum_i z_i u_i \sqrt{(X/2)^2 + c^2}, \quad (4)$$

где F – число Фарадея; z_i – зарядовое число иона; u_i – электрическая подвижность; \bar{c}_i – концентрация противоионов; \bar{c} – концентрация коионов в мембране; X – концентрация фиксированных ионов в мембране; c – концентрация внешнего раствора электролита. Для Ralex AM(H)-PP с увеличением концентрации минеральной соли в растворе электропроводность растет менее резко, чем для MA-41. Это связывают с более однородной структурой мембран типа Ralex [10]. Для растворов молочной кислоты проводимость мембран остается относительно постоянной (рис. 2). Во всем изучаемом диапазоне концентраций внешнего раствора молочной кислоты электропроводность мембран имеет более высокое значение, чем электропроводность раствора слабого электролита. Концентрация

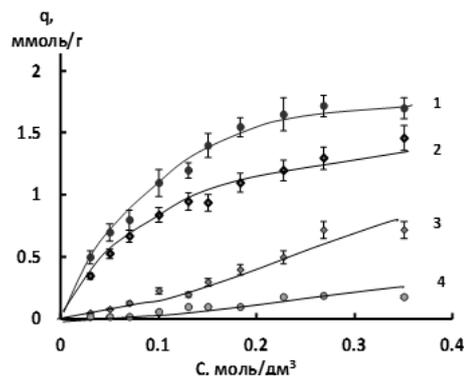


Рис. 1. Изотермы обменной (1, 2) сорбции и необменного поглощения (3, 4) молочной кислоты из индивидуальных водных растворов анионообменными мембранами Ralex AM(H)-PP (кривые 1, 4) и MA-41 (кривые 2, 3) в Cl⁻ ионной форме

Fig. 1. Isotherms of exchange (1, 2) sorption and non-exchange absorption (3, 4) of lactic acid from individual aqueous solutions by anion exchange Ralex AM(H)-PP (curves 1, 4) and MA-41 membranes (curves 2, 3) in Cl⁻ ionic form

нейтральных, необменно сорбированных HLac в мембране увеличиваются с ростом концентрации внешнего раствора молочной кислоты (рис. 1), но, в отличие от сильного электролита, молекулы слабого электролита не увеличивают электропроводность межгелевой фазы мембраны. Более того, в ряде работ [10, 24, 25] для органических кислот показана инверсия зависимости электропроводности анионообменных мембран от концентрации внешнего раствора электролита – увеличение проводимости ионообменников с уменьшением концентрации раствора. В растворах винной кислоты [24] такая зависимость связана с переходом мембраны в более проводящую двухзарядную форму тартрат-иона; в растворах аминокислот [25] – с влиянием гидролиза и появлением в мембране более подвижных водородных ионов при разбавлении раствора. Для молочной кислоты эффект роста электропроводности мембраны при разбавлении равновесного раствора не наблюдается.

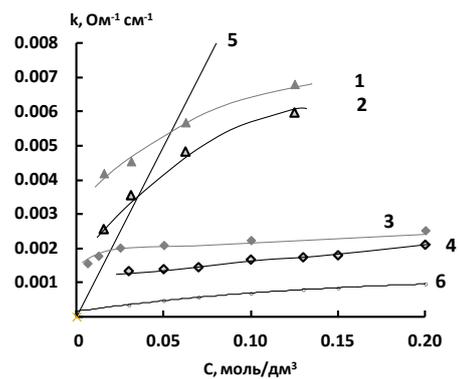


Рис. 2. Удельная электропроводность в зависимости от концентрации внешнего раствора для мембран: Ralex AM(H)-PP в растворе NaCl (1) и HLac (3), MA-41 в растворе NaCl (2) и HLac (4). Электропроводность раствора NaCl (5). Электропроводность раствора молочной кислоты (6).

Fig. 2. Specific electrical conductivity depending on the concentration of the external solution for membranes: Ralex AM(H)-PP in NaCl solution (1) and HLac (3), MA-41 in NaCl solution (2) and HLac (4). Electrical conductivity of NaCl solution (5). Electrical conductivity of lactic acid solution (6)

На рис. 3 показаны пути протекания тока в композитном образце по данным анализа концентрационной зависимости электропроводности мембран в растворе NaCl с применением комбинированной трехпроводной и микрогетерогенной модели проводимости ионообменных мембран [17, 26]. Мембраны типа Ralex характеризуются более широким каналом смешанной проводимости гель-раствор. Доли переноса тока по гелевой и межгелевой фазам в образцах MA-41 и Ralex AM(H)-PP сопоставимы. Такие значения полученных модельных параметров путей переноса тока также могут быть связаны с различной степенью дисперсности ионита, входящего в состав гетерогенных образцов.

Рассмотренные выше различные характеристики обменной и необменной сорбции, структурная организация гетерогенных мембран разных производителей проявляются и при исследовании диффузионной проницаемости образцов в растворах молочной кислоты и хлорида



Рис. 3. Параметры комбинированной трехпроводной и микрогетерогенной модели для изучаемых мембран в растворе хлорида натрия, каналы проводимости: а – гель/раствор; б – гель; с – раствор; f₁- доля гелевой фазы; f₂ – доля межгелевой фазы

Fig. 3. Parameters of the combined three-wire and microheterogeneous model for the studied membranes in a sodium chloride solution, conduction channels: a – gel/solution; b – gel; c – solution; f₁- fraction of the gel phase; f₂ – fraction of intergel phase

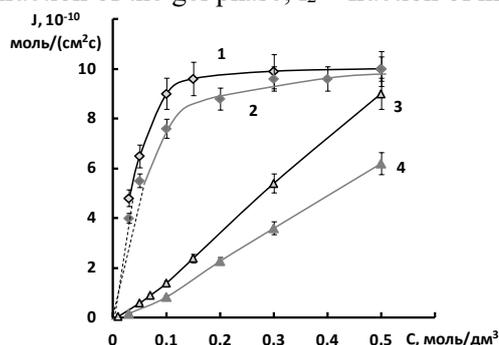


Рис. 4. Диффузионные потоки молочной кислоты (1, 2) и хлорида натрия (3, 4) для МА-41 (1, 3) и Ralex АН-РР (2, 4).

Fig. 4. Diffusion flows of lactic acid (1, 2) and sodium chloride (3, 4) for MA-41 (1, 3) and Ralex AM(H)-PP (2, 4).

натрия. На рис. 4 показаны диффузионные потоки молочной кислоты и хлорида натрия для изучаемых мембран. Потоки молочной кислоты для Ralex AM(H)-PP, и для МА-41 имеют более высокие значения, чем для NaCl: исключение из фазы «заряженной» мембраны коионов (в нашем случае катионов Na⁺) приводит к более низким потокам сильного электролита. Скорость массопереноса как молочной кислоты, так и хлорида натрия через МА-41 в 1.2-1.5 раза выше, чем через Ralex AM(H)-PP.

Заключение

В работе проведен сравнительный анализ сорбционных характеристик, удельной электропроводности и диффузионной проницаемости гетерогенных ионообменных мембран Ralex AM(H)-PP и МА-41 в индивидуальных водных растворах хлорида натрия и молочной кислоты. Обменная емкость по молочной

кислоте и электропроводность мембраны Ralex AM(H)-PP характеризуются более высокими значениями по сравнению с МА-41. Необменное поглощение органической кислоты для Ralex AM(H)-PP, напротив, выражено в меньшей степени. Пониженными являются и диффузионные потоки, причем как молочной кислоты, так и хлорида натрия. Как следствие, Ralex AM(H)-PP проявляет себя как более селективная мембрана. Особенности переноса ионов в изучаемых ионообменных мембранах и через эти мембраны для растворов органической кислоты и минеральной соли могут быть связаны с разной степенью дисперсности ионита, входящего в состав гетерогенных композитных материалов, что на наш взгляд является наиболее значимым различием для Ralex AM(H)-PP и МА-41. Полученные результаты полезны при разработке и моделировании электродиализных и диализных процессов переработки



растворов, содержащих молочную кислоту и минеральную соль.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет из-

Список литературы/References

1. Zolotareva M.S., Volodin D.N., Bessonov A.S., Topalov V.K. Elektrodializ - naibolee effektivnyi protsess demineralizatsii molochnoi syvorotki. *Molochnaya promyshlennost'*. 2015; 3: 37-39. (In Russ.)
2. Kim Y.H., Moon S.H., Lactic acid recovery from fermentation broth using one-stage electro dialysis. *J. Chem. Technol. Biotechnol.: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*. 2001; 76: 169-178. <https://doi.org/10.1002/jctb.368>
3. Kulincov P.I., Bobrinskaya G.A., Sel'emenev V.F., Garshina T.I., Agupova M.V. Povysenie effektivnosti elektrodializnoi demineralizatsii molochnoi syvorotki. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy*. 2011; 11(5): 713-716. (In Russ.)
4. Talebi S., Garthe M., Roghmans F., Chen G., Kentish S. Lactic acid and salt separation using membrane technology. *Membranes*. 2021; 11(2): 107. <https://doi.org/10.3390/membranes11020107>
5. Saud A.M., Vasil'eva V.I., Goleva E.A., Akberova E.M., Kozlov A.T. Selection of anion-exchange membrane for separation of phenylalanine and sodium chloride by neutralization dialysis. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy*. 2020; 20(6): 749-759. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2020.20/3143> (In Russ.)
6. Shutkina E.A., Nevakshenova E.E., Pismenskaya N.D., Mareev S.A., Nikonenko V.V. Diffusion permeability of the anion-exchange membranes in sodium dihydrogen phosphate solution. *Condensed Matter and Interphases*. 2015; 17(4): 566-578. (In Russ.)
7. Kharina A.Yu., Charushina O.E., Eliseeva T.V. Organic fouling of anion-exchange and bipolar membranes during the separation of amino acid and sucrose by electro dialysis. *Condensed Matter and Interphases*. 2023; 25(2): 268-276. <https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/11107>
8. Aljundi H., Belovich J., Talu O. Adsorption of lactic acid from fermentation broth and aqueous solutions on Zeolite. *Chemical Engineering Science*. 2005; 60(18): 5004-5009. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2005.04.034>
9. Evangelista R.L., Mangold A.J., Nikolov Z.L. Recovery of lactic acid by sorption. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1994; 45: 131-144. <https://doi.org/10.1007/BF02941793>
10. Melnikov S.S., Kolot D.G. Electrical conductivity of ionexchange membranes in solutions containing carboxylic acids. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. 2016; 124: 549-562. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-124-032>
11. Melnikov S.S. Development of a method for fixing perftorsulfopolimer mf-4sk on a heterogeneous membrane-substrate. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. 2017; 125: 223-234. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-125-015>
12. Vasil'eva V.I., Zhiltsova A.V., Akberova E.M., Fataeva A.I. Influence of surface inhomogeneity on current-voltage characteristics of heterogeneous ion exchange membranes. *Condensed Matter and Interphases*. 2014; 16(3): 257-261. (In Russ.)
13. Zabolotskii V.I., Bugakov V.V., Sharafan M.V., Chermit R.Kh. Transfer of electrolyte ions and water dissociation in anion-exchange membranes under intense current conditions. *Russ. J. Electrochem.* 2012; 48(6): 650-659. <https://doi.org/10.1134/S1023193512060158>
14. ООО IP Shchekinoazot. Available at: <http://www.azotom.ru/monopolyarnye-membrany> (Accessed: 12.06.2023)



15. AO MEGA. Available at: <https://www.mega.cz/membranes/> (Accessed: 12.06.2023)
16. Garshina T.I., Kozaderova O.A., Shaposhnik V.A. Fiziko-khimicheskie kharakteristiki tonkikh ionoobmennykh membran. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2007; 7(1): 148-151.
17. Kononenko N.A., Demina O.A., Loza N.V. Membrannaya elektrokimiya. Krasnodar. Izd-vo Kuban. gos. un-ta, 2017, 290 p. (In Russ.)
18. Kozaderova O.A., Kalinina S.A., Morgacheva E.A., Niftaliev S.I. Sorption characteristics and diffusion permeability of the MA-41 anion-exchange membrane in lactic acid solutions. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2021; 21(3): 317-325. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2021.21/3465> (In Russ.)
19. Selemenev V.F., Slavinskaya G.V., Khokhlov V.Yu. Praktikum po ionnomu obmenu. Voronezh, 2004, 160 p.
20. Nikonenko V.V., Vedernikova E.E., Pismenskaya N.D. Patent RF № 100275, 2010.
21. Shaposhnik, V.A., Vasil'eva V.I., Grigor'chuk O.V. Yavleniya perenosa v ionoobmennykh membranakh. Moscow, MPhTI, 2001, 200 p. (In Russ.)
22. Kozaderov O.A., Kozaderova O.A., Chernova V.Yu. Sorption characteristics and electrical conductivity of anion-exchange membranes in lactic acid solutions. *Sorbtsionnyye i Khromatograficheskie Protsessy*. 2023; 23(1): 18-27. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/10990>. (In Russ.)
23. Vasil'eva V.I., Pismenskaya N.D., Akberova E.M., Nebavskaya K.A. Effect of thermochemical treatment on the surface morphology and hydrophobicity of heterogeneous ion-exchange membranes. *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2014; 88 (8): 1293-1299. <https://doi.org/10.1134/S0036024414080317>
24. Sarapulova V., Nevakshenova E., Pismenskaya N., Dammak L., Nikonenko V. Unusual concentration dependence of ion-exchange membrane conductivity in ampholyte-containing solutions: Effect of ampholyte nature. *J. Memb. Sci.* 2015; 479: 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.01.015>
25. Kozaderova O.A., Shaposhnik V.A. Kinetic parameters of ion-exchange membrane in amino acid solutions. *Russ. J. Electrochem.* 2004; 40(7): 698-703. <https://doi.org/10.1023/B:RUEL.0000035251.04661.f7>
26. Zabolotsky V.I., Nikonenko V.V. Ion transport in membranes. M., Nauka, 1996, 392 p.

Информация об авторах / Information about the authors

О.А. Козадерова – д.х.н, профессор кафедры неорганической химии и химической технологии Воронежского государственного университета инженерных технологий, Воронеж; доцент кафедры физической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, Россия

O.A. Kozaderova – DSc in Chemistry, Professor of the Department of Inorganic Chemistry and Chemical Technology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh; Associate Professor of the Physical Chemistry Department, Department of Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, E-mail: kozaderova-olga@mail.ru

Статья поступила в редакцию 24.06.2023; одобрена после рецензирования 13.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

The article was submitted 24.06.2023; approved after reviewing 13.09.2023; accepted for publication 20.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544.943.3.068.7

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11564

Применение ТСХ для оценки профиля флавоноидов листьев облепихи крушиновидной различных фаз заготовки

Ольга Валерьевна Тринеева[✉], Наталья Александровна Ковалева,
Елена Федоровна Сафонова, Алексей Иванович Сливкин

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, trineevaov@mail.ru[✉]

Аннотация. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) – многолетний ветроопыляемый двудомный ягодный кустарник. Листья, по данным литературы, содержат флавоноиды, дубильные вещества, витамины, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты и позиционируются как источник фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолокислоты). Согласно литературным данным, листья облепихи крушиновидной содержат различные флавоноиды, извлекаемые в основном спирто-водными смесями. Так в составе комплекса флавоноидов установлены производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола (рутин, кверцитрин, мирицетин, лютеолин, витексин, нарциссин и др.). По данным авторов, ежегодный запас листьев облепихи только на Большом Кавказе составляет 3-5 т. При этом листья являются ежегодно возобновляемым побочным продуктом при заготовке основного сырья – плодов, что определяет актуальность комплексных исследований фитохимического состава листьев в рамках ресурсосберегающих технологий производства ЛРП.

Целью исследования является обоснование выбора условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной методом ТСХ и изучение их состава на различных сроках заготовки.

Основываясь на параметрах эффективности хроматографирования, по совокупности способов визуальной оценки хроматограмм и их обработки при помощи компьютерной программы «Денситометр Сорбфил» подобраны оптимальные условия разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в тонком слое сорбента: подвижная фаза этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1); проявитель – 5% спиртовый раствор алюминия хлорида при просмотре в УФ-свете; 7 мкл извлечения при использовании пластин типа ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см). Установлено наличие 18 биологически активных веществ флавоноидной природы. Установлено, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав флавоноидов не меняется. Однако, при сборе листьев одновременно с плодами, в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуальными характеристиками меньшей площадью и интенсивностью окраски, чем при заготовке их в период формирования плодов. В настоящее время исследования по обоснованию оптимальной фазы заготовки листьев с точки зрения их фитохимического состава и сохранения ценности плодов продолжаются. Тем не менее, разработанная в работе методика может быть рекомендована для включения в современную НД на облепиху крушиновидную листья любой фенологической фазы жизни растения для идентификации данного сырья по специфическому профилю флавоноидов. В дальнейших исследованиях также необходимо оценить влияние климатических условий произрастания растения, особенностей культивирования и сортового разнообразия на воспроизводимость полученного в данной работе ТСХ-профиля флавоноидов листьев.

Ключевые слова: профиль флавоноидов, листья облепихи крушиновидной, ТСХ.

Для цитирования: Тринеева О.В., Ковалева Н.А., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Применение ТСХ для оценки профиля флавоноидов листьев облепихи крушиновидной различных фаз заготовки // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 547-557. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11564>



Original article

Application of TLC for the assessment of the flavonoid profile of sea buckthorn leaves during different phases of their preparation

Olga V. Trineeva[✉], Natalya A. Kovaleva, Elena F. Safonova, Alexey I. Slivkin

Voronezh State University, Voronezh, Russia, trineevaov@mail.ru[✉]

Abstract. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) is a perennial wind-pollinated dioecious berry shrub. The leaves, according to the literature, contain flavonoids, tannins, vitamins, organic, polyunsaturated fatty acids and amino acids and are a source of phenolic compounds (flavonoids, tannins, phenolic acids). According to the literature, sea buckthorn leaves contain various flavonoids, extracted mainly by alcohol-water mixtures. Thus, the composition of the flavonoid complex contains derivatives of quercetin, isorhamnetin and kaempferol (rutin, quercitrin, myricetin, luteolin, vitexin, narcissin, etc.). According to the authors, the annual supply of sea buckthorn leaves in the Greater Caucasus is 3-5 tons. Moreover, the leaves are an annually renewable by-product obtained during the procurement of the main raw material – fruits, which determines the relevance of comprehensive studies of the phytochemical composition of leaves within the framework of resource-saving technologies for the production of herbal medicines.

The purpose of our study was to substantiate the choice of conditions for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves using TLC and investigation of their composition at different harvesting times.

Based on the parameters of chromatography efficiency, using a set of methods for visual assessment of chromatograms and their processing using the computer program “Densitometer Sorbfil”, the optimal conditions were selected for the separation of flavonoids from sea buckthorn leaves in a thin layer of sorbent: mobile phase ethyl acetate-glacial acetic acid-water (5:1: 1); developer – 5% alcohol solution of aluminium chloride when observed under UV light; 7 µl of extraction using HPTLC plates “Silica gel 60 F254” (10x15 cm). The presence of 18 biologically active substances with a flavonoid nature has been established. It has been established that when leaves are harvested from the beginning of June to the end of August (phases 1-3), the qualitative composition of pigments does not change. However, when the leaves are collected simultaneously with the fruits, in the TLC profile of the extracts, the zones of flavonoids were visually characterized by a smaller area and colour intensity than when they were harvested during the period of fruit formation. Now, research to substantiate the optimal phase of harvesting leaves from the point of view of their phytochemical composition and preserving the value of the fruit is ongoing. However, the method developed in the study can be recommended for inclusion in modern ND for sea buckthorn leaves of any phenological phase of plant life for the identification of a specific flavonoid profile of this raw material. In further studies, it is also necessary to evaluate the influence of the climatic conditions of plant growth, cultivation characteristics and varietal diversity on the reproducibility of the TLC profile of leaf flavonoids obtained in this study.

Keywords: flavonoid profile, sea buckthorn leaves, TLC.

For citation: Trineeva O.V., Kovaleva N.A., Safonova E.F., Slivkin A.I. Application of TLC for the assessment of the flavonoid profile of sea buckthorn leaves during different phases of their preparation. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2023. 23(4): 547-557. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11564>

Введение

Дикорастущие виды растений особенно привлекательны для исследователей ввиду их перспективности в производстве лекарственных растительных препаратов (ЛРП) широкого спектра действия. Как правило, они содержат сбалансированный комплекс биологически активных веществ (БАВ). Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) –

многолетний ветроопыляемый двудомный ягодный кустарник. Плоды облепихи достаточно хорошо изучены и являются фармакопейным сырьем для получения субстанции растительного происхождения – облепихового масла [1] и различных ЛРП на его основе. Другие же части растения (листья, почки, побеги, кора) активно изучаются как российскими, так и зарубежными исследователями, но в официальной медицине используются пока

ограничено. Так листья, по данным литературы, содержат флавоноиды, дубильные вещества, витамины, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты [2-4] и позиционируются как источник фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолокси кислоты). На их основе получают ЛРП противовирусного действия «Гипо-рамин», представляющий собой очищенную фракцию полифенолов – мономерных гидролизуемых галло-эллаготанинов. Кроме того, в настоящее время во всем мире ведутся активные доклинические исследования по выявлению и других видов фармакологической активности экстрактов листьев [5]. Согласно литературным данным, листья облепихи крушиновидной содержат различные флавоноиды, извлекаемые в основном спирто-водными смесями. Так в составе комплекса флавоноидов установлены производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола (рутин, кверцитрин, миритин, лютеолин, витексин, нарциссин и др.) [4, 6-9]. По данным авторов [6], ежегодный запас листьев облепихи только на Большом Кавказе составляет 3-5 т. Ресурсоведческие аспекты оценки сырьевых запасов листьев на территории РФ (в культуре и дикорастущем виде) пока в литературе не обсуждены. При этом листья являются ежегодно возобновляемым побочным продуктом при заготовке основного сырья – плодов, что определяет актуальность комплексных исследований фитохимического состава листьев в рамках ресурсосберегающих технологий производства ЛРП.

Поэтому целью нашего исследования является обоснование выбора условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной методом ТСХ и изучение их состава на различных сроках заготовки.

Экспериментальная часть

Объект исследования – собранные на территории Воронежской области и высушенные воздушно-теневым способом

до остаточной влажности не более 10% облепихи крушиновидной листья трех фенологических фаз [10] жизни растения (I – фаза завязывания плодов, II – фаза единичного созревания плодов, III – фаза массового созревания плодов) в 2022 году. Заготовку вели от дикорастущих мужских и женских растений. Для дальнейших исследований отбиралась средняя проба высушенного сырья.

Для отработки условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной извлечение получали путем экстракции сырья на водяной бане с обратным холодильником в течение 45 минут с применением 70% спирта этилового в соотношении 1:50 [11-14].

В работе были использованы следующие растворители/реактивы: алюминия хлорид шестиводный, натрия гидроксид, ледяная уксусная кислота, этилацетат марок х.ч. и ч.д.а. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия).

Качественный анализ на присутствие флавоноидов проводили методом ТСХ [15, 16]. Для хроматографирования использовали пластины марки «Silica gel 60 F254» на алюминиевой подложке (Germany) размером 20×20 см и марки «Sorbfil» (Россия, Краснодар) различных типов (ПТСХ-АФ-А-УФ; ПТСХ-АФ-В-УФ; ПТСХ-П-А-УФ, ПТСХ-П-В-УФ) размерами 10×10 и 10×15 см. Пробы наносили с помощью микрошприца МШ-10 (Россия, СПб, ЗАО «Вектон»). Хроматографирование каждой пробы проводилось не менее чем в пятикратной повторности, в работе приведены средние значения обсуждаемых величин.

В качестве элюентов были использованы наиболее часто рекомендуемые в литературе системы этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода в соотношениях (7.5:1.5:1.5) и (5:1:1) с близкими значениями полярности по Л. Снайдеру 5.31 и 5.25 соответственно [17, 18], а для идентификации полученных зон был использован УФ-свет после обработки пластин

10% спиртовым раствором NaOH и 5% спиртовым раствором алюминия хлорида.

Обсуждение результатов

Тип и размер пластин, как известно, существенным образом влияет на каче-

ство разделения зон БАВ на хроматограммах. Поэтому в работе проведена сравнительная характеристика различных пластин для ТСХ (таблица 1) на основе показателей эффективности с целью выбора наиболее предпочтительных.

Таблица 1. Параметры эффективности хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной на различных типах пластин для ТСХ (этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода в соотношениях (7.5:1.5:1.5); проявитель – 10% спиртовым раствором NaOH)

Table 1. Efficiency parameters for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves on various types of TLC plates (ethyl acetate-glacial acetic acid-water in ratios (7.5:1.5:1.5); developer – 10% alcohol solution of NaOH)

№ зоны	ПТСХ-АФ-В-УФ (10×15 см)			ПТСХ-П-А-УФ (10×10 см)			№ зоны
	$R_f \pm 0,02$	α^*	R^{**}	$R_f \pm 0,02$	α	R	
1	0.29	2.45	2.45	0.24	3.17	2.60	1
2	0.50	1.0		0.45	1.22		2
3	0.58	0.72	3.40	0.55	0.82	1.49	3
4	0.63	0.59	1.22	0.78	0.28	2.93	4
5	0.69	0.45	1.31	0.93	0.08	3.73	5
6	0.73	0.37	1.22	0.99	0.01	7.50	6
7	0.80	0.25	1.48	-			
8	0.85	0.18	1.39				
9	0.90	0.11	1.64				
10	0.94	0.06	1.72				
11	0.99	0.01	6.40				
ПТСХ-АФ-А-УФ (10×10 см)				ПТСХ-П-В-УФ (10×15 см)			
1	0.24	3.17	2.50	0.25	2.91	2.85	1
2	0.44	1.27		0.50	1.02		2
3	0.48	1.08	1.18	0.69	0.45	2.67	3
4	0.52	0.92	1.17	0.88	0.14	3.21	4
5	0.58	0.72	1.28	0.98	0.03	5.60	5
6	0.68	0.47	1.53	0.99	0.01	3.13	6
7	0.76	0.32	1.47	-			
8	0.93	0.08	4.27				
9	0.98	0.02	3.75				
ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×10 см)				ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см)			
1	0.07	13.93	3.70	0.02	44.45	3.35	1
2	0.21	3.76		0.07	13.28		2
3	0.26	2.85	1.32	0.10	9.00	1.48	3
4	0.30	2.33	1.22	0.13	6.69	1.35	4
5	0.38	1.63	1.43	0.19	4.26	1.57	5
6	0.45	1.22	1.34	0.22	3.54	1.20	6
7	0.52	0.92	1.33	0.25	3.00	1.18	7
8	0.64	0.56	1.64	0.27	2.70	1.11	8
9	0.88	0.14	4.00	0.30	2.33	1.16	9
10	0.98	0.02	7.00	0.33	2.03	1.15	10
-				0.39	1.56	1.30	11
				0.41	1.44	1.08	12
				0.44	1.27	1.13	13
				0.48	1.08	1.18	14
				0.54	0.85	1.27	15
				0.56	0.79	1.08	16
				0.65	0.54	1.46	17
				0.88	0.14	3.86	18
				0.98	0.02	7.00	19

* α – селективность разделения; **R – разрешение двух хроматографических зон [17,18].

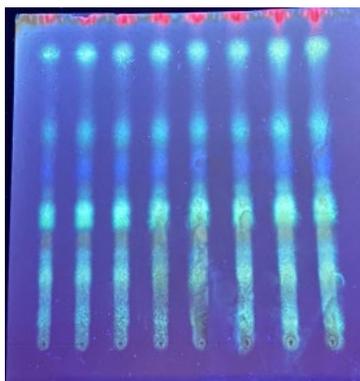


Рис. 1. Вид хроматограммы извлечений из высушенных листьев облепихи крушиновидной в УФ-свете после проявления 10% спиртовым раствором NaOH (слева направо: 2 мкл; 3 мкл; 4 мкл; 5 мкл; 6 мкл; 7 мкл; 8 мкл; 9 мкл)

Fig. 1. Chromatogram of extracts from dried sea buckthorn leaves in UV light after development with a 10% alcohol solution of NaOH (from left to right: 2 μ l; 3 μ l; 4 μ l; 5 μ l; 6 μ l; 7 μ l; 8 μ l; 9 μ l)

Предварительно установлено, что оптимальный объем пробы извлечения для всех изученных типов пластин составляет 7-10 мкл при нанесении в виде тонкой полосы длиной не более 5 мм, а не круглой зоны).

В использованных элюирующих системах наблюдается удовлетворительное разделение хроматографических зон флавоноидов на всех использованных пластинках, так как значение селективности сорбции (коэффициента разрешения двух рядом расположенных хроматографических зон), больше 1.0 (таблица 1). Однако, наибольшее количество разделяемых зон флавоноидов листьев в тонком слое удалось достичь только при использовании пластин типа ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см). Их использовали в дальнейшей работе.

На хроматограммах извлечения из листьев облепихи в УФ-свете при нанесении 7 мкл после проявления 10% спиртовым раствором NaOH или 5% спиртовым

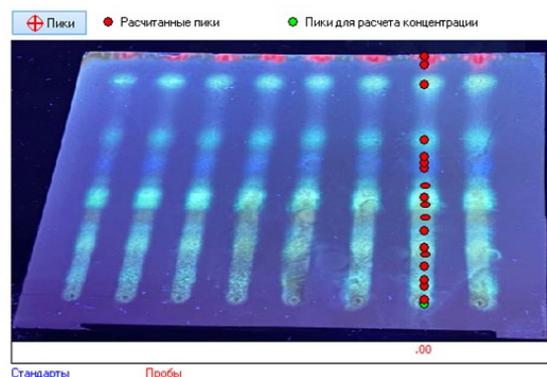


Рис. 2. Скрин данных результатов определения количества зон на треке извлечений из высушенных листьев облепихи крушиновидной в УФ-свете после проявления 10% спиртовым раствором NaOH (слева направо: 2 мкл; 3 мкл; 4 мкл; 5 мкл; 6 мкл; 7 мкл; 8 мкл; 9 мкл)

Fig. 2. Screenshot of the results of determining the number of zones on the track of extracts from dried sea buckthorn leaves in UV light after development with a 10% alcohol solution of NaOH (from left to right: 2 μ l; 3 μ l; 4 μ l; 5 μ l; 6 μ l; 7 μ l; 8 μ l; 9 μ l)

раствором алюминия хлорида наблюдали 19 зон. При сравнении величин R_f полученных хроматографических зон со стандартными образцами, были идентифицированы зоны рутина ($R_f=0.54\pm 0.02$); кверцетина ($R_f=0.78\pm 0.02$) и лютеолин-7-гликозида ($R_f=0.76\pm 0.02$). Неидентифицированные зоны предположительно относятся к флавоноидам, так как имеют характерное свечение в УФ-свете [15, 16]. Зона со значением величины $R_f=0.99\pm 0.01$ относится к хлорофилловым соединениям (зеленая окраска в видимом свете и розовая – в УФ-свете). Полученный вид хроматограммы извлечений в УФ-свете из листьев облепихи крушиновидной представлен на рис. 1.

При визуальной оценке хроматограмм с большим количеством разделяемых зон с близкими значениями величин R_f возможны ошибки, поэтому полученные результаты сравнивали с данными обработки хроматограмм компьютерной программой «Денситометр Сорбфил» (ООО

Таблица 2. Сравнение параметров эффективности хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в различных системах (ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см); проявитель – 5% спиртовой раствор алюминия хлорида) по данным программы «Денситометр Сорбфил»
 Table 2. Comparison of efficiency parameters for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves in various systems (HPTLC “Silica gel 60 F254” (10×15 cm); developer – 5% alcohol solution of aluminium chloride) according to the Sorbfil Densitometer program

Пик	этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1)					этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (7.5:1.5:1.5)					Цвет зоны в УФ-свете
	R _f ±0.02	S мкм ²	%S	H, мкм	%H	R _f	S мкм ²	%S	H, мкм	%H	
1	0.02	31700	2.8	2050	3.5	0	33850	1.8	3735	4.6	желтый
2	0.09	115800	10.2	2610	4.4	0.02	104300	5.5	4310	5.4	
3	0.19	41800	3.7	2073	3.5	0.09	217300	11.5	6250	7.8	голубовато-зеленый
4	0.24	74500	6.6	3172	5.4	0.13	84200	4.5	4811	6	
5	0.26	59200	5.2	3063	5.2	0.18	59100	3.1	3907	4.9	
6	0.32	52800	4.7	2798	4.8	0.21	94060	5	4774	5.9	
7	0.36	113850	10	3843	6.5	0.24	108750	5.8	6557	8.1	
8	0.41	79400	7	3858	6.6	0.26	139300	7.4	5831	7.2	
9	0.46	119000	10.5	5056	8.6	0.32	82400	4.4	4365	5.4	синий
10	0.50	11700	1	1307	2.2	0.36	70300	3.7	3023	3.8	
11	0.51	24000	2.1	1292	2.2	0.42	114400	6.1	6630	8.2	ярко-голубая
12	0.57	18700	1.6	952	1.6	0.45	241900	12.8	7948	9.9	
13	0.62	16700	1.5	941	1.6	0.50	60550	3.2	2693	3.3	голубовато-зеленый
14	0.71	113600	10	2861	4.9	0.58	118300	6.3	3052	3.8	
15	0.76	18300	1.6	1247	2.1	0.68	166260	8.8	3423	4.3	
16	0.78	16400	1.4	1021	1.7	0.82	19450	1	1090	1.4	
17	0.84	19400	1.7	1114	1.9	0.84	7200	0.4	1032	1.3	
18	0.90	141800	12.5	4617	7.8	0.9	135300	7.2	5438	6.8	
19	0.98	30750	2.7	3069	5.2	0.99	27700	1.5	1456	1.8	розовый
Сумма	–	1134800	–	58886	–	–	1886000	–	80464	–	–

«Имид», Краснодар), расположенной в аудитории фитониринга им. проф. М. Поппа фармацевтического факультета ВГУ. Для чего полученные хроматограммы сканировались при помощи планшетного сканера с разрешением не менее 600 dpi, а изображения обрабатывались указанным выше программным обеспечением. В результате при использовании исследуемых систем и детектирующих реагентов обнаружено также 19 зон (рис. 2-3). Расчет значений величин R_f

при помощи данной программы считается более правильным, так как центр зоны не всегда совпадает с визуальным (таблица 2).

Таким образом, разделение флавоноидов можно проводить в любой из исследованных систем. Однако, лучшей подвижной фазой с точки зрения высоты, эквивалентной теоретической тарелке, является система этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1), которая далее использована в работе и может быть

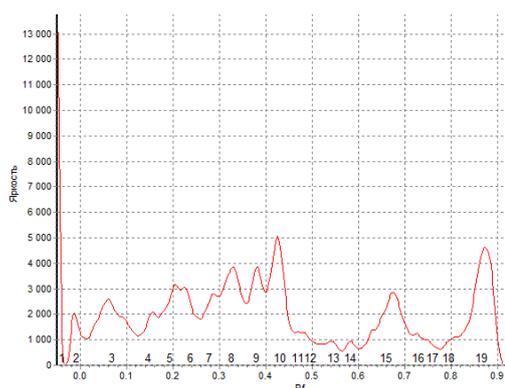


Рис. 3. Вид денситограммы трека разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной

Fig. 3. Densitogram of the track separation of flavonoids from sea buckthorn leaves

рекомендована для включения в современную нормативную документацию (НД).

Известно, что группа фенольных соединений (флавоноидов в частности) в растениях неоднородна, а их содержание вариабельно в зависимости от различных факторов внешней среды. Так, интересным представлялось изучить состав данных БАВ листьев в различные фенофазы (рис. 4) с целью научно обоснованного определения оптимального срока заготовки данного лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Полученные данные показали, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав пигментов не меняется. Однако, при сборе в период технической спелости плодов (конец августа – начало сентября – фаза 3), в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуальнo характеризуются меньшей площадью и интенсивностью окраски. Это может быть связано с тем, что флавоноиды в процессе развития растения подвергаются химиче-

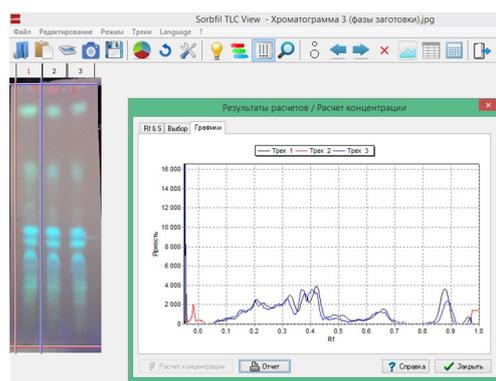


Рис. 4. Воспроизводимость величин R_f при оценке 3-х однотипных треков (трек 1 – фаза заготовки 1; трек 2 – фаза заготовки 2; трек 3 – фаза заготовки 3) на хроматограммах извлечений из листьев (скрин экрана)

Fig. 4. Reproducibility of R_f values when assessing 3 tracks of the same type (track 1 – harvesting phase 1; track 2 – harvesting phase 2; track 3 – harvesting phase 3) on chromatograms of extracts from leaves (screen shot)

ским превращениям (окисление, гидролиз), что приводит к снижению их концентрации к окончанию вегетации.

Заключение

Таким образом, основываясь на параметрах эффективности хроматографирования, по совокупности способов визуальной оценки хроматограмм и их обработки при помощи компьютерной программы «Денситометр Сорбфил» подобраны оптимальные условия разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в тонком слое сорбента. Установлено наличие 18 БАВ флавоноидной природы, а также хлорофилл [19]. Установлено, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав пигментов не меняется. Однако, при сборе листьев одновременно с плодами, в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуальнo характеризуются меньшей площадью и интенсивностью окраски, чем при заготовке их в период формирования плодов, что согласуется с опубликованными нами

ранее данными о количественном содержании суммы флавоноидов в листьях различных фаз заготовки [20]. В настоящее время исследование по обоснованию оптимальной фазы заготовки листьев с точки зрения их фитохимического состава и сохранения ценности плодов продолжаются. Тем не менее, разработанная в работе методика может быть рекомендована для включения в современную НД на облепиху крушиновидной листья любой фенологической фазы жизни растения для идентификации данного сырья по специфическому профилю флавоноидов. В дальнейших исследованиях также

необходимо оценить влияние климатических условий произрастания растения, особенностей культивирования и сортового разнообразия на воспроизводимость полученного в данной работе ТСХ-профиля флавоноидов листьев.

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

1. Михеев А.М., Деменко В.И. *Облепиха*. М.: Росагропромиздат, 1990. 48 с.
2. Хасенова А.Б., Аралбаева А.Н., Утегалиева Р.С., Маматаева А.Т., Мурзахметова М.К. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) – источник биоактивных веществ // *Вестник Алма-тинского технологического университета*. 2020. №1. С. 82-86.
3. Абдыкаликова К.А., Нечипоренко Л.П. Фитохимический состав надземной части облепихи крушиновидной // *Естественные науки*. 2008. № 4. С. 104-107.
4. Jaroszewska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2017. no 77. P. 155-162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000200155>.
5. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *J Ethnopharmacol*. 2011. No 138(2). P. 268-278. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024>.
6. Новрузов Э.Н., Мамедов З.Г., Муштафаева Л.А., Мирюсифова Х.М., Зейналова А.М. Состав и содержание флавоноидов листьев *Hippophae rhamnoides* L., произрастающих в Азербайджане // *Химия растительного сырья*. 2018. №3. С. 209-214.

<https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033772>

7. Dharam P.A., Amrit K.S., Jyoti K., Tanveer N. Pharmacognostical Characterization and Preliminary Phytochemical Investigation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Leaves // *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012. №2(2). С. 108-113. <https://doi.org/10.35652/IGJPS.2012.13>.

8. Criste A., Urcan A.C., Bunea A., Furtuna F.R.P., Olah N.K., Madden R.H. et al. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties // *Molecules*. 2020. №25(5). С. 1170. <https://doi.org/10.3390/molecules25051170>

9. Tkacz K., Wojdyło Igor A., Turkiewicz P., Nowicka P. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries, branches and leaves // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021. №103. С. 104-107. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104107>.

10. Исачкин А.В., Зубик И.Н., Потапова А.В., Ермаков М.А. Корреляционный анализ фенофаз и феноинтервалов у сортов облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) в коллекции ГБС РАН им. Н.В. Цицина // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019. №2. С. 64-69.



11. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстикова Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Академическое изд-во «Гео». 2007. 232 с.

12. Лесовая Ж.С., Писарев Д.И., Новиков О.О., Романова Т.А. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L.S.L. // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2010. №22(93). С. 145-149.

13. Дроздова И.Л., Лупилина Т.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве икотника серого // *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*. 2016. №1. С. 106-112.

14. Тринеева О.В., Рудая М.А., Перова И.Б., Сливкин А.И., Эллер К.И. Изучение профиля флавоноидов плодов облепихи крушиновидной различных сортов // *Биофармацевтический журнал*. 2021. №13(3). С. 22-29.

15. Тринеева О.В., Рудая М.А., Сливкин А.И. Исследование профиля флавоноидов плодов облепихи крушиновидной различных сортов методом тонкослойной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2020. Т. 20. № 1. С. 79-86.

16. Тринеева О.В., Сафонова И.И., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Определение флавоноидов и исследование влияния условий хранения на их содержание в плодах облепихи методом ТСХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12. № 5. С. 806-813.

17. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. М.: Мир. 1999. 405 с.

18. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Изд-во «Водолей». 2004. 528 с.

19. Тринеева О.В., Сливкин А.И. Сравнительная характеристика пигментного состава сырья и масляного экстракта

листьев крапивы двудомной. // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016. №1(14). С. 142-148.

20. Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Чувикова И.В., Сливкин А.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии. // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023. Т. 13(2). С. 216-226 <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531>

References

1. Miheev A.M., Demenko V.I. Oblepikha. M.: Rosagropromizdat, 1990. 40 p. (In Russ.)

2. Hasenova A.B., Aralbaeva A.N., Utegalieva R.S., Mamataeva A.T., Murzahmetova M.K. Oblepikha krushinovidnaja (*Hippophae rhamnoides* L.) – istochnik bioaktivnyh veshhestv. *Vestnik Almatinskogo tehnologicheskogo universiteta*. 2020; 1: 82-86. (In Russ.)

3. Abdykalikova K.A., Nechiporenko L.P. Fitohimicheskij sostav nadzemnoj chasti oble-pihi krushinovidnoj. *Estestvennye nauki*. 2008; 4: 104-107. (In Russ.)

4. Jaroszewska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2017; 77: 155-162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000200155> (In Russ.)

5. Suryakumar G., Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol*. 2011; 138(2): 268-278. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024>

6. Novruzov Je.N., Mamedov Z.G., Mustafaeva L.A., Mirjusifova H.M., Zejnalova A.M. Sostav i sodержanie flavonoidov list'ev Hippophae rhamnoides L., proizrastajushhij v Azerbajdzhane. *Himija rastitel'nogo syr'ja*. 2018; 3: 209-214.



<https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033772>
(In Russ.)

7. Dharam P.A., Amrit K.S., Jyoti K., Tanveer N. Pharmacognostical Characterization and Preliminary Phytochemical Investigation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Leaves // Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012. №2(2). pp. 108-113. <https://doi.org/10.35652/IGJPS.2012.13>.

8. Criste A., Urcan A.C., Bunea A., Furtuna F.R.P., Olah N.K., Madden R.H. et al. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties. *Molecules*. 2020; 25(5): 1170. <https://doi.org/10.3390/molecules25051170> (In Russ.)

9. Tkacz K., Wojdyło Igor A., Turkiewicz P., Nowicka P. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries, branches and leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021; 103: 104-107. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104107>

10. Isachkin A.V., Zubik I.N., Potapova A.V., Ermakov M.A. Korreljacionnyj analiz fenofaz i fenointervalov u sortov oblepihi krushinovidnoj (*Hippophae rhamnoides* L.) v kollekcii GBS RAN im. N.V. Cicina. *Vestnik Kurskoj gosudarstvennoj sel'skoho-zhajtvennoj akademii*. 2019; 2: 64-69. (In Russ.)

11. Korul'kin D.Ju., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. Prirodnye flavonoidy. Novosibirsk: Akademicheskoe izd-vo «Teo», 2007, 232 p. (In Russ.)

12. Lesovaja Zh.S., Pisarev D.I., Novikov O.O., Romanova T.A. Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave manzhetki obyknovenoj *Alchemilla vulgaris* L.S.L. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Se-rija: Medicina. Farmacija*. 2010; 22(93): 145-149. (In Russ.)

13. Drozdova I.L., Lupilina T.I. Razrabotka i validacija metodiki kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave ikotnika serogo. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik Chelovek i ego zdorov'e*. 2016; 1: 106-112. (In Russ.)

14. Trineeva O.V., Rudaja M.A., Perova I.B., Slivkin A.I., Jeller K.I. Izuchenie profilja flavonoidov plodov oblepihi krushinovidnoj razlichnyh sortov. *Biofarmaceuticheskij zhurnal*. 2021; 13(3): 22-29. (In Russ.)

15. Trineeva O.V., Rudaja M.A., Slivkin A.I. Issledovanie profilja flavonoidov plodov oblepihi krushinovidnoj razlichnyh sortov metodom tonkoslojnoj hromatografii. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2020; 20(1): 79-86.

16. Trineeva O.V., Safonova I.I., Safonova E.F., Slivkin A.I. Opredelenie flavonoidov i issledovanie vlijanija uslovij hranenija na ih sodержanie v plodah oblepihi metodom TSH. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2012; 12(5): 806-813. (In Russ.)

17. Geiss F. Osnovy tonkoslojnoj khromatografii. M., Mir, 1999, 405 p. (In Russ.)

18. Rudakov O.B., Vostrov I.A., Fedorov S.V. i dr. Sputnik khromatografista. Metody zhidkostnoi khromatografii. Voronezh: Izd-vo «Vodolei», 2004, 528 p. (In Russ.)

19. Trineeva O.V., Slivkin A.I. Sravnitel'naya kharakteristika pigmentnogo sostava syr'ya i maslyanogo ekstrakta list'ev krapivy dvudomnoi. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2016; 1(14): 142-148. (In Russ.)

20. Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Chuvikova I.V., Slivkin A.I. Development and validation of a procedure for quantitative determination of flavonoids in sea buckthorn leaves by spectrophotometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023; 13(2): 216-226 <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531> (In Russ.)



Информация об авторах / Information about the authors

О.В. Тринеева – профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, доктор фармацевтических наук, доцент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Н.А. Ковалева – преподаватель, аспирант 2-ого года обучения кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Е.Ф. Сафонова – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, кандидат химических наук, доцент, Воронежский государственный медицинский университет, Воронеж, Россия

А.И. Сливкин – доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

O.V. Trineeva – grand Ph.D (pharmacy), professor, department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Pharmaceutical Faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia. e-mail: trineevaov@mail.ru

N.A. Kovaleva – teacher, 2nd year postgraduate student of the pharmaceutical faculty, department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Pharmaceutical Faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia. e-mail: natali-sewer@yandex.ru

E.F. Safonova – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia. e-mail: safonova1962@yandex.ru

A.I. Slivkin – grand Ph.D (pharmacy), professor, manager. chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, Voronezh State University, Voronezh. e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Статья поступила в редакцию 09.04.2023; одобрена после рецензирования 15.08.2023; принята к публикации 23.08.2023.

The article was submitted 09.04.2023; approved after reviewing 15.08.2023; accepted for publication 23.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11565

Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии

Анастасия Владимировна Горбовская,
Арсений Александрович Тимичев, Алла Валерьевна Чернобровкина,
Анна Станиславовна Ужель[✉], Олег Алексеевич Шпигун

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

Аннотация. Целью работы являлось получение новых многофункциональных неподвижных фаз с повышенной гидрофильностью и их применение в режиме ионной и гидрофильной хроматографии. Сорбенты получали путем последовательного ковалентного закрепления разветвленного полиэтиленimina и полиэлектролитов, синтезированных из диэпоксида и вторичного амина, на поверхности эпоксицированного полистирол-дивинилбензола. Для увеличения степени экранирования полимерной матрицы осуществлялась дополнительная полимеризация глицидола в функциональном слое сорбента при повышенном pH реакционной среды.

Синтезированные фазы обладают повышенной гидрофильностью по сравнению с большинством сорбентов на основе сополимера стирола и дивинилбензола с ковалентно привитыми слоями. Об этом в режиме ионной хроматографии свидетельствует снижение относительного удерживания поляризуемых анионов, слабо гидратированных оксогалогенидов (вплоть до изменения порядка элюирования бромат-иона) и галогенуксусных кислот. В режиме гидрофильной хроматографии повышенная гидрофильность фаз подтверждается ростом факторов удерживания полярных аналитов, а также обращением порядка элюирования аскорбиновой и никотиновой кислот по сравнению с фазами на основе полистирол-дивинилбензола, представленными в литературе. Отмечена невысокая эффективность полученных неподвижных фаз в режиме ионной хроматографии, связанная с замедленным массопереносом в объемном полимерном функциональном слое. В режиме гидрофильной хроматографии негативное влияние полимерного слоя на эффективность проявляется меньше из-за предположительно меньшей толщины части функционального слоя, задействованного в этом режиме.

Предложенный способ синтеза сорбентов обеспечил повышение эффективности, селективности и разделяющей способности сорбентов в режиме гидрофильной хроматографии по сравнению с фазами на основе сополимера стирола и дивинилбензола, описанными ранее в литературе. Полученный высокогидрофильный сорбент позволил разделить смесь 9 азотистых оснований и нуклеозидов за 18 мин, 6 витаминов за 24 мин и 8 сахаров за 11 мин. Таким образом, предложенный в данной работе способ гидрофилизации матрицы перспективен для улучшения хроматографических характеристик фаз в гидрофильном режиме и может быть использован при создании сорбентов с повышенной селективностью и эффективностью.

Ключевые слова: сорбенты с привитым полимером, ионная хроматография, гидрофильная хроматография, гидрофилизация, полистирол-дивинилбензол, эпоксицирование.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-13-00140. Работа выполнена в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды» с использованием оборудования ЦКП МГУ «Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование», приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта «Наука» и в рамках Программы развития МГУ.

Для цитирования: Горбовская А.В., Тимичев А.А., Чернобровкина А.В., Ужель А.С., Шпигун О.А. Новые высокогидрофильные сорбенты с привитыми полимерными слоями для жидкостной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 558-569. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11565>



Original article

Novel highly hydrophilic resins with grafted polymer layers for liquid chromatography

Anastasiia V. Gorbovskaia, Arsenii A. Timichev, Alla V. Chernobrovkina,
Anna S. Uzhel[✉], Oleg A. Shpigun

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, anna_uzhel@mail.ru [✉]

Abstract: The aim of the work was to obtain novel mixed-mode stationary phases with increased hydrophilicity and to apply them in ion and hydrophilic interaction liquid chromatography modes. The resins were prepared by covalent attachment of branched polyethyleneimine and following fixation of polyelectrolytes obtained via reaction of diepoxide and secondary amine on the base of epoxidized polystyrene-divinylbenzene. Polymerization of glycidol in the functional layer of the phases was conducted at an increased pH of the reaction medium for additional shielding of the substrate.

Synthesized resins are highly hydrophilic as compared to the majority of phases based on a copolymer of styrene and divinylbenzene with covalently grafted layers. It is evidenced by a decreased relative retention of polarizable anions, weakly hydrated oxyhalides (up to changing the elution order of bromate), and haloacetic acids in ion chromatography mode. Increased hydrophilicity of the phases in hydrophilic interaction liquid chromatography mode is confirmed by the growth of polar analytes' retention factors, as well as changing the elution order of ascorbic and nicotinic acids as compared to polystyrene-divinylbenzene-based phases presented in the literature. The low efficiency of the obtained stationary phases in ion chromatography mode was noted, which is associated with slow mass transfer in the bulky polymer functional layer. The negative effect of the polymer layer on efficiency in hydrophilic interaction liquid chromatography is less pronounced due to the presumably smaller thickness of the functional layer's part involved in this mode.

Proposed synthesis method provided the increase of phase's efficiency, selectivity, and separation ability in hydrophilic interaction liquid chromatography mode in comparison with phases based on a copolymer of styrene and divinylbenzene described earlier in the literature. Obtained highly hydrophilic resin made it possible to separate mixture of 9 nitrogenous bases and nucleosides in 18 min, 6 vitamins in 24 min, and 8 sugars in 11 min. Thus, the method of hydrophilizing the substrate described in this work is promising for improving the chromatographic characteristics of phases in hydrophilic interaction liquid chromatography and can be used for creation of resins with increased selectivity and efficiency.

Key words: polymer-grafted phases, ion chromatography, hydrophilic interaction liquid chromatography, hydrophilization, polystyrene-divinylbenzene, epoxidation.

Acknowledgments: this work was supported by Russian Scientific Foundation through the grant № 20-13-00140. The work was conducted within the framework of the Development Program of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow University "The Future of the Planet and Global Environmental Changes" using the equipment of the Central Collective Use Center of Moscow State University "Technologies for Obtaining New Nanostructured Materials and Their Comprehensive Study", acquired by Moscow State University under the program for updating the instrumentation base within the framework of the national project "Science" and within the framework of the Development Program of Moscow State University.

For citation: Gorbovskaia A.V., Timichev A.A., Chernobrovkina A.V., Uzhel A.S., Shpigun O.A. Novel highly hydrophilic resins with grafted polymer layers for liquid chromatography. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 558-569 (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11565>

Введение

На сегодняшний день методы жидкостной хроматографии находят применение в фармацевтической, пищевой промышленности, клинической практике и многих других областях человеческой деятельности. Создание неподвижных фаз, которые можно было бы одновременно

использовать сразу в нескольких хроматографических режимах, может позволить сократить затраты на покупку дорогостоящий колонок. Кроме того, благодаря реализации нескольких механизмов удерживания, подобные многофункциональные сорбенты могут обеспечивать лучшую селективность при разделении сложных многокомпонентных смесей [1].

Сополимер стирола и дивинилбензола (ПС-ДВБ) со степенью сшивки 25% и более уже давно используют при создании сорбентов для ионной хроматографии (ИХ), что связано с его высокой механической устойчивостью, стабильностью во всем диапазоне рН и возможностью работы со 100% органическими растворителями [2]. Благодаря возможности реализации гидрофобных взаимодействий, сорбенты на основе такого рода матриц способны удерживать неполярные вещества, и их можно применять в обращенно-фазовом режиме [3]. С другой стороны, эти взаимодействия также приводят к размыванию пиков и значительному удерживанию полярных анионов в режиме ИХ [4] и слабому удерживанию полярных анионов в режиме гидрофильной хроматографии (ГИХ). Способы введения якорных групп, альтернативные классическим, могут привести к уменьшению гидрофобных взаимодействий анионов с матрицей. Одним из таких подходов является модифицирование по двойным связям, например, их окисление до реакционноспособных эпоксигрупп.

Известно, что повысить эффективность анионообменников на основе ароматических матриц возможно за счёт гидрофиллизации функционального слоя [4,5], а также путем ее экранирования разветвленными слоями [5] или полимерами, например, полиаминами [6, 7] или полиэлектролитами [8]. Сорбенты на основе аминированного ПС-ДВБ с привитыми полиэлектролитами, сформированными *in situ* из диэпоксида и вторичного амина, успешно применили для разделения аминокислот в режиме ГИХ с масс-спектрометрическим детектированием [9]. В работе [10] исследована возможность применения сорбентов на основе того же ПС-ДВБ с привитым полиэтиленимином (ПЭИ) как в режиме ИХ с подавлением фоновой электропроводности, так и в режиме ГИХ. Несмотря на достаточно высокую селективность таких сор-

бентов, они в значительной степени уступают в гидрофильности в режиме ГИХ фазам на основе силикагеля, а также сорбенту на основе аналогично модифицированного ПС-ДВБ с привитым гиперразветвленным слоем [11]. В статьях [12, 13] использовали полимеризацию глицидола в щелочной среде с целью получения фаз с полимерным слоем для работы в режиме ГИХ, а в [14] с помощью неё модифицировали ионообменные центры для управления селективностью коммерческих анионообменников. Интересным представляется объединение перечисленных стратегий для получения высокогидрофильного сорбента для работы в режимах ИХ с подавлением и ГИХ.

Таким образом, целью работы является получение сорбентов на основе эпоксицированного ПС-ДВБ с привитыми ПЭИ и полиэлектролитами, полученными из диэпоксида и вторичного амина, и их применение в режиме ИХ и ГИХ. Для увеличения степени экранирования предложено дополнительно полимеризовать глицидол в функциональном слое сорбента при повышенном рН реакционной среды.

Экспериментальная часть

Приборы и материалы. В качестве матрицы для синтеза сорбентов использовали ПС-ДВБ, идентичный использованному в работах [9-11, 15]: степень сшивки 50%, средний диаметр зерен 5.5 ± 0.5 мкм, площадь поверхности $650 \text{ м}^2/\text{г}$, средний объём пор $0.6 \text{ см}^3/\text{г}$ и средний диаметр пор 4 нм.

Для синтезов использовали следующие реактивы и растворители: дихлорметан (99.9%) («Acros Organics», Бельгия), соляную кислоту (х.ч), гидроксид натрия (х.ч.) («Химмед», Россия), метиламин (40%-ный раствор в метаноле) («ТСИ», Япония), этанол (ч.д.а.), метанол (ч.д.а.) («Лабтех», Россия), нитрат натрия (>99.0%) («Merck», Германия), 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (>96,0%),



триметиламин (45%-ный водный раствор), полиэтиленимин ($M_w \sim 800$), мета-хлорпербензойная кислота (77%), гидроксид калия (водный раствор 45% масс.) («Aldrich», США).

Для приготовления подвижных фаз и растворов аналитов использовали деионизованную воду и реактивы квалификации х.ч. или ч.д.а. компаний «Компонент-Реактив», «Реахим», «Химмед» и «Лабтех» (Россия), «Panreac» (Испания), «Merk» (Германия), «Aldrich» (США), TCI (Япония).

Эксперименты проводили на жидкостном хроматографе Dionex ICS-3000 (ThermoFisher Scientific, США), укомплектованном градиентным насосом, кондуктометрическим детектором, генератором элюента и электромембранным подавителем фонового сигнала; на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), состоящем из двухканального насоса высокого давления, автоматической системы ввода пробы, термостата для колонок и детектора на диодной матрице; на жидкостном хроматографе Vanquish Flex с флуоресцентным детектором FLD и диодно-матричным детектором DAD. Объем дозирующей петли составлял 25 мкл. Сбор и обработку хроматографических данных проводили с использованием программного обеспечения «Chromleon 6.8», «Chromleon 7.3» (ThermoFisher Scientific, США).

В работе использовали стальные колонки размером 100×4 мм. Для получения суспензии сорбента использовали деионизованную воду (20 см^3 на 1 г сорбента), а для упаковки колонок – 15 мМ раствор Na_2CO_3 . Введение суспензии в хроматографическую колонку, упаковку и уплотнение частиц сорбента осуществляли при давлении 400 бар при помощи насоса «Knauer K-1900» («Knauer», Германия). Тестирование колонок проводили при температуре 30°C .

Синтез сорбентов. Для получения эпоксицированной матрицы остаточные

двойные связи на поверхности ПС-ДВБ окисляли мета-хлорпербензойной кислотой. Для этого суспендировали ПС-ДВБ в дихлорметане (на 1 г ПС-ДВБ 20 см^3 дихлорметана), добавляли м-ХПБК (на 1 г ПС-ДВБ 0,0012 моль м-ХПБК). Реакционную смесь перемешивали на шейкере при 37°C в течение 19 ч. После завершения реакции продукт промывали этанолом и водой. Дальнейший синтез проводили в дистиллированной воде (20 см^3 на 1 г матрицы). Сначала осуществляли обработку полученного продукта метиламином при 80°C в течение 24 ч, после чего проводили гидролиз непрореагировавших эпокси-групп в кислой среде при 70°C в течение 2 ч, а затем алкилировали якорные аминогруппы 1,4-бутандиолдиглицидоловым эфиром при 60°C в течение 24 ч. Дальнейшую обработку ПЭИ проводили аналогично работе [7], а полиэлектролиты прививали аналогично работе [9], но при 60°C . Обработку глицидолом проводили при 80°C в течение 1 ч: сначала добавляли 100 мкл 45% раствора КОН, через 5 мин постепенно добавляли глицидол.

Обсуждение результатов

В данной работе синтезирован сорбент на основе эпоксицированного ПС-ДВБ с ковалентно привитыми ПЭИ и полиэлектролитами, сформированными из 1,4-бутандиолдиглицидолового эфира и метилэтанолamina – ЕВРЕИ-п(В-МЕА), а за счёт дополнительной полимеризации глицидола при повышенном рН реакционной среды получена фаза ЕВРЕИ-п(В-МЕА)-G1. Предполагается, что с помощью образующихся фрагментов полиглицидола возможно повысить степень экранирования матрицы.

Для оценки гидрофильности анионообменников в режиме ИХ применяли ряд селективностей, ранее использованных в работах [10, 15, 16]. По снижению $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$, $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$ и $\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$ можно

Таблица 1. Коэффициенты селективности по парам, отражающим степень гидрофилизации функционального слоя в режиме ИХ, факторы удерживания хлорида и сульфата, абсолютная эффективность по хлориду, относительные эффективности ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) и асимметрия пиков поляризуемых анионов Элюент: EBPEI-n(B-MEA) – 8 мМ KOH, EBPEI-n(B-MEA)-G1 – 4 мМ KOH, кроме элюента для сильнополяризуемых анионов: 30 мМ KOH

Table 1. Selectivity coefficients for pairs reflecting the degree of functional layer hydrophilization in IC mode, retention factors of chloride and sulfate, absolute efficiency for chloride, relative efficiencies ($N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$) and asymmetry factors for polarizable anions. Eluent: EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-G1 – 4 mM KOH, except for highly polarizable anions: 30 mM KOH

Анионообменник	EBPEI-n(B-MEA)	EBPEI-n(B-MEA)-G1		
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-)$	2.73	1.98		
$\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$	1.31	1.17		
$\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$	1.12	0.98		
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{Cl}^-)$	3.57	2.07		
$\alpha(\text{ClO}_3^-/\text{NO}_3^-)$	1.27	1.05		
$k'(\text{Cl}^-)^*$	1.3	1.7		
$k'(\text{SO}_4^{2-})^*$	4.1	8.2		
$N(\text{Cl}^-)$, тт/м	26500	20000		
Анион	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As	$N(\text{An}^-)/N(\text{Cl}^-)$	As
Br^-	0.5	1.2	1.0	0.8
NO_3^-	0.3	1.6	0.8	1.0
ClO_3^-	0.2	2.3	0.5	1.2
BF_4^-	0.11	2.1	0.13	1.7
I^-	0.14	2.3	0.26	1.4
ClO_4^-	0.09	2.5	0.10	2.2
SCN^-	0.09	2.5	0.18	1.8

*элюент: 8 мМ KOH

судить о снижении степени сшивки функционального слоя и повышении степени гидрофилизации сорбента, по уменьшению $\alpha(\text{NO}_3^-/\text{Br}^-)$ – о снижении влияния не-ионообменных взаимодействий, по снижению $\alpha(\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-)$ – о повышении степени экранирования ароматической матрицы. В режиме ИХ фаза EBPEI-n(B-MEA) характеризовалась довольно высокой гидрофильностью и степенью экранирования, о чём говорят одни из самых низких параметров (табл. 1) по сравнению со многими фазами, ранее описанными в литературе [5-7, 10]. За счёт полимеризации глицидола в функциональном слое их удалось дополнительно понизить, что привело к изменению порядка элюирования для пары $\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-$ (рис. 1а). Даже несмотря на повышение элюирующей способности гидроксид-иона при повышении гидрофильности фаза EBPEI-

n(B-MEA)-G1 характеризовалась большим $k'(\text{Cl}^-)$, что свидетельствует о росте ёмкости. Вероятно, это связано с расходом части глицидола на кватернизацию аминогрупп ПЭИ, что приводит к увеличению числа доступных ионообменных центров. Данное предположение дополнительно подтверждается значительным увеличением удерживания сульфат-иона (табл. 1).

Однако закрепление полиэлектролитов на поверхности ПЭИ ограничивает эффективность неподвижных фаз. Оба сорбента демонстрировали невысокую абсолютную эффективность по хлориду, а фаза EBPEI-n(B-MEA) также характеризовалась низкой эффективностью относительно хлорида по поляризуемым анионам и значительным размыванием их пиков (табл. 1). Низкая абсолютная

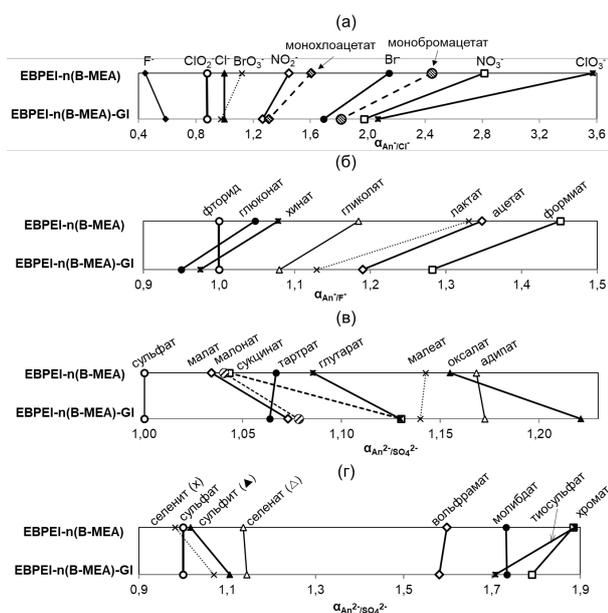


Рис. 1. Селективность по отношению к стандартным анионам, оксогоалогенидам и галогенуксусным кислотам (а), анионам одно- (б) и двухосновных (в) органических кислот и оксоанионам (г). Элюент: (а): см. табл. 1, (б): EBPEI-n(B-MEA) – 2 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 4 mM KOH; (в), (г): EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 10 mM KOH.

Fig. 1. Selectivity toward standard anions, oxohalides and haloacetic acids (a), mono- (b) and divalent (c) organic acids, and oxoanions (d). Eluent: (a): see Table 1, (b): EBPEI-n(B-MEA) – 2 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 4 mM KOH; (c), (d): EBPEI-n(B-MEA) – 8 mM KOH, EBPEI-n(B-MEA)-GI – 10 mM KOH.

эффективность может объясняться замедленным массопереносом в объемном полимерном функциональном слое полученных сорбентов. Тот факт, что полимеризация глицидола позволила повысить относительную эффективность поляризуемых анионов, свидетельствует о неравномерном закреплении полиамина и необходимости дополнительного экранирования матрицы. Таким образом, ковалентного закрепления гидрофильных полиэлектролитов на поверхности ПЭИ оказалось недостаточно для достижения высокой степени экранирования. Для сильнополяризуемых анионов наблюдалось снижение факторов удерживания на сорбенте EBPEI-n(B-MEA)-GI по сравнению с фазой EBPEI-n(B-MEA), причём наибольшее изменение отмечено для ClO_4^- (снижение на 36%). Это подтверждает сохранение влияния матрицы на

удерживание аналитов, склонных к не-ионообменным взаимодействиям, при её экранировании ПЭИ и полиэлектролитами.

Ещё одним подтверждением сравнительно высокой гидрофильности и степени экранирования полученных фаз в режиме ИХ является сниженное удержание галогенуксусных кислот по сравнению с другими ковалентно привитыми фазами на основе ПС-ДВБ. Так на сорбенте средней гидрофильности с привитым ПЭИ и полиглицидолом [15] монохлорацетат элюировался одновременно с бромидом, а монобромацетат – после хлората, в то время как на фазах, синтезированных в данной работе, указанные галогенуксусные кислоты удалось элюировать до бромидов и нитрата, соответственно (рис. 1а). Ожидается, повышенная гидрофильность полученных сорбентов привела к низкой селективности по отношению к анионам органических кислот (рис. 1б, 1в). При переходе от

Таблица 2. Параметры теста Танака. Элюент: CH₃CN – 20 мМ ацетатно-аммонийный буферный раствор с рН 4.7 (90 : 10, об. %), скорость потока 0.5 см³/мин, УФ-детектирование при 254 нм

Table 2. Tanaka tests parameters. Eluent: CH₃CN – 20 mM ammonium acetate buffer solution pH 4.7 (90 : 10, v/v), flow rate 0.5 cm³/min, UV detection at 254 nm

Сорбент	E-BPEI-n(B-MEA)	E-BPEI-n(B-MEA)-G1
k(U)	3.18	2.24
α(OH)	2.34	2.01
α(CH ₂)	1.41	1.35
α(V/A)	1.54	1.48
α(CX)	0	0
α(AX)	86.9	41.4
α(Tb/Tr)	0.22	0.35

сорбента E-BPEI-n(B-MEA) к E-BPEI-n(B-MEA)-G1 снижалось удерживание всех анионов исследуемых одноосновных органических кислот по отношению к фториду. В целом, значительных изменений не было и в селективности оксоанионов, за исключением изменения порядка элюирования пары тиосульфат/молибдат (рис. 1г). Несмотря на высокую гидрофильность данных фаз, их невысокая эффективность и селективность определили и их низкую разделяющую способность в режиме ИХ.

Для обеих фаз в режиме ГИХ провели тест Танака (табл. 2). Фаза E-BPEI-n(B-MEA) характеризовалась наибольшими гидроксильной α(OH) и метиленовой α(CH₂) селективностями из всех фаз на основе ПС-ДВБ, описанных в литературе [9-11, 15, 17, 18]. По фактору удерживания уридина k(U), позволяющему судить о гидрофильности в режиме ГИХ, данная фаза уступила только сорбенту с гиперразветвленным слоем [11]. В то же время полимеризация глицидола привела к уменьшению указанных параметров, а также к существенному снижению анионообменной селективности α(AX), несмотря на большую ёмкость в режиме ИХ. Это подтверждает повышение степени экранирования матрицы за счёт закрепления фрагментов полигдицидола.

В режиме ГИХ исследовали удерживание модельных аналитов разных классов на наиболее гидрофильной фазе E-BPEI-

n(B-MEA) и провели сравнение её характеристик с таковыми для сорбентов с привитыми ПЭИ, кватернизованным глицидолом, на основе аминированного ПС-ДВБ (BPEI-G1 x3 [10]) и эпоксицированного ПС-ДВБ (EBPEI-G1 1 [15]), а также для гиперразветвленного сорбента на основе аминированного ПС-ДВБ [11]. Факторы удерживания всех модельных веществ коррелируют с гидрофильностью k(U) фаз, описанных в работах [10,15], и расходятся с таковой для гиперразветвленной фазы [11] (k(U)=7.2). Большие факторы удерживания на колонке E-BPEI-n(B-MEA) для всех сахаров, кроме рибозы, а также аскорбиновой кислоты и рибофлавина по сравнению с фазой [11] свидетельствуют о большей гидрофилизации и лучшем экранировании гидрофобной матрицы по новой предложенной схеме. Как следствие, новая колонка характеризовалась более высокой эффективностью в режиме ГИХ среди всех рассмотренных (табл. 3). Негативное влияние полимерного слоя, связанное с замедленным массопереносом, в этом режиме проявляется меньше, что может быть связано с меньшей толщиной части функционального слоя, задействованного в режиме ГИХ по сравнению с режимом ИХ.

Фаза E-BPEI-n(B-MEA) также позволила разделить 9 азотистых оснований и нуклеозидов за 18 мин (рис. 2а), но по

Таблица 3. Эффективность и асимметрия пиков азотистых оснований и нуклеозидов, водорастворимых витаминов и сахаров для колонки EBPEI-n(B-MEA). Элюент: для азотистых оснований и нуклеозидов: CH₃CN – 20 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (90 : 10, об. %); для витаминов: CH₃CN – 100 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор с pH 3.0 (93 : 7, об. %) для никотинамида, В₆ и В₂, (70 : 30, об. %) для В₁₂, С и никотиновой кислоты; для сахаров: CH₃CN – H₂O (85 : 15, об. %)

Table 3. Efficiency and asymmetry factors for nitrogenous bases and nucleosides, water-soluble vitamins and sugars for column EBPEI-n(B-MEA). Eluent: for nitrogenous bases and nucleosides: CH₃CN – 20 mM ammonium formate buffer solution pH 3.0 (90 : 10, v/v); for vitamins: CH₃CN – 100 mM ammonium formate buffer solution pH 3.0 (93 : 7, v/v) for nicotinamide, В₆ and В₂, (70 : 30, v/v) for В₁₂, С and nicotinic acid; for sugars: CH₃CN – H₂O (85:15, v/v)

Азотистые основания и нуклеозиды			Витамины			Сахара		
Аналит	N, гт/м	As	Аналит	N, гт/м	As	Аналит	N, гт/м	As
тимин	12000	0.9	Никотинамид	8500	0.9	рибоза	11000	0.8
урацил	16500	0.8	В ₆	13500	0.8	ксилоза	3500	1.0
тимидин	12000	0.9	В ₂	9500	0.8	фруктоза	12000	0.8
2'-дезоксириндин	11000	0.8	В ₁₂	5000	1.1	глюкоза	3500	0.9
уридин	12000	0.8	С	16500	0.8	сахароза	20000	1.0
цитозин	17500	0.8	Никотиновая кислота	20000	0.7	лактоза	8000	1.0
аденин	15500	0.8	—	—	—	мальтоза	8000	1.0
аденозин	12000	0.8	—	—	—	—	—	—
ксантин	13500	0.8	—	—	—	—	—	—
цитидин	14500	0.8	—	—	—	—	—	—
гуанин	16500	0.8	—	—	—	—	—	—
гуанозин	15000	0.8	—	—	—	—	—	—

разрешению пары гуанин/цитидин уступала фазе ВРЕI-G1 x3 [10]. На новом сорбенте также наблюдали повышение удерживания более гидрофильной аскорбиновой кислоты относительно никотиновой (рис. 2б), что привело к обращению их порядка элюирования по сравнению со всеми тремя фазами на основе ПС-ДВБ [10, 11, 15]. Это является ещё одним свидетельством наилучшей гидрофилизации, обеспеченной сочетанием подходов к экранированию эпоксицированного ПС-ДВБ с помощью ПЭИ и гидрофильных полиэлектролитов. Фаза EBPEI-n(B-MEA) позволила разделить смесь 6 витаминов за 24 мин, как и сорбенты, приведённые в работах [10, 15], в то время как гиперразветвленный [11] – 7 витаминов.

На фазе EBPEI-n(B-MEA) по сравнению с сорбентами с привитым ПЭИ, кватернизованным глициолом, наблюдали рост относительного удерживания дисахаридов. Это привело к увеличению селективности по отношению к ним и одновременному элюированию мальтозы и лактозы. Благодаря высокой α(OH), сорбент EBPEI-n(B-MEA) обеспечил неполное разрешение пар фруктоза/арабиноза и манноза/глюкоза, что было невозможно ранее на сорбентах из работ [10, 11, 15]. В результате, удалось разделить смесь 8 сахаров за 11 мин при повышении температуры колонки до 50°C с использованием элюента, содержащего 20% водной фазы (рис. 2в). Таким образом, получен-

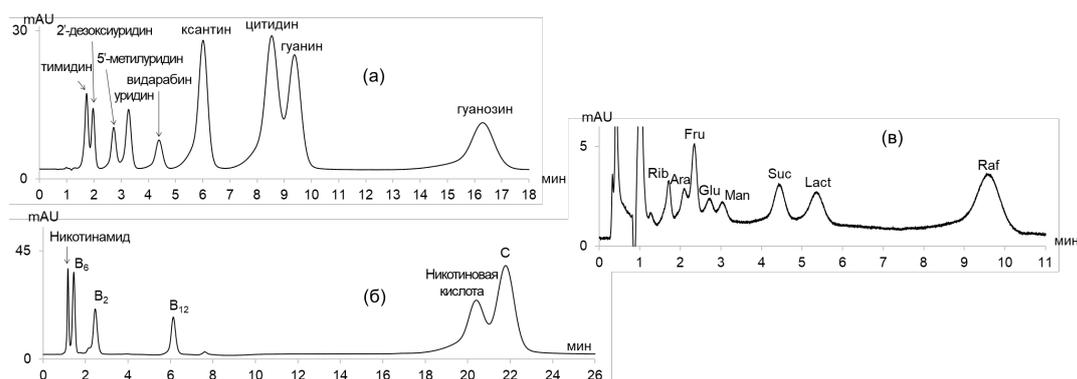


Рис. 2. Хроматограммы модельных смесей азотистых оснований и нуклеозидов (а), витаминов (б) и сахаров (в) на сорбенте ЕВРЕИ-п(В-МЕА). Условия: (а) Элюент: см. табл. 3; УФ-детектирование при 254 нм; (б): Элюент: CH_3CN – 100 мМ аммонийно-формиатный буферный раствор, pH 3.0; градиентное элюирование: 0-3 мин – 15% буферного раствора, 3-4.5 мин – 15-20% буферного раствора, 5.5-7 мин – 20-35% буферного раствора; УФ-детектирование при 270 нм; (в): CH_3CN – H_2O : (80 : 20, об. %); УФ-детектирование при 190 нм, температура колонки: 50 °С. Скорость потока: 1 $\text{cm}^3/\text{мин}$.

Fig. 2. Chromatograms of model mixtures of nitrogenous bases and nucleosides (a), vitamins (b), and sugars (c) on the resin EBPEI-p(B-MEA). Conditions: (a) Eluent: see Table 3; UV detection at 254 nm; (b): Eluent: CH_3CN – 100 mM ammonium formate buffer solution, pH 3.0; gradient elution: 0-3 min – 15% buffer solution, 3-4.5 min – 15-20% buffer solution, 5.5-7 min – 20-35% buffer solution; UV detection at 270 nm; (c): CH_3CN – H_2O : (80 : 20, v/v); UV detection at 190 nm, column temperature: 50 °C. Flow rate: 1 cm^3/min .

ный сорбент с привитым ПЭИ и гидрофильными полиэлектролитами обладает повышенными факторами удерживания большинства модельных полярных веществ и наибольшей разделяющей способностью по отношению к сахарам среди описанных в литературе многофункциональных фаз на основе ПС-ДВБ.

Заключение

Таким образом, сочетание способа модифицирования ПС-ДВБ за счёт окисления двойных связей на его поверхности и её гидрофилизации и экранирования путем прививки полиамина и гидрофильных полиэлектролитов, а также полимеризации глицидола, позволило получить высокогидрофильные сорбенты для работы в режимах ИХ с подавлением и ГИХ. В режиме ИХ синтезированные фазы характеризуются сниженным относительным удерживанием галогенуксусных кислот и оксогалогенидов в сравнении с большинством фаз на основе ПС-ДВБ с ковалентно привитым слоем. Тем

не менее, в функциональном слое, полученном за счёт прививки ПЭИ и полиэлектролитов, массоперенос был замедлен, и в результате сорбенты характеризовались низкой эффективностью в режиме ИХ. В то же время, высокая гидрофильность полученных фаз обеспечила повышение их эффективности в режиме ГИХ, а также увеличение факторов удерживания большинства модельных веществ и разделяющей способности по отношению к сахарам по сравнению с ранее описанными в литературе сорбентами на основе ПС-ДВБ. Таким образом, предложенный в данной работе способ гидрофилизации матрицы перспективен для улучшения хроматографических характеристик фаз в гидрофильном режиме и может быть использован при создании сорбентов с повышенной селективностью и эффективностью.

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

1. Wan Q.-H. Mixed-Mode Chromatography Principles, Methods, and Applications. 1 ed. Singapore, Springer. 2021. 482 p.
2. Weiss J. Handbook of ion chromatography. 4 ed. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016. 1576 p.
3. Chambers T.K., Fritz J.S. Effect of polystyrene-divinylbenzene resin sulfonation on solute retention in high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1998. Vol. 797. P. 139-147.
4. Кузнецова О.И., Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А., Татаурова О.Г. Новые анионообменники на основе сополимера стирола и дивинилбензола с гидрофильными пространственно удаленными функциональными группами // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12, № 6. С. 940-948.
5. Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y. High-capacity anion exchangers based on poly (glycidyl-methacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography // *Talanta*. 2016. Vol. 159, P. 272-279.
6. Shen Y., Geng H., Zhang F., Li Z., Yang B. A polyethyleneimine-functionalized polymer substrate polar stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2023. Vol. 1689. Article 463711.
7. Shchukina O.I., Zatirakha A.V., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Novel polymer-based anion-exchangers with covalently-bonded functional layers of quaternized polyethyleneimine for ion chromatography // *Anal. Chim. Acta*. 2017. Vol. 964, P. 187-194.
8. Zhang K., Lou C., Zhu Y., Zhi M., Zeng X., Shou D. Covalently grafted anion exchangers with linear epoxy-amine functionalities for high-performance ion chromatography // *Talanta*. 2019. Vol. 194, pp. 485-492.
9. Чикурова Н.Ю., Горбовская А.В., Ставрианиди А.Н., Фёдорова Е.С., Шемякина А.О., Буряк А.К., Ужель А.С., Чернобровкина А.В., Шпигун О.А. Новые сорбенты для определения аминокислот в почвенных экстрактах методом гидрофильной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Журн. аналит. химии*. 2023. Т. 78, № 7. С. 637-647.
10. Горбовская А.В., Попкова Е.К., Ужель А.С., Шпигун О.А., Затираха А.В. Сорбенты на основе полистирол-дивинилбензола с привитым гидрофилизованным полиэтиленимином для ионной и гидрофильной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 2023. Т. 78, № 6. С. 507-519.
11. Popov A.S., Spiridonov K.A., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Zatirakha, A.V. Prospects of using hyperbranched stationary phase based on poly(styrene-divinylbenzene) in mixed-mode chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2021. Vol. 1642, Article 462010.
12. Geng H., Wang Z., Zhang F., Li Z., Yang B. A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2022. Vol. 1670, Article 462946.
13. Geng H., Jing J., Zhang F., Zhang F., Yang B. A polar stationary phase obtained by surface-initiated polymerization of hyperbranched polyglycerol onto silica // *Talanta*. 2020. Vol. 209, Article 120525.
14. Pohl C.A. Novel method for manipulation of anion-exchange selectivity by derivatizing hydroxyl groups in the proximity of quaternary nitrogen ion-exchange sites with glycidol // *Talanta*. 2018. Vol. 177, pp. 18-25.
15. Горбовская А.В., Попкова Е.К., Ужель А.С., Шпигун О.А. Многофункциональные полимерные неподвижные фазы повышенной гидрофильности с привитым полиэтиленимином и полиглицидолом // *Журн. аналит. химии*. 2024. (В печати.)



16. Zatirakha A.V., Pohl C.A. Hybrid grafted and hyperbranched anion exchangers for ion chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2023. Vol. 1706, Article 464218.

17. Чикурова Н.Ю., Просунцова Д.С., Ставрианиди А.Н., Староверов С.М., Ананьева И.А., Смоленков А.Д., Чернобровкина А.В. Новые многофункциональные сорбенты для ВЭЖХ на основе различных матриц, модифицированных эремомицином // *Журн. аналит. химии*. 2023. Т. 78, № 5. С. 438-450.

18. Schmitt M., Egorycheva M., Frerichs D., Fiedler S., Graumann P., Seubert A. Factors affecting mixed-mode retention properties of cation-exchange stationary phases // *J. Chromatogr. A*. 2023. Vol. 1695, Article 463934.

References

1. Wan Q.-H. Mixed-Mode Chromatography Principles, Methods, and Applications. 1 ed. Singapore, Springer, 2021: 482 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-5485-5>

2. Weiss J. Handbook of ion chromatography. 4 ed. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016, 1576 p. <https://doi.org/10.1002/9783527651610>.

3. Chambers T.K., Fritz J.S., Effect of polystyrene-divinylbenzene resin sulfonation on solute retention in high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1998; 797: 139-147. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01208-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01208-9)

4. Kuznetsova O.I., Zatirakha A.V., Smolenkov A.D., Shpigun O.A., Tataurova O.G., Novel anion exchangers based on polystyrene-divinylbenzene with hydrophilic spatially distant functional groups, *Sorbtsionnye i khromatograficheskiye protsessy*, 2012; 12(6): 940-948. (In Russ.)

5. Liu J., Wang Y., Cheng H., Wang N., Wu S., Zhang P., Zhu Y., High-capacity anion exchangers based on poly (glycidyl-methacrylate-divinylbenzene) microspheres for ion chromatography, *Talanta*, 2016; 159:

272-279. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.034>

6. Shen Y., Geng H., Zhang F., Li Z., Yang B., A polyethyleneimine-functionalized polymer substrate polar stationary phase, *J. Chromatogr. A*, 2023; 1689: Article 463711. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463711>

7. Shchukina O.I., Zatirakha A.V., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Shpigun O.A., Novel polymer-based anion-exchangers with covalently-bonded functional layers of quaternized polyethyleneimine for ion chromatography, *Anal. Chim. Acta*, 2017; 964: 187-194.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.062>

8. Zhang K., Lou C., Zhu Y., Zhi M., Zeng X., Shou D., Covalently grafted anion exchangers with linear epoxy-amine functionalities for high-performance ion chromatography, *Talanta*, 2019; 194: 485-492. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.062>

9. Chikurova N.Yu., Gorbovskaia A.V., Stavrianiidi A.N., Fedorova E.S., Shemyakina A.O., Buryak A.K., Uzhel' A.S., Chernobrovkina A.V., Shpigun O.A., Novel adsorbents for the determination of amino acids in soil extracts by hydrophilic interaction liquid chromatography with mass spectrometric detection, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 922-932.

<https://doi.org/10.1134/S1061934823070043>

10. Gorbovskaia A.V., Popkova E.K., Uzhel' A.S., Shpigun O.A., Zatirakha A.V., Resins based on polystyrene-divinylbenzene with attached hydrophilized polyethyleneimine for ion and hydrophilic interaction liquid chromatography, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 748-758. <https://doi.org/10.1134/s1061934823060060>

11. Popov A.S., Spiridonov K.A., Uzhel A.S., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Zatirakha, A.V., Prospects of using hyperbranched stationary phase based on poly(styrene-divinylbenzene) in mixed-mode chromatography, *J. Chromatogr. A*, 2021; 1642: Article 462010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462010>



12. Geng H., Wang Z., Zhang F., Li Z., Yang B., A hyperbranched polyglycerol-functionalized polymer polar stationary phase, *J. Chromatogr. A*, 2022; 1670: Article 462946. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462946>
13. Geng H., Jing J., Zhang F., Zhang F., Yang B., A polar stationary phase obtained by surface-initiated polymerization of hyperbranched polyglycerol onto silica, *Talanta*, 2020; 209: Article 120525. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120525>
14. Pohl C.A., Novel method for manipulation of anion-exchange selectivity by derivatizing hydroxyl groups in the proximity of quaternary nitrogen ion-exchange sites with glycidol, *Talanta*, 2018; 177: 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.042>
15. Gorbovskaia A.V., Popkova E.K., Uzhel' A.S., Shpigun O.A., Mixed-mode highly hydrophilic polymer-based stationary phases with grafted polyethylenimine and polyglycidol, *J. Anal. Chem.*, 2024; In press.
16. Zatirakha A., Pohl C.A., Hybrid grafted and hyperbranched anion exchangers for ion chromatography, *J. Chromatogr. A*, 2023; 1706: Article 464218. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464218>
17. Chikurova N.Yu., Prosuntsova D.S., Stavrianidi A.N., Staroverov S.M., Ananieva I.A., Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Novel mixed-mode adsorbents for HPLC based on different substrates modified with eremomycin, *J. Anal. Chem.*, 2023; 78: 592-604. <https://doi.org/10.31857/S0044450223050031>
18. Schmitt M., Egorycheva M., Frerichs D., Fiedler S., Graumann P., Seubert A., Factors affecting mixed-mode retention properties of cation-exchange stationary phases, *J. Chromatogr. A*, 2023; 1695: Article 463934. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463934>

Информация об авторах / Information about the authors

А.В. Горбовская – аспирант, м.н.с. кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

А.А. Тимичев – студент кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

А.С. Ужель – к.х.н., с.н.с. кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

А.В. Чернобровкина – к.х.н., доцент, кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

О.А. Шпигун – член-корр. РАН, д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

A.V. Gorbovskaia – the postgraduate student, Junior Researcher, department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

A.A. Timichev – student, department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

A.S. Uzhel – Senior Researcher, Ph.D (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia, E-mail: anna_uzhel@mail.ru

A.V. Chernobrovkina – associate prof., Ph.D (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

O.A. Shpigun – prof., Dr. habil. (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

Статья поступила в редакцию 10.09.2023; одобрена после рецензирования 17.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

The article was submitted 10.09.2023; approved after reviewing 17.09.2023; accepted for publication 20.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11566

Определение этоксида в плазме крови человека методом микроэмульсионной жидкостной хроматографии

Андрей Владимирович Пирогов¹, Елена Борисовна Пашкова²,
Михаил Васильевич Попик¹, Олег Алексеевич Шпигун¹

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

Pirogov@analyt.chem.msu.ru

²ООО «Бион», Обнинск, Россия

Аннотация. Одним из важнейших направлений развития фармакологической науки является разработка и внедрение в клиническую практику лекарственных средств природного и синтетического происхождения. Ярким представителем отечественных цитопротекторов является яблочнокислая соль 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованная под торговым названием «Этоксидол». Он не уступает, а иногда и превосходит аналогичные препараты по своей фармакологической активности. В литературе найдена только одна работа, посвященная определению этоксида в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии. Для его определения в плазме крови чувствительность недостаточна. Необходимо было разработать более чувствительный и селективный способ.

Микроэмульсии часто используют в вариантах капиллярной электрокинетической хроматографии или пробоподготовке, но метод микроэмульсионной жидкостной хроматографии (МЭЖХ) столь широкого распространения не получил. Метод обладает определенными преимуществами перед ВЭЖХ. В данной работе осуществлено определение этоксида в плазме крови методом высокоэффективной микроэмульсионной хроматографии с флуориметрическим детектированием. К 300 мм³ плазмы добавляли 300 мм³ микроэмульсии и тщательно перемешивали для осаждения белков плазмы. Добавление микроэмульсии позволяет предотвратить соосаждение этоксида вместе с белками. Надосадочную жидкость отбирали и вводили в хроматограф. Степень извлечения контролировали хроматографически путем добавок известного количества этоксида в экстракт из холостой плазмы.

В мицеллярной среде вещества могут сольватироваться иначе, чем в водно-метанольных/ацетонитрильных растворах. Изменения в спектральных характеристиках веществ вызваны наличием в составе микроэмульсии масла, внедрение веществ в каплю которого приводит к спектральному сдвигу. При определении этоксида выбраны длины волн возбуждения и детектирования λ_{ex} 287 нм и λ_{em} 399 нм соответственно. Следует отдельно подчеркнуть, что микроэмульсия дополнительно позволяет стабилизировать определяемые компоненты. Так, в случае определения этоксида в плазме крови стандартные способы пробоподготовки (жидкостная и твердофазная экстракция, осаждение белков органическими растворителями, кислотами, ионами металлов) не привели к необходимому результату. В случае разбавления образца микроэмульсией извлечение было количественным.

Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций 0.1-10 мг/дм³. График описывается линейным уравнением $S=23.97C-1.257$. Коэффициент корреляции $R^2=0.998$. Предел обнаружения 50 мкг/дм³. Относительное стандартное отклонение $S(r)$ составляет 0.08 ($n=3$). Таким образом, предложен новый хроматографический метод определения этоксида в плазме крови человека. Показано, что использование микроэмульсии в качестве элюента приводит к стабилизации препарата в растворах и значительному увеличению извлечения этоксида из реальных образцов.

Ключевые слова: этоксидол, микроэмульсионная жидкостная хроматография

Благодарности: исследование проводилось с использованием оборудования ЦКП МГУ «Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование», приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта «Наука» и в рамках Программы развития МГУ.

Для цитирования: Пирогов А.В., Пашкова Е.Б., Попик М.В., Шпигун О.А. Определение этоксида в плазме крови человека методом микроэмульсионной жидкостной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 570-577. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11566>



Original article

Determination of ethoxidol in human plasma by microemulsion liquid chromatography

Andrey V. Pirogov^{✉1}, Elena B. Pashkova²,
Mikhail V. Popik¹, Oleg A. Shpigun¹

¹M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, Pirogov@analyt.chem.msu.ru[✉]

²ООО "Bion", Obninsk, Russia

Abstract. One of the most important directions of the development of pharmacological science is the development and introduction into clinical practice of medicines of natural and synthetic origin. A striking representative of domestic cytoprotectors is malic acid salt.

3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine, patented under the trade name "Ethoxidol". It is not inferior, and sometimes surpasses similar drugs in its pharmacological activity. Only one work has been found in the literature devoted to the determination of ethoxidol in medicinal preparations by voltammetry. Sensitivity is not sufficient for its determination in blood plasma. It was necessary to develop a more sensitive and selective method. Microemulsions are often used in variants of capillary electrokinetic chromatography or sample preparation, but the method of microemulsion liquid chromatography (MLC) has not been so widely used. The method has certain advantages over HPLC. In this work, the determination of ethoxidol in blood plasma was carried out by high-performance microemulsion chromatography with fluorimetric detection. 300 mm³ microemulsions were added to 300 mm³ of plasma and thoroughly mixed to precipitate plasma proteins. The addition of microemulsion prevents the co-deposition of ethoxidol together with proteins. The filler fluid was taken and injected into a chromatograph. The degree of extraction was controlled chromatographically by adding a known amount of ethoxidol to the extract from the blank plasma.

In a micellar medium, substances can be solvated differently than in aqueous methanol/acetonitrile solutions. Changes in the spectral characteristics of substances are caused by the presence of oil in the composition of the microemulsion, the introduction of substances into a drop of which leads to a spectral shift. When determining ethoxidol, the excitation and detection wavelengths of λ_{ex} 287 nm and λ_{em} 399 nm, respectively, were selected. It should be emphasized separately that the microemulsion additionally allows you to stabilize the components being determined. Thus, in the case of determination of ethoxidol in blood plasma, standard methods of sample preparation (liquid and solid-phase extraction, precipitation of proteins with organic solvents, acids, metal ions) did not lead to the desired result. In the case of dilution of the sample with microemulsion, the extraction was quantitative.

The calibration dependence was linear in the concentration range 0.1-10 mg/dm³. The graph is described by the linear equation $S=23.97C-1.257$. The correlation coefficient $R^2=0.998$. The detection limit is 50 micrograms/dm³. The relative standard deviation of $S(r)$ is 0.08 ($n=3$). Thus, a new chromatographic method for determining ethoxidol in human blood plasma is proposed. It is shown that the use of microemulsion as an eluent leads to the stabilization of the drug in solutions and a significant increase in the extraction of ethoxidol from real samples.

Keywords: ethoxidol, microemulsion liquid chromatography.

Acknowledgments: the research was carried out using the equipment of the MSU Central Research Center "Technologies for the production of new nanostructured materials and their comprehensive study", acquired by MSU under the instrument base upgrade program within the framework of the national project "Science" and within the framework of the MSU Development Program.

For citation: Pirogov A.V., Pashkova E.B., Popik M.V., Shpigun O.A. Determination of ethoxidol in human plasma by microemulsion liquid chromatography. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 570-577. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11566>

Введение

Одним из важнейших направлений развития фармакологической науки явля-

ется разработка и внедрение в клиническую практику лекарственных средств природного и синтетического происхождения. Перспективными являются так

называемые «препараты метаболического типа действия». Эта группа объединяет средства, способные нормализовать энергетический обмен в клетках, регулировать кислотно-щелочное равновесие, а также контролировать процессы перекисного окисления липидов. Основным итогом такого фармакологического воздействия оказывается универсальная цитопротекция, позволяющая уменьшить размер и степень повреждения тканей различных органов.

Ярким представителем данной группы лекарственных средств является яблочнокислая соль 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованная под названием «Этоксидол» (рис. 1). Перспективной областью применения этого препарата является кардиология, доказана его антиишемическая и антиаритмическая активность, способность снижать токсичность противоритмических средств, а также выявлены стресс-протекторные свойства. Этоксидол не уступает, а иногда и превосходит аналогичные препараты по своей фармакологической активности.

В литературе найдено только одна работа, посвященная определению этоксида в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии [1]. Предел обнаружения составил 1.9 мМ (около 270 мг/дм³). Для определения этоксида в плазме крови необходимо было разработать более чувствительный и селективный способ.

Использовать микроэмульсии в качестве подвижной фазы для жидкостной хроматографии было предложено в 1992 году [2]. Микроэмульсии часто используют в вариантах капиллярной электро-

кинетической хроматографии или пробоподготовке [3-6], но метод микроэмульсионной жидкостной хроматографии (МЭЖХ) столь широкого распространения не получил. Метод обладает определенными преимуществами перед ВЭЖХ [7-9]. В данной работе осуществлено определение этоксида в плазме крови методом высокоэффективной микроэмульсионной хроматографии с флуориметрическим детектированием.

Экспериментальная часть

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Vanquish Flex (Thermo Scientific, США) с флуоресцентным детектором (λ_{ex} 297 нм, λ_{em} 399 нм). Спектры поглощения и флуоресценции этоксида в среде микроэмульсии приведены на рис. 1. Колонка Phenomenex Gemini, 250x4.6 мм. Температура элюента 40°C. Элюирование проводили в изократическом режиме микроэмульсией следующего состава: 3.3% додецилсульфата натрия (ДДСН), 0.8% *n*-гептана, 8% *n*-бутанола. Скорость потока подвижной фазы 0.5 см³/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл.

К 300 мм³ плазмы добавляли 300 мм³ микроэмульсии и тщательно перемешивали для осаждения белков плазмы. Добавление микроэмульсии позволяет предотвратить соосаждение этоксида вместе с белками. Смесь центрифугировали в течение 5 минут при 16000 об/мин. Надосадочную жидкость отбирали и вводили в хроматограф. Степень извлечения контролировали хроматографически путем добавок известного количества этоксида в экстракт из бланковой плазмы.

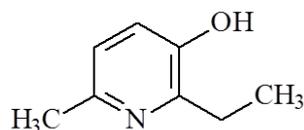


Рис. 1. Химическая формула этоксида.
Fig. 1. Chemical formula of ethoxidol.

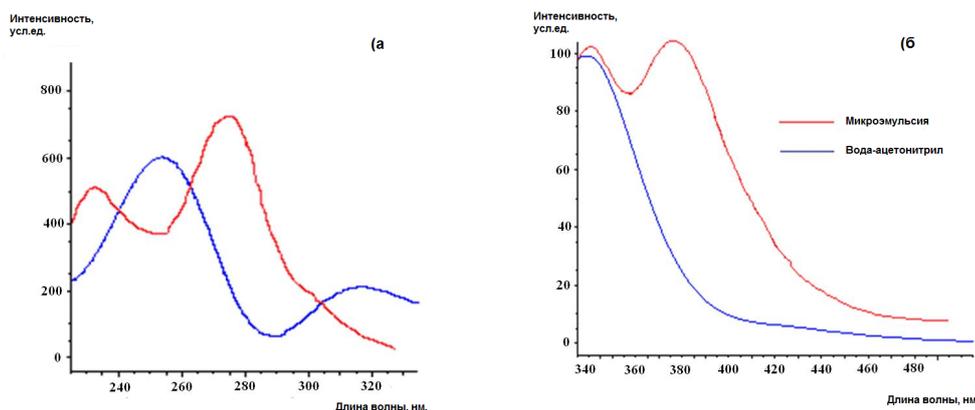


Рис.2. Спектры флуоресценции этоксида в различных средах.
Концентрация этоксида 50 мг/дм³.

Fig. 2. Fluorescence spectra of ethoxidol in various media.
The concentration of ethoxidol is 50 mg/dm³.

В работе использовали следующие реактивы: додецилсульфат натрия (Panreac, Испания), *n*-бутанол (Panreac, Испания), *n*-гептан (Panreac, Испания). Этоксидол (>99%) предоставлен ООО «Бион» (Россия). Для приготовления микроэмульсий навеску додецилсульфата натрия (ДДСН) растворяли в точно измеренном количестве дистиллированной воды на ультразвуковой бане. К раствору добавляли необходимое количество гептана и снова перемешивали на ультразвуковой бане около 2 минут. К смеси добавляли *n*-бутанол и выдерживали на ультразвуковой бане при 45°C до образования микроэмульсии (примерно 1 минута). Для приготовления стандартных растворов навеску вещества помещали в колбу объемом 25 см³, добавляли туда 20 см³ микроэмульсии, перемешивали на ультразвуковой бане до полного растворения, объем доводили до метки микроэмульсией и еще раз тщательно перемешивали. Полученные растворы хранили при 4°C в течение месяца. Разбавленные растворы, вносимые в плазму для получения градуировочных образцов, готовили ежедневно.

Обсуждение результатов

В мицеллярной среде вещества могут сольватироваться иначе, чем в водно-метанольных/ацетонитрильных растворах.

Изменения в спектральных характеристиках веществ вызваны наличием в составе микроэмульсии масла, внедрение веществ в каплю которого приводит к спектральному сдвигу. При изучении флуоресцентных свойств ряда веществ в водно-органических и микроэмульсионных средах нами было установлено [8,9], что при помещении вещества в микроэмульсионную среду интенсивность флуоресценции увеличивается и максимум в спектре флуоресценции может сдвигаться на величину вплоть до нескольких десятков нанометров (рис. 2). Если изначально в спектре было несколько максимумов, то их соотношение может измениться и часто максимум, лежащий в коротковолновой области, пропадает. При изменении концентрации масла в составе микроэмульсии спектры поглощения и флуоресценции существенно не изменяются. При выборе длин волн детектирования необходимо учитывать уровень фонового сигнала. При определении этоксида нами выбраны длины волн возбуждения и детектирования λ_{ex} 287 нм и λ_{em} 399 нм соответственно. В этих условиях достигнут предел обнаружения 50 мкг/дм³. Для сравнения, предел обнаружения при λ_{ex} 287 нм и λ_{em} 345 нм составляет 200 мкг/дм³. Это дает возмож-

Таблица 1. Степень извлечения этоксида из плазмы крови человека при различных вариантах пробоподготовки. Степень извлечения рассчитана по методу «введено-найдено» ($n=3$, $P=0.05$)

Table 1. The degree of extraction of ethoxidol from human blood plasma in various sample preparation options. The degree of extraction is calculated by the method "entered-found" ($n=3$, $P=0.05$)

	Способ пробоподготовки	Степень извлечения, %
1	Осаждение белков (Cu^{2+} , Zn^{2+} , органические растворители, неорганические кислоты)	0
3	Осаждение метанолом или ацетонитрилом в соотношении 1:10	0
4	Разбавление образца микроэмульсией в соотношении 1:10	100±2
5	*Разбавление образца микроэмульсией в соотношении 1:2 с последующим осаждением белков Cu^{2+} (0.1 M)	95±3

*По сравнению со схемой 4, уровень фонового сигнала на хроматограмме был в 5 раз выше.

«0» – этоксидол не обнаружен в растворе.

ность во многих случаях избежать сложной и длительной процедуры пробоподготовки, либо упростить ее. Это в свою очередь позволяет ускорить анализ и избежать погрешностей анализа, неизбежно возникающих на стадии пробоподготовки.

Пробоподготовка биологических образцов путем разбавления их микроэмульсией имеет ряд дополнительных преимуществ. Белки пробы успешно осаждаются, все оставшиеся в растворе компоненты пробы вводятся в прибор, что, как было указано выше, позволяет избежать потерь, неизбежных на стадии пробоподготовки. Следует отдельно подчеркнуть, что микроэмульсия может дополнительно стабилизировать определяемые компоненты. Так, в случае определения этоксида в плазме крови стандартные способы пробоподготовки (жидкостная и твердофазная экстракция, осаждение белков органическими растворителями, кислотами, ионами металлов) не привели к необходимому результату. Этоксидол в образце после пробоподготовки обнаружить не удалось. Тем не менее, в случае разбавления образца микроэмульсией извлечение было количественным (табл. 1). Хроматограмма образца плазмы крови, содержащей этоксидол, представлена на рис. 3.

Было высказано предположение, что этоксидол при обычных способах осаждения белков сорбируется на них. Для проверки этой гипотезы модельный раствор этоксида с концентрацией 10 мг/дм³ добавляли к образцу цельной крови и проводили осаждение матричных компонентов. Уже через 5 минут концентрация определяемого соединения в надосадочной жидкости (плазме) упала ниже предела обнаружения. В случае внесения этоксида в кровь и осаждении микроэмульсией, его концентрация оставалась постоянной в плазме в течение как минимум 15 минут (рис. 4). Это позволяет сделать вывод, что микроэмульсия в данном случае выполняет стабилизирующую функцию, предотвращая соосаждение/метаболизм этоксида.

Количественное определение проводили методом добавок. Калибровочную кривую получали в результате анализа проб плазмы с добавлением известных количеств этоксида. Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций 0.1-10 мг/дм³. График описывается линейным уравнением $S=23.97C-1.257$. Коэффициент корреляции $R^2=0.998$. Предел

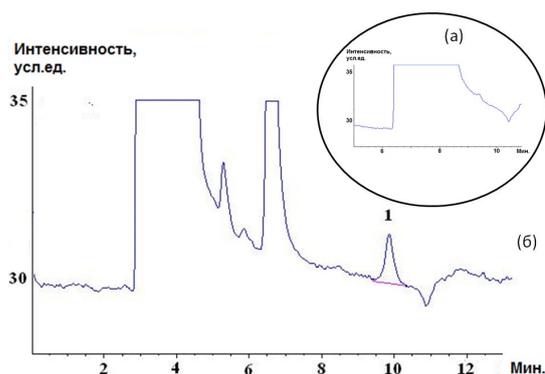


Рис. 3. Хроматограммы плазмы крови человека. а – чистая плазма (холостой опыт), б – плазма, содержащая 1 мг/дм³ этоксида (Пик 1 – этоксидол). Колонка: Gemini C18 250×4.6 мм. Элюент: 3.3% ДДСН, 0.8% *n*-гептан, 8% *n*-бутанол. Флуориметрическое детектирование при, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 287/399 нм.

Fig. 3. Chromatograms of human blood plasma. а – pure plasma (idle experiment), б – plasma containing 1 mg/dm³ of ethoxidol (Peak 1 – ethoxidol). Column: Gemini C18 250×4.6 mm. Eluent: 3.3% DDSN, 0.8% *n*-heptane, 8% *n*-butanol. Fluorimetric detection at, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 287/399 nm.

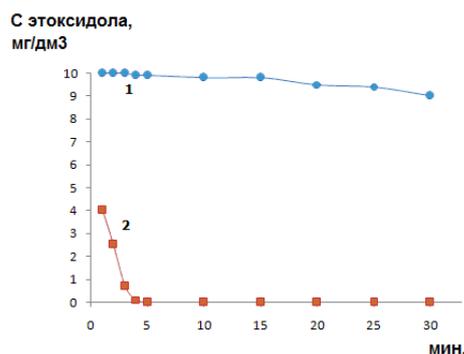


Рис. 4. Стабильность этоксида в плазме крови (полученный аналитический сигнал на хроматограмме) через время введения добавки этоксида цельную кровь.

1 – плазма, осажденная микроэмульсией (соотношение плазма:МЭ = 1:10), 2 – плазма, осажденная метанолом (соотношение плазма:метанол = 1:10). Концентрация введенного этоксида 10 мг/дм³.

Fig. 4. Stability of ethoxidol in blood plasma (the obtained analytical signal on the chromatogram) after the time of administration of ethoxidol to whole blood. 1 – plasma deposited by micro-emulsion (plasma-me ratio:ME = 1:10), 2 – plasma saturated with methanol (plasma ratio:methanol = 1:10). The concentration of the injected ethoxidol is 10 mg/dm³.

Таблица 2. Стабильность этоксида в плазме крови. Добавка этоксида в пробы 0.5 мг/дм³.
 Table 2. Stability of ethoxidol in blood plasma. The addition of ethoxidol in samples of 0.5 mg/dm³.

Образец № 1 (стабильность при размораживании и повторном замораживании).	
№ цикла	Найдено этоксида, мг/дм ³
1	0.49
2	0.50
3	0.50
Образец № 2 (стабильность хранения при комнатной температуре)	
Длительность хранения, ч	Найдено этоксида, мг/дм ³
8	0.50
24	0.48
32	0.43
48	0.24

обнаружения 50 мкг/дм³. Относительное стандартное отклонение $S(r)$ составляет 0.08 ($n=3$).

Для исследования стабильности препарата в плазме в два образца чистой плазмы, разбавленной микроэмульсией, вносили этоксидол в концентрации 0.5 мг/дм³. Первый образец подвергли

трем циклам заморозки-разморозки, отбирая аликвоту и определяя содержание этоксида в образце после каждого цикла; второй образец хранили в течение 2-х суток при комнатной температуре. Результаты экспериментов представлены в табл. 2.

Заключение

Таким образом, предложен новый хроматографический метод определения этоксидола в плазме крови человека. Показано, что использование микроэмульсии в качестве элюента приводит к стабилизации препарата в растворах и значительному увеличению

извлечения этоксидола из реальных образцов.

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

1. Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. Determination of mexidol. // *Pharm.Chem.J.* 2005. Vol. 39, no 8. P. 447-448.
2. Berthod A., Laserna J.J., Carretero I. Oil-In-Water Microemulsions as Mobile Phases for Rapid Screening of Illegal Drugs in Sports. // *J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.* 1992. Vol. 15, no 17. P. 3115-3127.
3. Marsh A., Clark B.J., Altria K.D. Oil-in-water microemulsion LC determination of pharmaceuticals using gradient elution. // *Chromatographia.* 2005. Vol. 61. P.539-547.
4. Buchberger, W. Microemulsion Electrokinetic Chromatography. In: Schmitt-Kopplin, P. (eds) Capillary Electrophoresis. Methods in Molecular Biology. 2016. Humana Press, New York, NY. Vol. 1483. P. 91-109.
5. Карцова Л.А., Соловьева С.А., Бессонова Е.А. Микроэмульсионное концентрирование стероидных гормонов из водных растворов и образцов мочи // *Журнал аналит. химии.* 2021. Т. 76, №9. С. 804-811.
6. Mahuzier P-E., Clark B.J., Bryant S.M., Altria K.D. High-speed microemulsion electrokinetic chromatography. // *Electrophoresis.* 2001. Vol. 22, no 17. P. 3819-3823.
7. Пирогов А.В., Шпигун О.А. Применение микроэмульсий в жидкостной хроматографии и электро-кинетических методах анализа. Достоинства и недостатки подхода. // *Журнал аналит. химии.* 2020. Т. 75, № 2. С. 99-108.

8. Pirogov A.V., Sokolova L.S., Sokerina E.S., Turova O.G., Shpigun O.A. Determination of flavonoids as complexes with Al³⁺ in microemulsion media by HPLC method with fluorescence detection. // *J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.* 2016. Vol. 39, no 4. P. 220-224.

9. Каргин И.Д., Соколова Л.С., Пирогов А.В., Шпигун О.А. // Определение антибиотиков тетрациклинового ряда в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с послеклоночной реакцией и флуориметрическим детектированием. // *Заводская лаборатория.* 2015. Т. 81, № 2. С. 5-9.

References

1. Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. Determination of mexidol. *Pharm.Chem.J.* 2005; 39(8): 447-448.
2. Berthod A., Laserna J.J., Carretero I. Oil-In-Water Microemulsions as Mobile Phases for Rapid Screening of Illegal Drugs in Sports. *J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.* 1992; 15(17): 3115-3127.
3. Marsh A., Clark B.J., Altria K.D. Oil-in-water microemulsion LC determination of pharmaceuticals using gradient elution. *Chromatographia.* 2005; 61: 539-547.
4. Buchberger, W. Microemulsion Electrokinetic Chromatography. In: Schmitt-Kopplin, P. (eds) Capillary Electrophoresis. Methods in Molecular Biology. 2016. Humana Press, New York, NY. 1483: 91-109.
5. Kartsova L.A., Solov'eva S.A., Bessonova E.A. Mikroemul'sionnoe koncentrirovaniye steroidnyh gormonov iz vodnyh



rastvorov i obrazcov mochi. *ZHurnal analit. himii*. 2021; 76(9): 804-811. (In Russ.)

6. Mahuzier P-E., Clark B.J., Bryant S.M., Altria K.D. High-speed microemulsion electrokinetic chromatography. *Electrophoresis*. 2001; 22(17): 3819-3823.

7. Pirogov A.V., SHpigun O.A. Prime-nenie mikroemul'sij v zhidkostnoj hromatografii i elektrokineticheskikh metodah analiza. Dostoinstva i nedostatki podhoda. *ZHurnal analit. himii*. 2020; 75(2): 99-108. (In Russ.)

8. Pirogov A.V., Sokolova L.S., Sokerina E.S., Tatrova O.G., Shpigun O.A. De-termination of flavonoids as complexes with

Al³⁺ in microemulsion media by HPLC method with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.* 2016; 39(4): 220-224.

9. Kargin I.D., Sokolova L.S., Pirogov A.V., SHpigun O.A. // Opredelenie antibi-otikov tetraciklinovogo ryada v moloke metodom vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii s poslekolonochnoj reakciej i fluorimetricheskim detektirovaniem. *Za-vodskaya laboratoriya*. 2015; 81(2): 5-9. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

А.В. Пирогов – д.х.н., профессор, заведующий лабораторией хроматографии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Е.Б. Пашкова – к.х.н., ведущий научный сотрудник по методической работе отдела разработок ООО «Бιον», Обнинск, Россия

М.В. Попик – к.х.н., ведущий научный сотрудник химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

О.А. Шпигун – член-корр. РАН, д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

A.V. Pirogov – Prof., Dr. habil. (chemistry), Head of Laboratory of Chromatography, Department of Analytical chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

E.B. Pashkova – Ph.D. (Chemistry), Major Researcher, R&D section of ООО «Bion», Obninsk, Russia

M.V. Popik – Ph.D. (chemistry), Major Researcher, Department of Analytical chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow, Russia

O.A. Shpigun – prof., Dr. habil. (chemistry), department of Analytical chemistry, Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Moscow

Статья поступила в редакцию 04.08.2023; одобрена после рецензирования 22.08.2023; принята к публикации 06.09.2023.

The article was submitted 04.08.2023; approved after reviewing 22.08. 2023; accepted for publication 06.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723.2:577.325

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11567

Адсорбционная иммобилизация инулиназы из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus*: сравнительный аспект

Марина Геннадьевна Холявка^{1,2✉},
Максим Сергеевич Кондратьев^{1,3}, Валерий Григорьевич Артюхов¹

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, holyavka@rambler.ru✉

²Севастопольский государственный университет, Севастополь

³Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино, Россия

Аннотация. Методами компьютерного моделирования выполнен виртуальный скрининг лигандов для иммобилизации грибной инулиназы из *Aspergillus ficuum* и дрожжевой инулиназы из *Kluyveromyces marxianus*. Разработан алгоритм для выявления молекулярного механизма адсорбционной иммобилизации инулиназ с использованием методов последовательного (каскадного) докинга. Визуализированы вероятные сайты связывания полимерных матриц с молекулами фермента из различных продуцентов при адсорбционной иммобилизации. Установлено, что образование комплекса инулиназы с заряженными матрицами носителей происходит в основном за счет водородных связей и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Показано, что при сорбции инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* на матрицах КУ-2, АВ-17-2П, ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КОПАН-90 и хитозана выявляются следующие сходства: 1) при взаимодействии обоих видов инулиназ с матрицей КУ-2 водородные связи образуются только между сульфогруппами носителя и молекулой белка; 2) между матрицей анионита АВ-17-2П и ферментами выявляется наличие лишь ван-дер-ваальсовых взаимодействий и отсутствие водородных связей; 3) хитозан образует с обеими инулиназами наибольшее количество водородных связей из исследуемых нами носителей.

Выявлены отличительные особенности инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* при сорбции на матрицах КУ-2, АВ-17-2П, ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КОПАН-90: 1) силы взаимодействия дрожжевой инулиназы с поверхностью смолы КУ-2 в целом выше, а число водородных связей и количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия, больше, чем у грибного фермента; 2) силы взаимодействия и число аминокислот, участвующих в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях, для инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* при сорбции на анионите АВ-17-2П также превышают их значения для энзима из *Aspergillus ficuum*; 3) в отличие от грибной инулиназы, у которой 21 аминокислотный остаток входит в состав сайтов связывания со всеми исследуемыми нами носителями, у дрожжевого фермента такой остаток только один.

Ключевые слова: адсорбция, иммобилизация, инулиназа, молекулярный докинг

Благодарности: работа выполнена при поддержке программы Приоритет-2030 Севастопольского государственного университета, стратегический проект № 3.

Для цитирования: Холявка М.Г., Кондратьев М.Г., Артюхов В.Г. Адсорбционная иммобилизация инулиназы из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus*: сравнительный аспект // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 578-591. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11567>



Original article

Adsorption immobilization of inulinase from *Aspergillus ficuum* and *Kluyveromyces marxianus*: a comparative aspect

Marina G. Holyavka^{1,2✉}, Maxim S. Kondratyev^{1,3}, Valery G. Artyukhov¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, holyavka@rambler.ru✉

²Sevastopol State University, Sevastopol

³Institute of Cell Biophysics RAS – a separate subdivision of the Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research RAS”, Pushchino, Russia

Abstract. Virtual screening of ligands for the immobilization of fungal inulinase from *Aspergillus ficuum* and yeast inulinase from *Kluyveromyces marxianus* was performed using computer simulation methods. An algorithm has been developed to reveal the molecular mechanism of adsorption immobilization of inulinases using sequential (cascade) docking methods. The probable binding sites of polymeric matrices with enzyme molecules from various producers were visualized during adsorption immobilization. It has been established that the complexation of inulinase with charged carrier matrices occurs mainly due to hydrogen bonds and van der Waals interactions. It has been shown that during the sorption of inulinases from *Aspergillus ficuum* and *Kluyveromyces marxianus* on the matrices KU-2, AV-17-2P, VION KN-1, VION AN-1, KOPAN-90 and chitosan, the following similarities are revealed: 1) when both types of inulinases interact with the KU-2 matrix, hydrogen bonds are formed only between the carrier sulfo groups and the protein molecule; 2) only van der Waals interactions and the absence of hydrogen bonds are revealed between the matrix of the anion exchange resin AV-17-2P and enzymes; 3) chitosan forms the largest number of hydrogen bonds with both inulinases among the carriers studied by us.

Distinctive features of inulinases from *Aspergillus ficuum* and *Kluyveromyces marxianus* during sorption on KU-2, AV-17-2P, VION KN-1, VION AN-1, and KOPAN-90 matrices were revealed: 1) binding affinity of yeast inulinase to the surface of KU-2 resin generally higher, and the number of hydrogen bonds and the number of amino acid residues that form van der Waals interactions, is greater than that of the fungal enzyme; 2) the binding affinities and the number of amino acids involved in van der Waals interactions for inulinase from *Kluyveromyces marxianus* during sorption on the anion exchange resin AV-17-2P also exceed their values for the enzyme from *Aspergillus ficuum*; 3) in contrast to fungal inulinase, in which 21 amino acid residues are part of the binding sites with all the carriers we studied, the yeast enzyme has only one such residue.

Keywords: adsorption, immobilization, inulinase, molecular docking.

Acknowledgments: this work was supported by the Priority-2030 program of the Sevastopol State University, strategic project No. 3.

For citation: Holyavka M.G., Kondratyev M.S., Artyukhov V.G. Adsorption immobilization of inulinase from *Aspergillus ficuum* and *Kluyveromyces marxianus*: a comparative aspect. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 578-591 (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11567>

Введение

Иммобилизованные ферменты, связанные с нерастворимыми полимерными носителями за счет физических взаимодействий или химических связей, имеют существенные технологические преимущества по сравнению с их предшественниками в растворе: 1) возможность отделить препарат от реакционной среды, получить продукт, не загрязненный энзимом, 2) остановить реакцию в любой момент времени, 3) использовать катализатор повторно, 4) проводить процесс

непрерывно (например, в проточных реакторах), 5) регулировать скорость катализируемой реакции (или выход продукта) [1, 2], 6) перспектива изменять свойства фермента: его специфичность (особенно в отношении макромолекулярных субстратов), зависимость активности от pH среды [3, 4], 7) стабильность к денатурирующим воздействиям и долговечность препарата, увеличение времени его полужизни [5-8], 8) упрощение и удешевление производственных циклов [9-11].

В некоторых случаях образование комплекса фермент-носитель может осу-

ществляться параллельно с очисткой энзима от ряда примесей и таким образом компенсировать затраты, связанные с этапом иммобилизации [12, 13]. Многоточечное связывание с нерастворимым полимерным носителем [14], особенно в случае олигомерных белков [15], может повысить жесткость пространственной организации фермента и, таким образом, увеличить его стабильность [16-19]. Показано, что изменение жесткости определенных участков молекулы белка и контролируемые модификации его структурной организации, возникающие в результате процесса иммобилизации, в некоторых случаях значительно улучшают активность, селективность или специфичность фермента [20]. Следовательно, изучение гетерогенных биокатализаторов (иммобилизованных ферментов и их систем) способствует расширению теоретических знаний о путях регулирования структурно-функциональных, физико-химических и кинетических свойств энзимов.

Большое внимание исследователи уделяют разработке новых и усовершенствованию уже существующих методов иммобилизации, проблемам подбора и модификации носителей, изучению кинетических аспектов катализа гетерогенными ферментными системами.

Адсорбция аминокислот и белков ионообменными полимерами является сложным процессом, который может протекать как по ионообменному механизму, так и с помощью иных типов взаимодействий (диполь-дипольные, гидрофобные взаимодействия и образование водородных связей) [21-23]. Несмотря на множество практических разработок в области иммобилизации карбогидраз, молекулярные механизмы отдельных стадий этого процесса до конца не изучены. Имеются лишь данные ИК-спектроскопии и электронной микроскопии комплексов фермент-носитель, которые не позволяют составить полную картину о типах, числе и длине связей и взаимодействиях между

иммобилизованным ферментным препаратом и матрицей носителя. Отсутствуют исчерпывающие экспериментальные данные об отдельных этапах процесса сорбции карбогидраз на нерастворимых полимерах.

Инулиназы – группа ферментов, которые участвуют в углеводном метаболизме высших растений и некоторых микроорганизмов, являются важнейшими компонентами сигнальных путей, играют одну из ключевых ролей в контроле процессов клеточной дифференцировки и развития. Существуют экзо- (КФ 3.2.1.80) и эндоинулиназы (КФ 3.2.1.7). Эндоинулиназы расщепляют молекулу инулина вдали от концевых остатков фруктозы, продуктами гидролиза являются олигосахариды. Экзоинулиназы отщепляют концевые остатки фруктозы от молекул инулина, сахарозы и раффинозы [24, 25]. Оба типа инулиназ могут быть использованы в циклах производства сахаров с различной степенью полимеризации, в частности, фруктозы и инулоолигосахаридов – неотъемлемых компонентов функционального питания, снижающих риск возникновения сахарного диабета, кариеса и ожирения.

Молекулярные массы инулиназ колеблются в широких пределах: фермент из дрожжей *Kluyveromyces marxianus* – 63 кДа [26, 27], из *Aspergillus ficuum* – 64 кДа [28, 29]. В литературе встречаются противоречивые данные относительно надмолекулярной организации инулиназ. Это характерно не только для ферментов, полученных из различных видов одного рода (в качестве примера могут послужить роды *Kluyveromyces*, *Aspergillus* и *Arthrobacter*), но даже для энзимов, выделенных из штаммов одного и того же вида микроорганизма. Одни авторы утверждают, что инулиназа представлена только в мономерной форме, другие показывают наличие четвертичной



структуры в виде димера или даже тетрамера. Инулиназы из микробных продуцентов являются гликопротеинами и содержат в своем составе от 20 до 40 % углеводов [27].

Большинство микроорганизмов синтезируют фермент с температурным оптимумом, находящимся в пределах 45-55°C. Температуры, применяемые в производственных циклах, не всегда совпадают с максимумами активности ферментов, часто приходится использовать более низкие значения, при которых энзим является стабильным в течение длительного времени, поэтому целесообразно выбирать те инулиназы, оптимум функционирования которых превышает предполагаемую температуру в биореакторе. Наиболее перспективными для промышленного применения являются такие термофильные микроорганизмы-продуценты, как *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia guilliermondii*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Streptomyces species*, *Arthrobacter species*, *Arthrobacter ilicis*, *Cladosporium cladosporioides*, которые продуцируют инулиназы с оптимумом функционирования 60°C [30].

Инулиназы, выделенные из различных продуцентов, отличаются по рН-оптимуму. Грибные и дрожжевые ферменты проявляют максимальную активность в более кислой среде (рН 4.0-5.5), бактериальные – в менее кислой (рН 5.5-7.0). Кислотоустойчивость бактериальных инулиназ значительно ниже дрожжевых и грибных. Энзимы бактерий устойчивы в диапазоне рН 4.5-7.5, грибные – в диапазоне рН 3.0-8.0, дрожжевые – при рН 3.0-6.5. Известно, что рН сильно влияет на соотношение моно- и олигосахаридов в растворе: при более кислой среде (рН 4.0) содержание фруктозы и инулобиозы увеличивается, тогда как при рН 6.0 – заметно снижается. Для промышленных процессов более целесообразно выбирать те инулиназы, у

которых оптимум функционирования находится в интервале рН 4.0-5.0, совпадающим с зоной наибольшей стабильности фруктозы. Изoeлектрические точки большинства инулиназ находятся в диапазоне рН 3.8-5.4, поэтому их можно отнести к кислым белкам [30].

Дополнение экспериментальных эмпирических подходов по подбору удачных комбинаций фермент-носитель в условиях различного микроокружения современными методами компьютерного и математического моделирования позволяет не только экономить материальные ресурсы на апробацию иммобилизационных агентов и выявлять механизмы процесса иммобилизации, но и создавать принципиально новые комплексы препаратов на основе использования направленного конструирования носителей с заданными свойствами [31]. Для получения иммобилизованного биообъекта, востребованного на современном рынке, необходимы: 1) детальный анализ структурно-функциональных особенностей широкого круга молекул [32], 2) понимание фундаментальных механизмов, управляющих конформационными перестройками в биополимерах [33], 3) выявление наиболее вероятных путей образования комплексов различной природы и протекания химических реакций [34]. Для этого необходимо уметь активно манипулировать теоретическими подходами – современными методами квантовой химии: методами молекулярной динамики в полноатомном приближении, гибкого молекулярного докинга, методами прогнозирования спектров биологической активности и высокопроизводительным виртуальным скринингом соединений [35].

Результаты рентгеноструктурного анализа и молекулярного докинга представлены в открытой печати лишь для комплексов карбогидраз и их низкомолекулярных лигандов. Выявление молекуляр-

ных механизмов получения и применения гетерогенных биокатализаторов на основе инулиназы расширяет наши представления о процессе ферментативного гидролиза полисахаридов, что позволит усовершенствовать существующие технологические пути получения фруктозы [27].

В связи с этим нашей задачей было выявление особенностей адсорбции инулиназы из различных продуцентов – *Aspergillus ficuum* (грибы) и *Kluyveromyces marxianus* (дрожжи) и сайтов связывания полимерных матриц для иммобилизации с молекулой энзима: расчет значений силы взаимодействия фермента по отношению к носителям для иммобилизации, определение числа, типов и длин связей и взаимодействий между молекулой инулиназы и носителем на каждой стадии сорбции белковой глобулы.

Экспериментальная часть

Объектами исследования были инулиназы из *Aspergillus ficuum* (PDB ID: 3SC7) и *Kluyveromyces marxianus*, структура которой была получена путем реконструкции методами высокопроизводительного компьютерного моделирования на основе молекулы инвертазы из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (PDB ID: 4EQV) [36].

В качестве тестируемых лигандов (носителей для иммобилизации) применяли хитозан, ионообменные смолы АВ-17-2П, КУ-2 и ионообменные волокна ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КОПАН-90, краткая характеристика которых представлена в табл. 1. Все эти лиганды были нами апробированы как носители для иммобилизации инулиназ, т.е. все они образуют некие связи или взаимодействия с ее молекулами, и этот факт доказан экспериментально [37-39]. Кроме того, т.к. инулиназа – перспективный фермент для промышленности, все лиганды являются нетоксичными и уже применяются либо в пищевой промышленности, либо в медицине и/или ветеринарии.

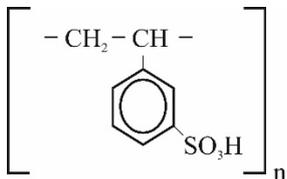
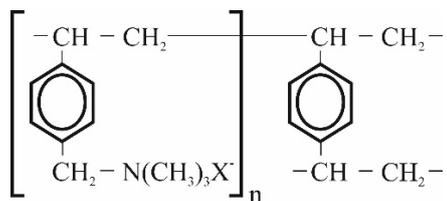
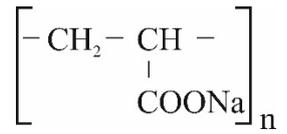
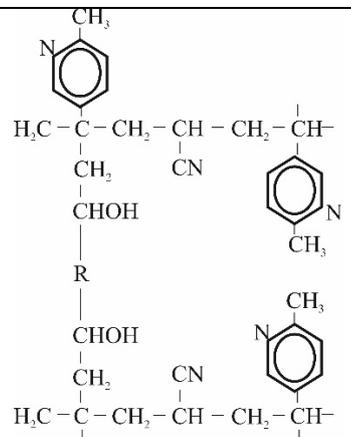
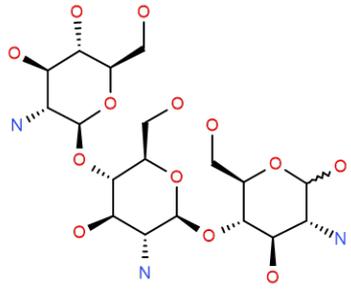
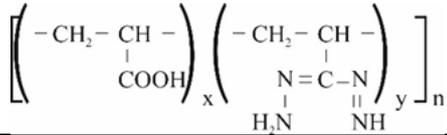
Подготовка структуры инулиназы для докинга выполнялась по стандартной для Autodock Vina схеме, описанной авторами пакета на сайте: из входного файла PDB были удалены координаты атомов (и сами атомы) молекул растворителя, буфера и лигандов.

Модели структур полимеров были нарисованы в молекулярном конструкторе HyperChem, последовательно оптимизированы сначала в силовом поле AMBER, а потом квантово-химически в PM3. Для всех полимеров была выбрана длина цепочки в 5 звеньев. Каждый из лигандов в расчетах докинга имел максимальную конформационную свободу: допускалось вращение функциональных групп вокруг всех одинарных связей.

Перед проведением численных расчетов была выполнена расстановка зарядов на поверхности белка с помощью MGLTools, а также выбрана ячейка для расчета докинга, размеры которой составили 68×58×60Å. Центр молекулы белка находился в точке с координатами (x=37.044; y= -36.997; z= -5.365). Центр молекулы белка и параметры бокса («ячейки») мы задавали вручную, добиваясь того, чтобы молекула инулиназы полностью была внутри расчетной области пространства. Эти же данные для мишени использовались нами и для последующих манипуляций с выбранным набором лигандов.

Для получения результатов *in silico* мы применили последовательный докинг. Иногда его называют каскадным, множественным – мы же используем слово «последовательный» – как отражение, в некоторой степени, сути процесса – последовательного добавления новой копии лиганда после обнаружения и занятия оптимального места связывания. Смысл каскадного докинга – в том, чтобы последовательно исключить вероятные множественные места связывания лигандов, изучив взаимодействия между лигандом и рецептором в случае избытка молекул лиганда.

Таблица 1. Краткая характеристика тестируемых носителей для иммобилизации инулиназы
 Table 1. Brief characteristics of tested carriers for inulinases immobilization

Носитель	Тип носителя	Свойства носителя	Структура элементарного звена
КУ-2	катионит, смола	эффективный размер зерен – 0.35-0.55 мм; полная статическая обменная емкость – не менее 1.8. ммоль/см ³ (ГОСТ 20298-74)	
АВ-17-2П	анионит, смола	эффективный размер зерен – 0.4-0.7 мм; полная статическая обменная емкость – не менее 1 ммоль/см ³ (ГОСТ 20301-2022)	
ВИОН КН-1	катионит, волокно	полная статическая обменная емкость по 0.1 н НСl – не менее 3.5 мг-экв/г (по данным производителя)	
ВИОН АН-1	анионит, волокно	полная статическая обменная емкость по 0.1 н НСl – не менее 1.8 мг-экв/г (по данным производителя)	
Хитозан	катионный полисахарид	pK _a =6.5	
КОПАН-90	амфолит, волокно		

Процесс заполнения рецептора лигандами (от 1 до 5) выглядел следующим образом. На первой стадии расчета мы брали в качестве рецептора чистый белок и рассчитывали докинг на него одной молекулы лиганда (хитозан, ионообменные смолы АВ-17-2П, КУ-2 и ионообменные волокна ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КОПАН-90). В соответствии с ранжированием по величине свободной энергии (процедура встроена в пакет Autodock VINA) мы анализировали и отбирали конформер лиганда, связанный в некотором месте на поверхности рецептора – и считали это первым положением лиганда. Далее следовала подготовка ко второму расчету. Тот же самый лиганд, в этой же первой конформации, мы делали частью рецептора (прописывая его координаты и частичные заряды на атомах – внутри файла структуры рецептора) – и готовили полученную структуру к докингу в качестве нового рецептора (снова определяли для него размеры ячейки для расчета докинга). В качестве же лиганда снова брали тот же лиганд (хитозан, ионообменные смолы или волокна), что и в первом расчете. Запускали расчет, в ходе которого снова получали разные конформеры лигандов, ранжированные по величинам свободных энергий (но оптимальное место лиганда уже занято в результате первого расчета). Анализировали структуру полученного комплекса и готовили ее для третьего расчета. Для третьего расчета мы брали структуру глобулы со связанным первым лигандом и приписывали к ней связанный второй лиганд. Получившийся общий комплекс мы готовили как рецептор для третьего расчета. Аналогично находили пять положений лигандов.

Связи и взаимодействия детектировались нами путем сравнительного анализа характера соседствующих атомных группировок, углов и длин межмолекулярных связей. Иллюстрации были отрисованы в соответствии с правилами, заложенными

в пакет LigPlot. Возможные взаимодействия лиганда с рецептором были оценены нами до моделирования на основании экспериментальных работ, виртуальные расчеты конкретизируют количественные величины расстояний и точную локализацию лиганда.

Обсуждение результатов

В предыдущих работах мы уже приводили состав потенциальных сайтов (скоплений заряженных и гидрофобных аминокислотных остатков) на поверхности молекул инулиназ из различных продуцентов, которые могут участвовать в сорбции и/или образовании комплексов ферментов с рядом лигандов [40-42]. В данном исследовании мы стремились конкретизировать полученные ранее результаты, чтобы выявить особенности процесса адсорбции инулиназ из *Aspergillus ficuum* (грибы) и *Kluyveromyces marxianus* (дрожжи), как наиболее изученных и доступных для промышленного применения гликозидгидролаз, с определением числа, типов и длин связей и взаимодействий между молекулой фермента и носителем на каждой стадии сорбции белковой глобулы.

На рис. 1 и 2 представлены наиболее вероятные сайты связывания полимерных матриц для иммобилизации с молекулами грибной инулиназы из *Aspergillus ficuum* и дрожжевой инулиназы из *Kluyveromyces marxianus*, включающие в себя аминокислотные остатки, которые входят в состав контактных областей при сорбции фермента минимум на пяти из шести исследуемых нами носителей.

В табл. 2 приведены результаты сравнительного анализа сайтов связывания инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* с матрицами носителей различных типов. Отчетливо видно, что силы взаимодействия дрожжевой инулиназы с поверхностью смолы КУ-2 в целом выше, а число водородных связей и аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия,

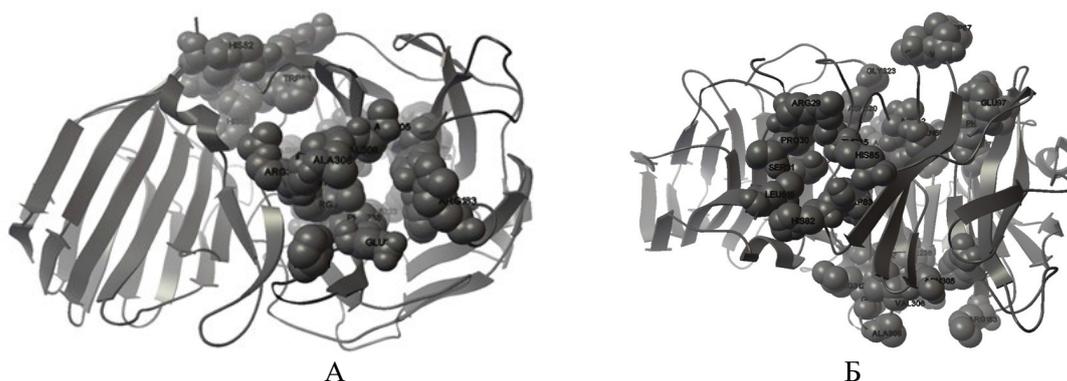


Рис. 1. Вероятные сайты связывания полимерных матриц для иммобилизации с молекулой инулиназы из *Aspergillus ficuum* (атомы аминокислотных остатков, входящих в их состав, обозначены шарами): Б – повернутая на 90 градусов вокруг горизонтальной оси форма А
 Fig 1. Probable binding sites of polymer matrices for immobilization with the inulinase molecule from *Aspergillus ficuum* (the atoms of the amino acid residues included in their composition are indicated by balls): Б – form A rotated 90 degrees around the horizontal axis

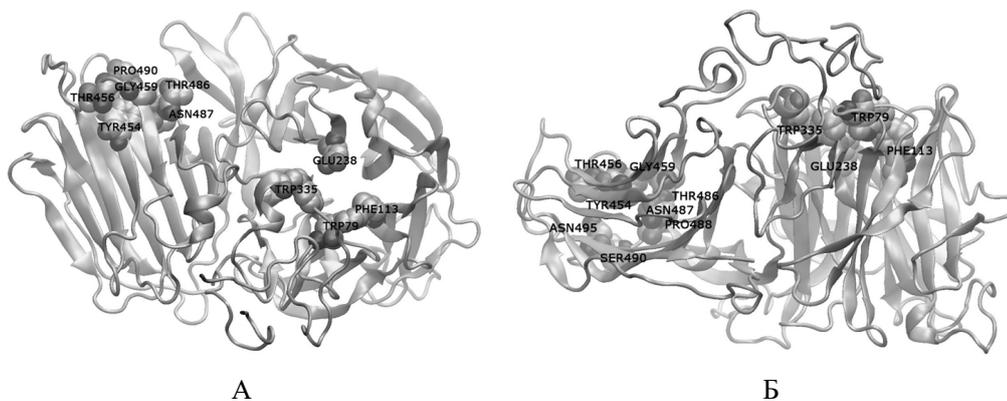


Рис. 2. Вероятные сайты связывания полимерных матриц для иммобилизации с молекулой инулиназы из *Kluveromyces marxianus* (атомы аминокислотных остатков, входящих в их состав, обозначены шарами): Б – повернутая на 90 градусов вокруг горизонтальной оси форма А
 Fig 2. Probable binding sites of polymer matrices for immobilization with the inulinase molecule from *Kluveromyces marxianus* (the atoms of the amino acid residues included in their composition are indicated by balls): Б – form A rotated 90 degrees around the horizontal axis

больше, чем у грибного фермента. Силы взаимодействия и число аминокислот, участвующих в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях, для инулиназы из *Kluveromyces marxianus* при сорбции на анионите АВ-17-2П также превышают их значения для энзима из *Aspergillus ficuum*. При этом оба фермента не образуют водородных связей с матрицей носителя.

Силы взаимодействия, число водородных связей и аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия, у обеих инулиназ с матрицей волокон ВИОН КН-1 и КОПАН-90 существенно образом не отличаются друг от

друга, тогда как значения сил взаимодействия дрожжевой инулиназы с поверхностью ВИОН АН-1 и число аминокислот, участвующих в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях, выше, а количество водородных связей при этом ниже, чем у грибного энзима. Существенных отличий в значениях сил взаимодействия и числе водородных связей для обеих инулиназ при сорбции на хитозане мы не обнаружили, однако, расчеты показали, что у молекулы грибного энзима количество аминокислотных остатков, которые образуют ван-дер-ваальсовы взаимодействия с поверхностью носителя, выше, чем у дрожжевого фермента.

Обобщая приведенные выше материалы, можно заключить, что при сорбции инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* на матрицах КУ-2, АВ-17-2П, ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КО-ПАН-90 и хитозана наблюдаются следующие сходства:

1. при взаимодействии обеих инулиназ с матрицей КУ-2 водородные связи образуются только между сульфогруппами носителя и молекулой белка;

2. кроме сайтов связывания с ферментом, различные звенья смолы КУ-2

Таблица 2. Сравнительный анализ сайтов связывания инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* с матрицами носителей различных типов

Table 2. Comparative analysis of binding sites for inulinases from *Aspergillus ficuum* and *Kluyveromyces marxianus* with different types of carrier matrices

инулиназа из <i>Aspergillus ficuum</i>	инулиназа из <i>Kluyveromyces marxianus</i>
КУ-2, катионит, смола	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-7.3	-8.5
-8.0	-8.8
-7.8	-7.6
-6.8	-7.9
-6.2	-8.4
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
20/46	23/52
АВ-17-2П, анионит, смола	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-6.8	-8.0
-7.1	-6.9
-5.2	-6.4
-5.2	-6.1
-5.5	-6.2
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
0/81	0/68
ВИОН КН-1, катионит, волокно	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-5.8	-5.6
-5.5	-6.0
-5.9	-5.8
-5.2	-5.6
-5.6	-5.5
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
21/41	25/43
ВИОН АН-1, анионит, волокно	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-6.5	-7.8
-6.4	-7.3
-7.2	-7.4
-5.3	-6.5
-5.4	-5.5
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
8/64	5/76
Хитозан	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-7.0	-7.8
-6.8	-6.5



Таблица 2. (продолжение)	
-6.3	-6.4
-6.3	-6.5
-7.7	-6.6
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
44/31	45/23
инулиназа из <i>Aspergillus ficuum</i>	инулиназа из <i>Kluyveromyces marxianus</i>
КОПАН-90, амфолит, волокно	
Сила взаимодействия от первого до пятого сайтов связывания, ккал/моль	
-5.9	-5.8
-5.6	-5.8
-5.8	-5.7
-5.0	-6.0
-5.2	-5.2
Количество водородных связей/Количество аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия	
27/52	29/50

образуют водородные связи с сульфогруппами других звеньев своей матрицы;

3. между матрицей анионита АВ-17-2П и ферментами мы выявляем наличие лишь ван-дер-ваальсовых взаимодействий и отсутствие водородных связей, отрицательно заряженные аминокислотные остатки превалируют при первом контакте обоих энзимов с носителем, по сравнению с другими точками связывания;

4. аниониты АВ-17-2П и ВИОН АН-1 образуют сайты связывания с собственными функциональными группами за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий при иммобилизации на своей матрице обеих инулиназ;

5. как грибная, так и дрожжевая инулиназы имеют по две водородные связи положительно заряженных аминокислотных остатков с матрицей ВИОН КН-1 на пять контактных групп;

6. хитозан образует с обеими инулиназами наибольшее количество водородных связей из исследуемых нами носителей, вторую позицию занимает амфолит КОПАН-90;

7. силы взаимодействия, число водородных связей и количество аминокислотных остатков, участвующих в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях, у обеих инулиназ с матрицей волокон

ВИОН КН-1 и КОПАН-90 существенным образом не отличаются друг от друга;

8. многие аминокислотные остатки на поверхности молекул инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* входят в состав контактных групп при их сорбции на носителях, которые существенно отличаются друг от друга по структуре и заряду.

Однако при сорбции инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus* на матрицах КУ-2, АВ-17-2П, ВИОН КН-1, ВИОН АН-1, КОПАН-90 и хитозана выявляется и ряд отличительных особенностей:

1. наблюдаются различия в распределении положительно заряженных аминокислотных остатков между контактными участками молекулы фермента и матрицей катионообменной смолы КУ-2: в формировании пяти сайтов связывания у инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* принимают участие пять положительно заряженных аминокислотных остатков, тогда как у инулиназы из *Aspergillus ficuum* их восемь;

2. силы взаимодействия дрожжевой инулиназы с поверхностью смолы КУ-2 в целом выше, а число водородных связей и количество аминокислот, участвующих в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях, больше, чем у грибного фермента;

3. силы взаимодействия и число аминокислотных остатков, образующих ван-дер-ваальсовы взаимодействия, для инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* при сорбции на анионите АВ-17-2П также превышают их значения для энзима из *Aspergillus ficuum*;

4. в отличие от грибной инулиназы, дрожжевой фермент не образует водородных связей с матрицей ВИОН АН-1 в первых двух контактных точках, зато количество аминокислот, принимающих участие в формировании ван-дер-ваальсовых взаимодействий, во всех пяти сайтах связывания суммарно превышает таковое у инулиназы из *Aspergillus ficuum*;

5. матрица хитозана формирует водородные связи между собственными пятерками звеньев при сорбции на ней инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* и ван-дер-ваальсовы взаимодействия – при иммобилизации инулиназы из *Aspergillus ficuum*;

6. в отличие от грибного энзима, у которого 21 аминокислотный остаток входит в состав сайтов связывания со всеми исследуемыми нами носителями, у дрожжевой инулиназы такой остаток только один;

7. при изучении сорбции инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* мы обнаруживаем большее количество «уникальных» (встречающихся в сайтах связывания фермента и носителей только при сорбции на их матрицах) аминокислотных остатков, чем при иммобилизации инулиназы из *Aspergillus ficuum* (исключением является только анионит АВ-17-2П, для которого число «уникальных» остатков при связывании с грибной инулиназой равно 12, а с дрожжевой – 8).

Список литературы/References

1. Jafarizadeh-Malmiri H., Ghaz-Jahanian M.A., Berenjian A., Potential applications of chitosan nanoparticles as novel supports in enzyme immobilization, *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, 2012; 8: 203-219. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2012.203.219>

Заключение

Рамки инженерной энзимологии гораздо шире, чем создание катализаторов нового типа. Фундаментальная задача данной отрасли состоит в том, чтобы разработать теоретические основы получения и применения ферментных катализаторов для создания новых биотехнологических процессов в промышленности, новых методов в терапии и медицинской диагностике, анализе, органическом синтезе и в других областях практической деятельности. Несмотря на определенные сложности, исследования в области иммобилизации биологических систем разного уровня организации чрезвычайно важны и, по-видимому, сохраняют свое значение в обозримом будущем.

Методами компьютерного моделирования нами был выполнен виртуальный скрининг перспективных лигандов для адсорбции инулиназ из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus*. Изученный нами набор носителей представлял собой поликатиониты и полианиониты. На основе сравнительного анализа величин полной энергии и локализации мест связывания лигандов, а также литературных данных, были высказаны соображения об особенностях взаимодействия предлагаемых нами матриц для иммобилизации молекул грибного и дрожжевого ферментов.

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. Ansari S.A., Husain Q., Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: a review, *Biotechnol. Adv.*, 2012; 30: 512-523. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.005>

3. Vaghari H., Jafarizadeh-Malmiri H., Mohammadlou M., Berenjian A., Anarjan N., Jafari



- N., Nasiri S., Application of magnetic nanoparticles in smart enzyme immobilization, *Biotechnology Letters*, 2016; 38: 223-233. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1977-z>
4. Cipolatti E.P., Valério A., Henriques R.O., Moritz D.E., Ninow J.L., Freire D.M.G., Manoel E.A., Fernandez-Lafuente R., de Oliveira D., Nanomaterials for biocatalyst immobilization-state of the art and future trends, *RSC Advances*, 2016; 6: 104675-104692. <https://doi.org/10.1039/C6RA22047A>
5. Janecek S., Strategies for obtaining stable enzymes, *Process Biochem.*, 1993; 28: 435-445.
6. Guzik U., Hupert-Kocurek K., Wojcieszynska D., Immobilization as a strategy for improving enzyme properties – Application to oxidoreductases, *Molecules*, 2014; 19: 8995-9018. <https://doi.org/10.3390/molecules19078995>
7. Lei Z., Bi S., Yang H., Chitosan-tethered the silica particle from a layer-by-layer approach for pectinase immobilization, *Food Chem.*, 2007; 104: 577-584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.008>
8. Efremenko E.N., Tatarinova N.Yu., The effect of long-term preservation of bacterial cells immobilized in poly(vinyl alcohol) cryogel on their viability and biosynthesis of target metabolites, *Microbiology*, 2007; 76(3): 336-341. <https://doi.org/10.1134/S0026261707030113>
9. Liese A., Hilterhaus L., Evaluation of immobilized enzymes for industrial applications, *Chemical Society Reviews*, 2013; 42: 6236-6249. [doi: 10.1039/c3cs35511j](https://doi.org/10.1039/c3cs35511j)
10. Efremenko E.N., Stepanov N.A., Nikolskaya A.B., Senko O.V., Spiricheva O.V., Varfolomeev S.D., Biocatalysts based on immobilized cells of microorganisms in the production of bioethanol and biobutanol, *Catalysis in Industry*, 2011; 3(1): 41-46. <https://doi.org/10.1134/S207005041101003X>
11. Efremenko E.N., Stepanov N.A., Gudkov D.A., Sen'ko O.V., Lozinskij V.I., Varfolomeev S.D., Immobilizovannyye gribnyye biokatalizatory dlya polucheniya kompleksa cellyulaz, gidrolizuyushchego vozobnovlyаемое rastitel'noe syr'e, *Kataliz v promyshlennosti*, 2013; 1: 68-77.
12. Barbosa O., Ortiz C., Berenguer-Murcia Á., Torres R., Rodrigues R.C., Fernandez-Lafuente R., Strategies for the one-step immobilization-purification of enzymes as industrial biocatalysts, *Biotechnol. Adv.*, 2015; 33: 435-456. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.03.006>
13. Garcia-Galan C., Berenguer-Murcia Á., Fernandez-Lafuente R., Rodrigues R.C., Potential of different enzyme immobilization strategies to improve enzyme performance, *Adv. Synth. Catal.*, 2011; 353: 2885-2904. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100534>
14. Mateo C., Palomo J.M., Fernandez-Lorente G., Guisan J.M., Fernandez-Lafuente R., Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques, *Enzyme Microb. Technol.*, 2007; 40: 1451-1463. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.018>
15. Fernandez-Lafuente R., Stabilization of multimeric enzymes: strategies to prevent subunit dissociation, *Enzyme Microb. Technol.*, 2009; 45: 405-418. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.08.009>
16. Balcao V.M., Vila M.M., Structural and functional stabilization of protein entities: State-of-the-art, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2015; 93: 25-41. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.005>
17. Bolivar J.M., Mateo C., Rocha-Martin J., Cava F., Berenguer J., Fernandez-Lafuente R., Guisan J.M., The adsorption of multimeric enzymes on very lowly activated supports involves more enzyme subunits: stabilization of a glutamate dehydrogenase from *Thermus thermophilus* by immobilization on heterofunctional supports, *Enzyme Microb. Technol.*, 2009; 44: 139-144. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.10.004>
18. Min K., Yoo Y.J., Recent progress in nanobiocatalysis for enzyme immobilization and its application, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2014; 19: 553-567. <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0173-7>
19. Efremenko E.N., Lozinsky V.I., Sergeeva V.S., Plieva F.M., Makhlis T.A., Kazankov G.M., Gladilin A.K., Varfolomeyev S.D., Addition of polybrene improves stability of organophosphate hydrolase immobilized in poly(vinyl alcohol) cryogel carrier, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 2002; 51(2): 195-201. [https://doi.org/10.1016/s0165-022x\(01\)00135-x](https://doi.org/10.1016/s0165-022x(01)00135-x)
20. Rodrigues R.C., Ortiz C., Berenguer-Murcia Á., Torres R., Fernández-Lafuente R., Modifying enzyme activity and selectivity by immobilization, *Chem. Soc. Rev.*, 2013; 45: 6290-6307. <https://doi.org/10.1039/c2cs35231a>
21. Karpov S.I., Matveeva M.V., Selemenev V.F., Kinetics of the sorption of amino acids by



- KU-2-8 gel cationite, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2001; 75(2): 266-271.
22. Shkutina I.V., Stoyanova O.F., Selemenev V.F., Grigor'eva G.A., Adsorption immobilization of glucoamylase on amphoteric poly-electrolytes, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2001; 75(11): 1843-1845.
23. Krisilova E.V., Eliseeva T.V., Selemenev V.F., Krisilov A.V., Oros G.Y., The influence of side substituents in α -amino acids on their sorption by a cation-exchange membrane, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2009; 83(10): 1763-1767. <https://doi.org/10.1134/S0036024409100240>
24. Ohta K., Akimoto H., Matsuda S., To-shimitsu D., Nakamura T., Molecular cloning and sequence analysis of two endoinulinase genes from *Aspergillus niger*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1998; 62(9): 1731-1738. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.1731>
25. Basso A., Spizzo P., Ferrario V., Knapic L., Savko N., Braiuca P., Ebert C., Ricca E., Calabrò V., Gardossi L., Endo- and exo-inulinases: enzyme-substrate interaction and rational immobilization, *Biotechnol. Prog.*, 2010; 26(2): 397-405. <https://doi.org/10.1002/btpr.334>
26. Artyukhov V.G., Kovaleva T.A., Khol-yavka M.G., Bityutskaya L.A., Grechkina M.V., Obratsova T.B. Study of the oligomeric structure and some physicochemical properties of inulinase from *Kluyveromyces marxianus* Y-303, *Biophysics*, 2009; 54(6): 675-680. <https://doi.org/10.1134/S0006350909060025>
27. Artyukhov V.G., Holyavka M.G., Kovaleva T.A., Structural and functional properties of inulinases. Ways to regulate their activity, *Biophysics*, 2013; 58(4): 493-501. <https://doi.org/10.1134/S0006350913040039>
28. Uhm T.B., Chung M.S., Lee S.H., Gourronc F., Housen I., Kim J.H., Van Beeumen J., Haye B., Vandenhoute J. Purification and characterization of *Aspergillus ficuum* endoinulinase, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 1999; 63(1): 146-151. <https://doi.org/10.1271/bbb.63.146>
29. Ettalibi M., Baratti J.C. Purification, properties and comparison of invertase, exoinulinases and endoinulinases of *Aspergillus ficuum*, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 1987; 26: 13-20. <https://doi.org/10.1007/BF00282143>
30. Artyukhov V.G., Holyavka M.G., Kovaleva T.A. Fiziko-himicheskie i kineticheskie svojstva inulinaz, *Vestnik biotekhnologii i fiziko-himicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova*, 2013; 2: 67-77.
31. Holyavka M.G., Artyukhov V.G., Kondratyev M.S., Samchenko A.A., Kabanov A.V., Komarov V.M., *In silico* design of high-affinity ligands for the immobilization of inulinase, *Computers in Biology and Medicine*, 2016; 71: 198-204. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2016.02.015>
32. Holyavka M.G., Kovaleva T.A., Grechkina M.V., Ostankova I.V., Artyukhov V.G., Inulinases from various producers: the features of their permolecular organization, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2014; 50(1): 10-16. <https://doi.org/10.1134/S0003683814010050>
33. Holyavka M., Artyukhov V., Kovaleva T., Structural and functional properties of inulinases: A review, *Biocatalysis and Biotransformation*, 2016; 34(1): 1-17. <https://doi.org/10.1080/10242422.2016.1196486>
34. Holyavka M.G., Evstigneev M.P., Artyukhov V.G., Savin V.V., Development of heterogeneous preparation with inulinase fortubular reactor systems, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2016; 129: 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.03.006>
35. Holyavka M.G., Kondratyev M.S., Terentyev V.V., Samchenko A.A., Kabanov A.V., Komarov V.M., Artyukhov V.G., The Molecular Mechanism of Adsorption Immobilization of Inulinase on Polymer Matrices, *Biophysics*, 2017; 62 (1): 5-11. <https://doi.org/10.1134/S0006350917010109>
36. Abdullatypov A.V., Kondratyev M.S., Khol-yavka M.G., Artyukhov V.G., Reconstruction of the spatial structure of inulinase from *Kluyveromyces marxianus* to find regulatory pathways of its catalytic activity, *Biophysics*, 2016; 61(4): 565-571. <https://doi.org/10.1134/S0006350916040023>
37. Artyukhov V.G., Kovaleva T.A., Khol-yavka M.G., Bityutskaya L.A., Grechkina M.V., Thermal inactivation of free and immobilized inulinase, *Applied biochemistry and microbiology*, 2010; 46(4): 385-389. <https://doi.org/10.1134/S0003683810040034>
38. Holyavka M.G., Kayumov A.R., Baydamshina D.R., Koroleva V.A., Trizna E.Yu., Trushin M.V., Artyukhov V.G., Efficient fructose production from plant extracts by immobilized inulinases from *Kluyveromyces marxianus* and *Helianthus tuberosus*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018;



115: 829-834. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.107>

39. Holyavka M.G., Kondratyev M.S., Lukin A.N., Agapov B.L., Artyukhov V.G., Immobilization of inulinase on KU-2 ion-exchange resin matrix, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019; 138: 681-692. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.132>

40. Koroleva V.A., Sakibaev F.A., Shelomenceva T.N., Holyavka M.G., Artyuhov V.G. Izuchenie zakonornostej termicheskoy inaktivatsii svobodnogo i immobilizovannogo na matrice hitozana tripsina, *Vestnik VGU. Seriya «Himiya. Biologiya. Farmatsiya»*, 2018; 3: 58-63.

41. Sakibaev F.A., Holyavka M.G., Makin S.M., Artyuhov V.G. An *in silico* search for the

sites of potential binding with charged and hydrophobic carriers in the molecules of endoinulinase from *Aspergillus ficuum* and exoinulinase from *Aspergillus awamori*, *Biophysics*, 2019; 64(3): 323-330. <https://doi.org/10.1134/S0006350919030199>

42. Sakibaev F.A., Makin S.M., Holyavka M.G., Artyuhov V.G. Zakonomernosti formirovaniya dimernykh kompleksov molekulami ekzoi endoinulinaz. Izmenenie sostava potencial'nykh sajtov svyazyvaniya s zaryazhennymi i gidrofobnymi nositelyami dlya ih immobilizatsii, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2021; 21 (6): 905-927.

Информация об авторах / Information about the authors

М.Г. Холявка – д.б.н., профессор кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета, Севастополь

М.С. Кондратьев – к.ф.-м.н., зав. лабораторией структуры и динамики биомолекулярных систем, Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН», Пушкино, Россия

В.Г. Артюхов – д.б.н., профессор, зав. кафедрой биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

M.G. Holyavka – Doctor (biology), professor, department of biophysics and biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Russia; Professor of Physics Department, Sevastopol State University, Sevastopol, e-mail: holyavka@rambler.ru

M.S. Kondratyev – 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, Russia

V.G. Artyukhov – Doctor (biology), professor, Head of the Biophysics and Biotechnology Department, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Статья поступила в редакцию 27.05.2023; одобрена после рецензирования 21.08.2023; принята к публикации 06.09.2023.

The article was submitted 27.05.2023; approved after reviewing 21.08.2023; accepted for publication 06.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.183

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11568

Влияние структуры имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ

Варвара Михайловна Разницына[✉], Роман Владимирович Шафигулин, Кирилл Юрьевич Виноградов, Анжела Владимировна Буланова

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия, v_raznitsyna@mail.ru[✉]

Аннотация. Флавоноиды представляют собой наиболее распространенные природные полифенольные соединения сложного строения, обладающие широким спектром биологической активности. Актуальной проблемой фармацевтической промышленности является определение качественного и количественного состава сложных смесей биологически активных соединений (БАС). Наиболее подходящий и используемый для этого метод – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ). Для увеличения эффективности и селективности разделения смеси в водно-органический элюент вводят добавки различных органических веществ. В настоящей работе проведено исследование влияния добавки в подвижную фазу некоторых имидазолиевых ионных жидкостей (ИЖ) на хроматографическое поведение смеси (+)-катехин гидрата, рутина, гесперидина и кверцетина в условиях ОФ ВЭЖХ. В качестве ИЖ использовали 1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C₄MIM][Br], 1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C₆MIM][Br], 1-децил-3-метилимидазолий бромид [C₁₀MIM][Br], 1-метил-3-октилимидазолий бромид [C₈IM][Br] и 1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C₄dMIM][BF₄]. Показано, что порядок выхода флавоноидов не меняется в зависимости от природы ИЖ. Установлено, что при добавлении в элюент ИЖ изменяется величина фактора удерживания флавоноидов. Добавление в подвижную фазу ИЖ с длинными алкильными заместителями в имидазольном кольце ([C₁₀MIM][Br] и [C₈IM][Br]) приводит к увеличению удерживания флавоноидов (за исключением высокополярной молекулы гесперидина). Это объясняется, во-первых, возможностью образования гидрофобной ионной пары между молекулой анализируемого вещества и ИЖ, во-вторых – реализацией ионнообменного механизма удерживания молекул, и, в-третьих – изменением ионной силы подвижной фазы и усилением гидрофобного эффекта. ИЖ с более короткими заместителями не склонны к подобным взаимодействиям. Показано неоднозначное влияние имидазолиевых ИЖ на эффективность хроматографического процесса: для каждого сорбата наблюдается различный эффект добавления ИЖ в водно-ацетонитрильный элюент. Хроматографическая система с [C₄dMIM][BF₄] позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.

Ключевые слова: флавоноиды, ОФ ВЭЖХ, октадецилсиликагель, имидазолиевые ионные жидкости.

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00397, <https://rscf.ru/project/23-23-00397/>

Для цитирования: Разницына В.М., Шафигулин Р.В., Виноградов К.Ю., Буланова А.В. Влияние структуры имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 592-605. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11568>



Original article

Influence of the structure of imidazolium ionic liquids on the chromatographic behaviour of some flavonoids under RP HPLC conditions

Varvara M. Raznitsyna[✉], Roman V. Shafigulin,
Kirill Yu. Vinogradov, Andzhela V. Bulanova

Samara National Research University, Samara, Russia, v_rznitsyna@mail.ru[✉]

Abstract. Flavonoids are the most common natural polyphenolic compounds of complex structure, possessing a wide range of biological activities. The determination of the qualitative and quantitative composition of complex mixtures of biologically active compounds (BAC) is an urgent problem of the pharmaceutical industry. The most suitable and used method for this task is reverse phase high performance liquid chromatography (RP HPLC). To increase the efficiency and selectivity of separation of the mixture, additives of various organic substances are introduced into the aqueous-organic eluent. In this study we investigated the effect of adding certain imidazolium ionic liquids (ILs) into the mobile phase on the chromatographic behaviour of a mixture of (+)-catechol hydrate, rutin, hesperidin, and quercetin under RP HPLC conditions. 1-Butyl-3-methylimidazolium bromide [C₄MIM][Br], 1-hexyl-3-methylimidazolium bromide [C₆MIM][Br], 1-decyl-3-methylimidazolium bromide [C₁₀MIM][Br], 1-methyl-3-octylimidazolium bromide [MC₈IM][Br] and 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate [C₄dMIM][BF₄]. It was shown that the order of release of flavonoids does not change depending on the nature of the IL. It has been established that when IL is added to the eluent, the value of the flavonoid retention factor changes. Addition of IL with long alkyl substituents in the imidazole ring ([C₁₀MIM][Br] and [MC₈IM][Br]) led to increased retention of flavonoids (with the exception of the highly polar molecule hesperidin). This is explained, firstly, by the possibility of the formation of a hydrophobic ion pair between the analyte molecule and the IL, secondly, by the implementation of the ion exchange mechanism of molecular retention, and thirdly, by a change in the ionic strength of the mobile phase and an increase in the hydrophobic effect. IL with shorter substituents are not prone to such interactions. The ambiguous effect of imidazolium IL on the efficiency of the chromatographic process has been shown: for each sorbate, a different effect of addition of IL to the aqueous-acetonitrile eluent was observed. Chromatographic system with [C₄dMIM][BF₄] allows to increase efficiency for the three studied flavonoids - catechin, rutin, and quercetin.

Keywords: flavonoids, RP HPLC, octadecyl silica gel, imidazolium ionic liquids.

Acknowledgments: research completed with grant support Russian Science Foundation No. 23-23-00397, <https://rscf.ru/en/project/23-23-00397/>.

For citation: Raznitsyna V.M., Shafigulin R.V., Vinogradov K.Yu., Bulanova A.V. Influence of the structure of imidazolium ionic liquids on the chromatographic behaviour of some flavonoids under RP HPLC conditions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 592-605. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11568>

Введение

Флавоноиды относятся к биологически активным природным фенольным соединениям сложного строения, содержащимся в лекарственном растительном сырье. Изучение сорбции биологически активных соединений (БАС) из жидких растворов актуально, так как эти соединения используются в фармацевтической, косметической промышленности, в медицине, производстве продуктов питания и др. [1-3]. Наиболее популярным и часто

используемым методом исследования сорбции БАС является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ) [4, 5].

Особый интерес представляет изучение влияния строения флавоноидов на их хроматографическое поведение в условиях ОФ ВЭЖХ. Флавоноиды представляют собой сложные по структуре соединения, содержащие полярные гидроксильные группы и гидрофобные объемные конденсированные ароматические

кольца. Согласно основным закономерностям удерживания в ОФ ВЭЖХ, чем больше гидрофобность соединения, тем больше время его удерживания на неполярных сорбентах [6]. Однако в случае флавоноидов подобная закономерность не всегда соблюдается. При анализе этих соединений необходимо учитывать возможность диссоциации ОН-групп при изменении рН элюента, так как этот фактор влияет на гидрофильно-липофильный баланс соединений [7]. Хроматографический анализ соединений, склонных к диссоциации, нередко проводят в присутствии кислот, буферных растворов и других добавок в элюент, снижающих рН подвижной фазы, но в то же время приводящих к уменьшению срока эксплуатации хроматографических колонок. Свойства флавоноидов могут изменяться в зависимости от положения функциональных групп [7], что обусловлено возможностью образования внутримолекулярных водородных связей. Кроме того, флавоноиды очень чувствительны к изменению состава элюента в ОФ ВЭЖХ: их времена удерживания значительно сокращаются даже при незначительном увеличении содержания органического компонента в подвижной фазе. Так, время удерживания нарингенина на колонке С18 варьируется от 108 до 6,4 мин при изменении содержания ацетонитрила в подвижной фазе от 25 до 50 об.% соответственно [8]. В связи с этим, важно провести подбор оптимальных хроматографических условий с целью обеспечения наибольшей эффективности процесса разделения многокомпонентных смесей.

Свойства подвижной фазы можно изменять, используя ионные жидкости [4, 9-13]. Ионные жидкости (ИЖ) представляют собой соли, имеющие низкие температуры плавления и состоящие только из ионов [14]. Кроме того, ионные жидкости отвечают требованиям зеленой химии, поэтому могут стать альтернативной заменой летучих органических растворителей, используемых в хроматографии. При

введении ИЖ в состав водно-органического элюента, они обеспечивают ряд важных межмолекулярных взаимодействий как с компонентами неподвижной фазы, экранируя остаточные силанолы, так и с анализируемыми веществами, образуя с ними ионные пары, что, в свою очередь, приводит к изменению удерживания аналитов и улучшению формы хроматографических пиков [9, 12, 15].

Целью работы являлось изучение сорбции некоторых флавоноидов из водно-ацетонитрильных элюентов, содержащих имидазолиевые ионные жидкости, на октадецилсиликагеле методом ОФ ВЭЖХ.

Экспериментальная часть

Хроматографический эксперимент проводили с предельно разбавленными растворами флавоноидов, что обеспечивало работу в линейной области изотермы сорбции (области Генри). Использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Милихром А-02» с УФ-спектрофотометрическим детектором и плунжерный насос высокого давления Varian ProStar. Детектирование флавоноидов проводили при длинах волн 254, 280 и 300 нм. Использовали хроматографическую колонку Phenomenex Luna C18(2) (250x3 мм) с размером зерна 5 мкм. Температура хроматографической колонки поддерживалась с помощью твердотельного электрического термостата в диапазоне 35÷55°C ($\pm 0.3^\circ\text{C}$). Хроматографическую колонку перед началом нового эксперимента термостатировали и промывали соответствующим рабочим элюентом. Элюентами являлись водно-ацетонитрильные смеси $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ в объемном соотношении компонентов 80/20 об.% с добавками имидазолиевых ионных жидкостей в количестве 1.76 ммоль/дм³ – 1-бутил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-гексил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-децил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_{10}\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-метил-3-октилимидазолий бромид

[MC₈IM][Br] и 1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C₄dMIM][BF₄]. Элюенты подвергали процессу ультразвукового диспергирования на ультразвуковой установке марки «МЭЛФИЗ» для оптимального перемешивания водно-ацетонитрильных растворов с ИЖ для получения истинных растворов и устранения пузырьков воздуха. Объем вводимых проб флавоноидов – 20 мкл. Объемная скорость элюента – 500 мкл/мин. Свободный объем хроматографической колонки определяли по времени выхода системного пика. На основании первичных хроматографических данных рассчитывали факторы удерживания (*k*). Проводили не менее пяти параллельных хроматографических экспериментов. Погрешность расчета факторов удерживания не превышала 3%. Число теоретических тарелок рассчитывали по результатам трех экспериментов. Ошибка воспроизводимости параметров хроматографических пиков (высота и ширина на полувысоте) не превышала 3%.

В работе использовали коммерческие имидазолиевые ионные жидкости, приобретенные у фирм «Sigma-Aldrich», «abcг» и «BLDpharm». В качестве сорбатов использовали коммерческие стандарты (+)-катехин гидрата, рутина, гесперидина и кверцетина фирмы «Sigma-Aldrich». Расчёт молекулярных параметров флавоноидов проводили путём квантово-химического моделирования структур молекул с последующей дополнительной обработкой оптимизированных структур. Квантово-химическое моделирование осуществляли при помощи программного обеспечения Gaussian 09 с применением функционала плотности B3LYP и базиса CC-pVDZ и учётом растворителя – ацетонитрила, методом SCRF. В табл. 1 приведены структура и молекулярные дескрипторы исследованных флавоноидов. В табл. 2 приведены структурные формулы имидазолиевых ионных жидкостей и их некоторые физико-химические параметры.

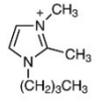
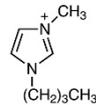
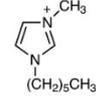
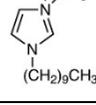
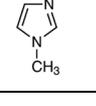
Таблица 1. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры исследуемых флавоноидов

Table 1. Structural formulas and some physicochemical parameters of the studied flavonoids

№	Название	Структурная формула	Дипольный момент (μ), Дебай	Поляризуемость (α), Бор ³	Объем (V), Å ³	Площадь (S), Å ²	LogP [16]	pK _a [16]
1	(+)-катехин гидрат		5.18	235.54	250.52	287.56	1.8	9.00
2	Рутин		6.47	484.63	499.75	547.40	-0.87	6.37
3	Гесперидин		10.15	464.99	518.96	582.22	-0.31	8.61
4	Кверцетин		6.30	286.14	243.89	271.26	2.16	6.38

Таблица 2. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры используемых ионных жидкостей

Table 2. Structural formulas and some physicochemical parameters of the ionic liquids used

Название	Структурная формула	Молекулярная масса (Mr), г/моль	Т.пл., °С [17]	Плотность (ρ), г/см ³ [17]	LogP [18]	Rotable Bond Count [18]	Heavy Atom Count [18]	E _T (30), ккал/моль ⁻¹ [19]
1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C ₄ dMIM][BF ₄]		240.05	38-40	1.20 (20°C)	5.298	3	16	49.4
1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C ₄ MIM][Br]		219.12	65-75	1.30 (25°C)	3.590	3	11	51.61
1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C ₆ MIM][Br]		247.18	-54.9	1.23	4.728	5	13	50.5
1-децил-3-метилимидазолий бромид [C ₁₀ MIM][Br]		303.28	30	1.13 (25°C)	7.004	9	17	—
1-метил-3-октилимидазолий бромид [MC ₈ IM][Br]		275.23	-61.9	1.17	5.866	7	15	—

Обсуждение результатов

Хроматографическое поведение флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ имеет свою специфику, в связи с особенностями строения их молекул. Флавоноиды достаточно гидрофобные за счет наличия ароматических структур, но и склонные к специфическим взаимодействиям с компонентами полярного элюента из-за наличия большого количества гидроксильных групп, связанных с атомами углерода ароматического кольца. Обычно для подавления их диссоциации используются добавки кислот или кислых буферов в водно-органический элюент. В настоящей работе было изучено влияние добавок имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение четырех флавоноидов различной струк-

туры. В табл. 3 приведены времена и факторы удерживания флавоноидов в изучаемых хроматографических системах.

Показано, что порядок выхода флавоноидов не меняется в зависимости от природы имидазолиевых ионных жидкостей. С увеличением температуры удерживание закономерно уменьшается для всех сорбатов во всех исследуемых системах. Рассмотрим некоторые особенности удерживания флавоноидов, являющиеся общими для всех исследуемых хроматографических систем. Для изучаемых флавоноидов не наблюдается корреляции между факторами удерживания и рассчитанными физико-химическими параметрами молекул сорбатов. На рис. 1 представлены сравнительные диаграммы для факторов удерживания флавоноидов в исследуемых хроматографических системах.

Таблица 3. Времена удерживания и факторы удерживания флавоноидов
 Table 3. Retention times and retention factors of flavonoids

ПФ H ₂ O/MeCN – 80/20	1		2		3		4	
	(+)-катехин гидрат		Рутин		Гесперидин		Кверцетин	
	t _R	k	t _R	k	t _R	k	t _R	k
35°C								
без ИЖ	3.70	0.59	6.46	1.78	13.02	4.61	30.20	12.02
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.52	0.52	5.59	1.41	10.25	3.42	24.86	9.72
[C ₄ MIM][Br]	3.53	0.52	5.07	1.19	9.96	3.29	22.38	8.65
[C ₆ MIM][Br]	3.76	0.62	6.19	1.67	11.50	3.96	27.46	10.84
[C ₁₀ MIM][Br]	3.79	0.63	7.41	2.19	10.19	3.39	34.24	13.76
[MC ₈ IM][Br]	3.81	0.64	7.59	2.27	10.93	3.71	33.38	13.39
45°C								
без ИЖ	3.43	0.48	5.36	1.31	11.07	3.77	22.75	8.81
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.33	0.44	5.09	1.19	9.03	2.89	20.40	7.79
[C ₄ MIM][Br]	3.31	0.43	4.66	1.01	8.71	2.75	18.04	6.78
[C ₆ MIM][Br]	3.48	0.50	5.52	1.38	10.07	3.34	21.77	8.38
[C ₁₀ MIM][Br]	3.52	0.52	6.55	1.82	8.94	2.85	26.57	10.45
[MC ₈ IM][Br]	3.53	0.52	6.43	1.77	9.35	3.03	24.07	9.38
55°C								
без ИЖ	3.23	0.39	4.66	1.01	9.74	3.20	17.54	6.56
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.19	0.38	4.68	1.02	8.07	2.48	16.73	6.21
[C ₄ MIM][Br]	3.16	0.36	4.20	0.81	7.61	2.28	14.00	5.03
[C ₆ MIM][Br]	3.30	0.42	4.79	1.06	8.48	2.66	15.67	5.75
[C ₁₀ MIM][Br]	3.29	0.42	5.81	1.50	7.86	2.39	20.81	7.97
[MC ₈ IM][Br]	3.33	0.44	5.59	1.41	8.13	2.50	18.38	6.92

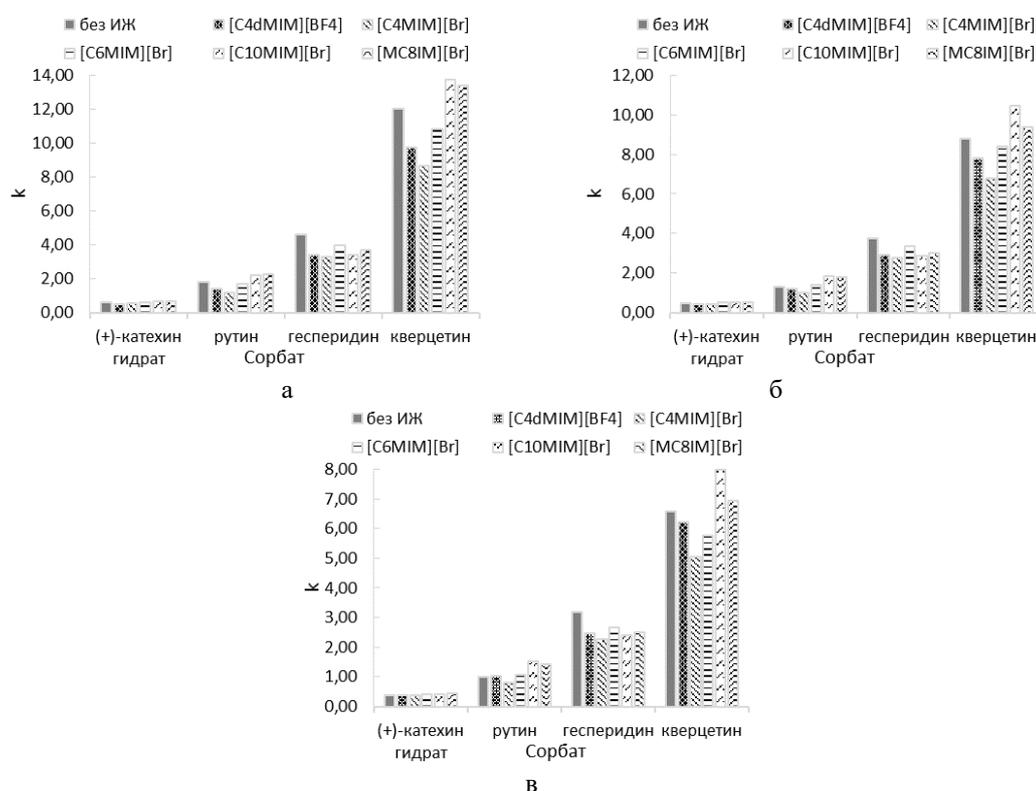


Рис. 1. Сравнительные диаграммы факторов удерживания изучаемых флавоноидов в исследуемых хроматографических системах при а – 35, б – 45 и в – 55°C.

Fig. 1. Comparative diagrams of retention factors of the studied flavonoids in the investigated chromatographic systems at a – 35, b – 45 и c – 55°C.

Показано, что кверцетин сорбируется на октадецилсиликагеле гораздо сильнее остальных флавоноидов. Катехин, характеризующийся сопоставимыми с кверцетином физико-химическими параметрами, напротив, сорбируется значительно слабее. По-видимому, это связано с тем, что в молекуле кверцетина реализуется внутримолекулярная связь между карбонильным кислородом (в положении 4) и находящимися рядом гидроксильными группами (в положениях 3 и 5). Таким образом, эти ароматические гидроксильные группы дезактивированы и не усиливают специфические взаимодействия с компонентами водно-ацетонитрильного элюента.

Значительная разница в удерживании, возможно, связана и с реализацией специфических конформаций у молекул катехина и кверцетина. Для выявления наиболее энергетически устойчивой конформации было проведено дополнительное сканирование энергии кверцетина и катехина в зависимости от угла вращения по С-С связи между ароматическими кольцами в среде ацетонитрила. Полученное энергетическое распределение приведено на рис. 2. Основываясь на распределении Больцмана для дискретных значений энергетического распределения, можно сделать вывод, что более половины молекул кверцетина находятся в планарном или почти планарном состоянии с двугранным углом менее 10° ; доля молекул с двугранным углом более 20° , составляет менее 15%. Для катехина наблюдается противоположная картина: наиболее выгодным энергетическим состоянием является двугранный угол 145° , а также чуть более лёгкое вращение относительно С-С связи. Таким образом, с применением квантово-химических расчетов показано, что молекула кверцетина является более планарной молекулой, по сравнению с молекулой катехина. Вероятно, при сорбции молекула кверцетина будет ориентирована на границе раздела фаз таким образом, что ее проникновение в слой октадецилсиликагеля будет более

глубоким, по сравнению с более конформационно подвижной и непланарной молекулой катехина. Это и может привести к усилению сорбции молекулы кверцетина на неполярном сорбенте, по сравнению с катехином. Рутин и гесперидин являются неплоскими структурами и сорбируются слабее кверцетина. Наблюдается некоторое несоответствие их удерживания относительно друг друга при сопоставлении их дипольных моментов. Гесперидин характеризуется более высоким дипольным моментом, чем рутин. Однако гесперидин сорбируется значительно сильнее рутина. По-видимому, это связано с тем, что в молекуле рутина реализуется внутримолекулярная связь между карбонильным кислородом (в положении 4) и гидроксильной группой (в положении 5), а также гидроксильной группой в углеводном заместителе (в положении 3). Таким образом, некоторые ароматические гидроксильные группы будут дезактивированы и склонность к специфическим взаимодействиям молекулы рутина с компонентами элюента несколько снижается.

Установлено, что добавление имидазолиевых ионных жидкостей по-разному влияет на удерживание флавоноидов в зависимости от их строения и физико-химических свойств молекулы. Например, для сильнополярной молекулы гесперидина при добавлении всех исследуемых имидазолиевых ИЖ удерживание снижается. Вероятно, это связано с реализацией конкурентной сорбции между гесперидином и молекулами ИЖ на межфазной границе раздела. Ионные жидкости более склонны к модифицированию поверхности октадецилсиликагеля, поэтому происходит выталкивание гесперидина в объемную фазу элюента. Для других менее полярных флавоноидов наблюдаются близкие закономерности удерживания в системах с различными по структуре имидазолиевыми ИЖ. Показано, что в системе с $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$ их удерживание возрастает, по сравнению с

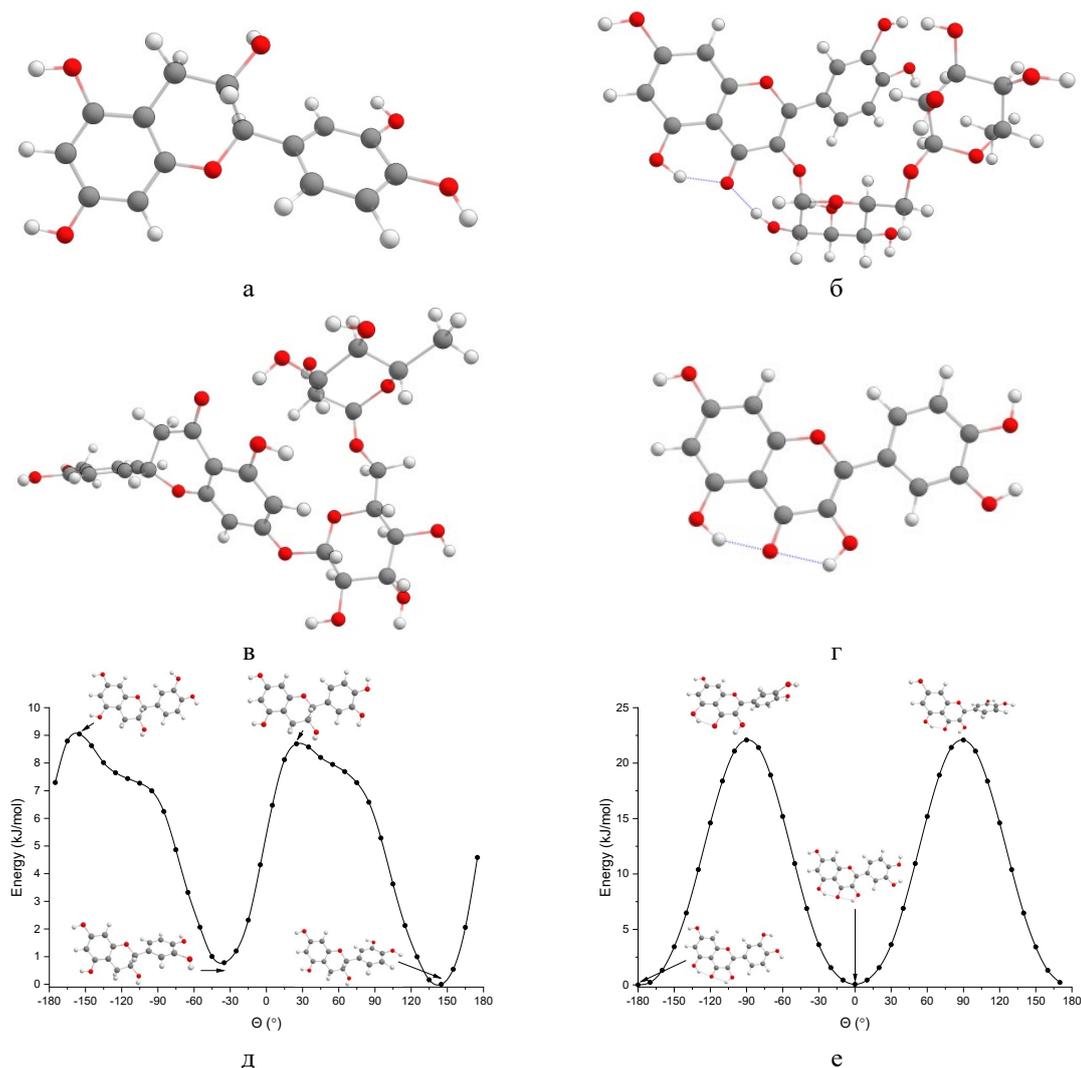


Рис. 2. Визуализация структур молекул а – катехина, б – рутина, в – гесперидина, г – кверцетина в программе Chemcraft и энергетическое распределение структурных конформаций в зависимости от угла в среде ацетонитрила: д – катехин, е – кверцетин.

Fig. 2. Visualization of the structures of a – catechin, b – rutin, c – hesperidin, d – quercetin molecules in the Chemcraft program and energy distribution of structural conformations depending on the angle in the acetonitrile medium: e – catechin, f – quercetin.

элюентом не содержащим ИЖ. Этот эффект можно объяснить с нескольких точек зрения. Во-первых, может реализовываться так называемый ион-парный механизм между молекулами флавоноидов и ионными жидкостями $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$. Образуется достаточно гидрофобная ионная пара склонная к сильным дисперсионным взаимодействиям с неполярным октадецилсиликагелем. Другие ионные жидкости, содержащие более короткие углеводородные заместители, вероятно не способны к образова-

нию ионных пар. Вероятно, в этих системах реализуется конкурентная сорбция между молекулами ИЖ и флавоноидов, что приводит к снижению факторов удерживания последних, по сравнению с системой без добавок ИЖ.

Во-вторых, достаточно гидрофобные ионные жидкости $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$, сорбируясь на октадецилсиликагеле, модифицируют его, и реализуется взаимодействие между положительным зарядом в имидазольном кольце и ароматическими фрагментами флаво-

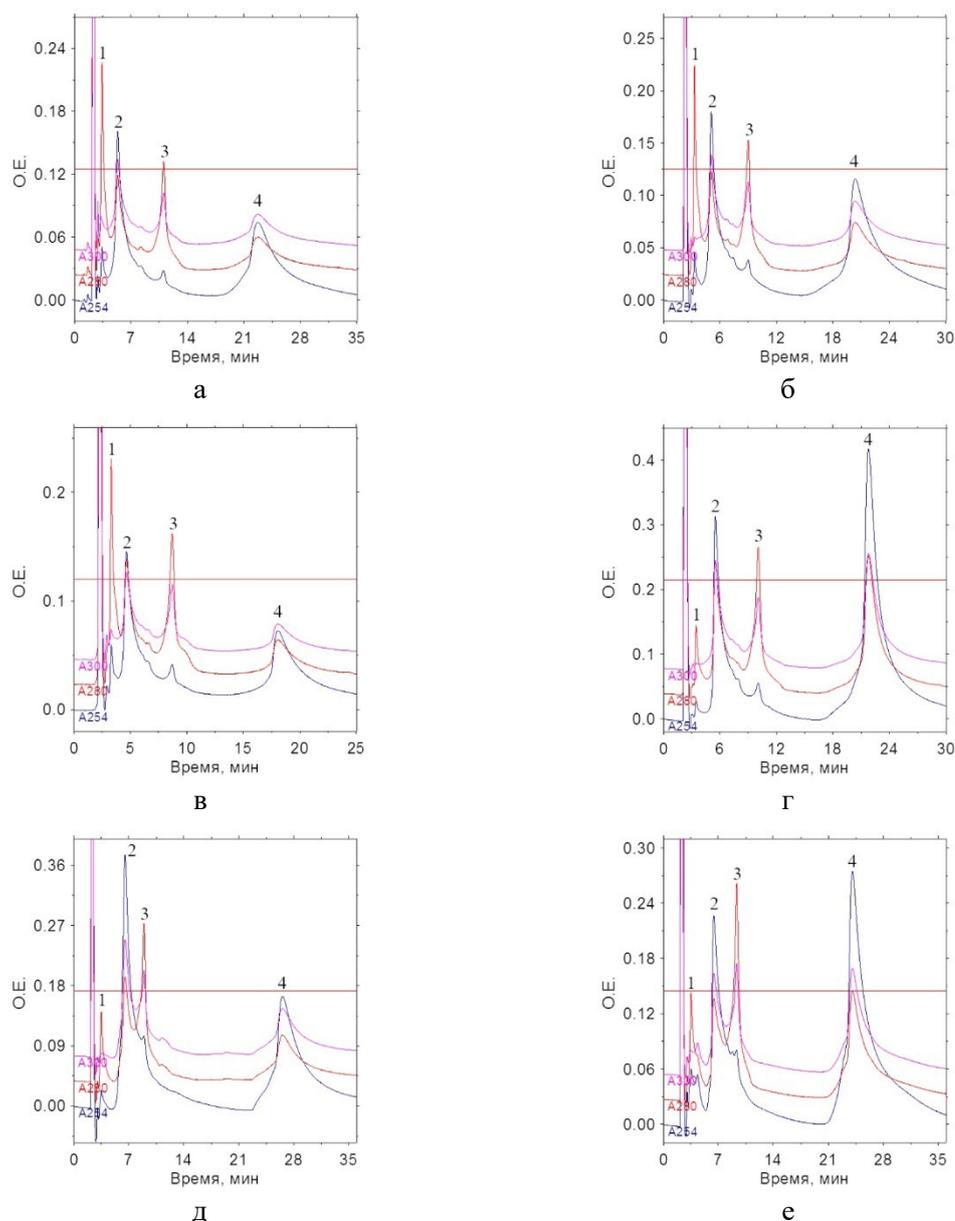


Рис. 3. Хроматограмма разделения смеси флавоноидов (вода/ацетонитрил – 80/20 об.%, температура эксперимента 45°C): а – без добавок ИЖ, б – $[C_4dMIM][BF_4]$, в – $[C_4MIM][Br]$, г – $[C_6MIM][Br]$, д – $[C_{10}MIM][Br]$, е – $[MC_8IM][Br]$ (Номера сорбатов соответствуют табл. 1).
 Fig. 3. Fig. Chromatogram of flavonoid mixture separation ($H_2O/MeCN - 80/20$ v/v, experiment temperature 45°C): а – without additives of ILs, б – $[C_4dMIM][BF_4]$, в – $[C_4MIM][Br]$, г – $[C_6MIM][Br]$, д – $[C_{10}MIM][Br]$, е – $[MC_8IM][Br]$, ф – $[MC_8IM][Br]$ (Numbers of the sorbates correspond to Table 1).

ноидов, а также частично диссоциированными гидроксильными группами. Таким образом, реализуется ионнообменный механизм удерживания молекул, приводящий к возрастанию факторов удерживания. Ионные жидкости, содержащие короткие углеводородные заместители, вероятно, не способны к моди-

фицированию октадецилсиликагеля и реализуется конкурентная сорбция их с молекулами флавоноидов на межфазной границе раздела.

В-третьих, ионные жидкости, являясь по сути солями, могут изменить ионную силу водно-ацетонитрильного элюента и таким образом повлиять на структурированность водородной сетки. Это, в свою

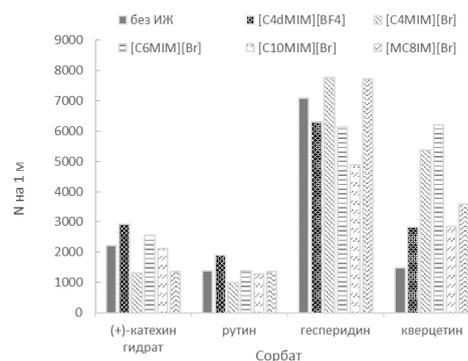


Рис. 4. Сравнительная диаграмма по величинам числа теоретических тарелок для флавоноидов в исследуемых хроматографических системах.

Fig. 4. Comparative diagram on the values of the theoretical plate number for flavonoids in the studied chromatographic systems.

очередь, может привести к усилению или ослаблению гидрофобного эффекта при сорбции флавоноидов из полярного водно-ацетонитрильного элюента. Вероятно, что ИЖ $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$ усиливают влияние гидрофобного эффекта и происходит более интенсивное выталкивание молекул флавоноидов в слой октадецилсиликагеля. В системах с другими ИЖ влияние гидрофобного эффекта несколько снижается, относительно системы без ИЖ.

При сравнении факторов удерживания рутина и кверцетина для большинства хроматографических систем выявлено, что их удерживание увеличивается при увеличении фактора гидрофобности имидазольных бромидных ИЖ, содержащихся в элюенте – $[C_4MIM][Br] > [C_6MIM][Br] > [MC_8IM][Br] > [C_{10}MIM][Br]$. Для катехина наблюдаются близкие значения факторов удерживания для всех систем, но тенденция также прослеживается. Для высокополярной молекулы гесперидина эта закономерность нарушается из-за высокой склонности этого сорбата к сильным специфическим взаимодействиям с компонентами водно-ацетонитрильного элюента. В системе с ИЖ $[C_4dMIM][BF_4]$ факторы удерживания флавоноидов выше, чем в системе с $[C_4MIM][Br]$ и в некоторых случаях сопоставимы с системой, содержащей $[C_6MIM][Br]$.

На рис. 3 представлены хроматограммы смеси флавоноидов в изучаемых хроматографических системах.

Показано, что разделение четырех флавоноидов удовлетворительное во всех рассматриваемых хроматографических системах. Для оценки влияния ионных жидкостей на эффективность процесса было рассчитано количество теоретических тарелок для каждого исследуемого флавоноида. Сравнительная диаграмма по числу теоретических тарелок в изучаемых системах представлена на рис. 4.

Показано неоднозначное влияние имидазольных ИЖ на эффективность процесса: для каждого сорбата эффект добавления ИЖ различный. Например, для кверцетина наблюдается увеличение числа теоретических тарелок и, соответственно, его хроматографических пик становится более узким. Для других флавоноидов также существуют системы с ИЖ, в которых эффективность повышается. Однако выбрать одну систему с имидазольной ИЖ, где эффективность процесса повышается для всех четырех флавоноидов не представляется возможным. Хроматографическая система с $[C_4dMIM][BF_4]$ позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.

Заключение

В работе проведено исследование по хроматографическому поведению четырех флавоноидов в системах с имидазолиевыми ионными жидкостями. Изучено влияние структуры флавоноидов на их удерживание. Показано, что удерживание на октадецилсиликагеле из водно-ацетонитрильных растворов не коррелирует с их физико-химическими параметрами и сильно зависит от планарности их молекул и взаимного расположения заместителей в структуре. Молекулы флавоноидов, содержащие углеводные заместители, удерживаются на октадецилсиликагеле гораздо слабее кверцетина. По-видимому, из-за непланарности структуры, эти молекулы на границе раздела фаз будут ориентироваться таким образом, что неспецифические взаимодействия с сорбентом будут несколько слабее для этих молекул, по сравнению с кверцетином. С применением квантово-химических расчетов показано, что молекула кверцетина является более планарной молекулой, по сравнению с молекулой катехина. Это способствует, по-видимому, различным энергетически устойчивым ориентациям этих молекул на границе раздела фаз, приводящее к существенным различиям в реализации комплекса межмолекулярных взаимодействий. Установлено, что добавление имидазолиевых ионных жидкостей по-разному влияет на удерживание флавоноидов в зависимости от их строения и физико-химических свойств молекулы. Выявлено, что удерживание рутина и кверцетина увеличивается при увеличении фактора гидрофобности имидазолиевых бромидных ИЖ, содержащихся в элюенте – $[C_4MIM][Br] > [C_6MIM][Br] >$

Список литературы

1. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически

$[MC_8IM][Br] > [C_{10}MIM][Br]$. Для катехина наблюдаются близкие значения факторов удерживания для всех систем, но тенденция также прослеживается. Для высокополярной молекулы гесперидина эта закономерность нарушается из-за высокой склонности этого сорбата к сильным специфическим взаимодействиям с компонентами водно-ацетонитрильного элюента. Сделано предположение о реализации так называемого ион-парного механизма между молекулами флавоноидов и ионными жидкостями $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$. Образуются достаточно гидрофобные ионные пары, склонные к сильным дисперсионным взаимодействиям с неполярным октадецилсиликагелем. Ионные жидкости с более короткими углеводородными заместителями не способны к образованию ионных пар с исследуемыми флавоноидами, и реализуется конкурентная сорбция между молекулами ИЖ и флавоноидов, что приводит к снижению факторов удерживания последних, по сравнению с системой без добавок ИЖ.

Показано неоднозначное влияние имидазолиевых ИЖ на эффективность хроматографического процесса; для каждого сорбата наблюдается различный эффект добавления ИЖ в водно-ацетонитрильный элюент. Хроматографическая система с $[C_4dMIM][BF_4]$ позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.

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.

активные соединения лекарственных растений // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 11-9. С. 1897-1901.



2. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R. Flavonoids: an overview // *Journal of nutritional science*. 2016. Vol. 5. P. e47.
3. Dias M.C., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity // *Molecules*. 2021. Vol. 26, Issue 17. P. 5377.
4. Ядрова А.А., Гриневич О.И., Шафигулин Р.В., Нестерова Н.В., Буланова А.В. Влияние природы ионных жидкостей на сорбцию бензимидазола и некоторых его производных из водно-ацетонитрильных растворов на октадецилсиликагеле // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2020. Т. 20, № 6. С. 674-686.
5. Сайфутдинов Б.Р., Буряк А.К. О различиях в механизме адсорбции ароматических гетероциклов из водно-ацетонитрильных растворов на силикагелях с привитыми октадецильными группами // *Коллоидный журнал*. 2019. Т. 81, № 5. С. 605-612.
6. Цивадзе А.Ю. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз. М.: ЛКИ. 2008. 544 с.
7. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Костенко М.О., Олейниц Е.Ю. О хроматографическом поведении флавоноидов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2016. Т. 16, № 3. С. 377-383.
8. Дмитриенко С.Г., Степанова А.В., Кудринская В.А., Апяри В.В. Особенности разделения флавоноидов методом обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии на колонке Luna 5u C18(2) // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2012. Т. 53, № 6. С. 369-373.
9. Tang Y., Sun A., Liu R., Zhang Y. Simultaneous determination of fangchinoline and tetrandrine in *Stephania tetrandra* S. Moore by using 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the RP-HPLC mobile phase additives // *Anal. Chim. Acta*. 2013. Vol. 767. P. 148-154.
10. Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Колобова Е.А. Ионные жидкости – модификаторы хроматографических и электрофоретических систем // *Журнал аналитической химии*. 2016. Т. 71, №. 2. С. 147-158.
11. García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J., Berthod A., Carda-Broch S. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review // *Anal. Chim. Acta*. 2015. Vol. 883. P. 1-21.
12. Axente R.E., Stan M., Chitescu C.L., Nitescu V.G., Vlasceanu A.M., Baconi D.L. Application of Ionic Liquids as Mobile Phase Additives for Simultaneous Analysis of Nicotine and Its Metabolite Cotinine in Human Plasma by HPLC–DAD // *Molecules*. 2023. Vol. 28, Issue 4. P. 1563.
13. Cui G., Yu H., Ma Y.J. Ionic liquids as mobile phase additives for determination of thiocyanate and iodide by liquid chromatography // *J. Sep. Sci.* 2019. Vol. 42, Issue 9. P. 1733-1739.
14. Welton T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis // *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99, no 8. P. 2071-2084.
15. Ruiz-Ángel M.J., Carda-Broch S., García-Álvarez-Coque M.C. Ionic liquids as mobile phase additives and immobilized on stationary phases in liquid chromatography. *Ionic Liquids in Analytical Chemistry*. Elsevier. 2022. P. 203-234.
16. DrugBank. Режим доступа: <https://go.drugbank.com/> (дата обращения: 01.08.2023).
17. Chemical Book. Режим доступа: <https://www.chemicalbook.com/> (дата обращения: 01.03.2023).
18. LabNetwork. Режим доступа: <https://www.labnetwork.com/> (дата обращения: 01.03.2023).
19. Wang X, Zhang S, Yao J, Li H. The polarity of ionic liquids: relationship between relative permittivity and spectroscopic parameters of probe // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019. Vol. 58, Issue 17. P. 7352-7361.

References

1. Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. Flavonoidy kak biologicheski aktivnye soedineniya lekarstvennyh rastenij, *Fundamental'nye issledovanija*. 2013; 11-9: 1897-1901.
2. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R., Flavonoids: an overview, *Journal of nutritional science*. 2016; 5: e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
3. Dias M.C., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S., Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity, *Molecules*. 2021; 26(17): 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
4. Yadrova A.A., Grinevich O.I., Shafigulin R.V., Nesterova N.V., Bulanova A.V. The effect of the ionic liquids' nature on sorption of the benzimidazole and some of its derivatives from aqueous-acetonitrile solutions on octadecyl silica gel, *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*. 2020; 20(6): 674-686. <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2020.20/3135>
5. Saifutdinov B.R., Buryak A.K. On the Differences in the Mechanisms of Adsorption of Aromatic Heterocycles from Water-Acetonitrile Solutions on Octadecyl-Bonded Silica Gels, *Colloid Journal*. 2019; 81(5): 555-562. <https://doi.org/10.1134/S1061933X19050107>
6. Civadze A.Ju. Ctrukturnaja samorganizacija v rastvorah i na granice razdela faz. Moskva, LKI, 2008, 544 p.
7. Deineka V.I., Deineka L.A., Blinova I.P., Kostenko M.O., Oleinitz E.Yu. About chromatographic behavior of flavonoids in reversed-phase HPLC, *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*. 2016; 16(3): 377-383.
8. Dmitrienko S.G., Stepanova A.V., Kudrinskaya V.A., Apyari V.V. Specifics of separation of flavonoids by reverse phase high performance liquid chromatography on the Luna 5u C18(2) column, *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2012; 67: 254-258. <https://doi.org/10.3103/S0027131412060041>
9. Tang Y., Sun A., Liu R., Zhang Y. Simultaneous determination of fangchinoline and tetrandrine in *Stephania tetrandra* S. Moore by using 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the RP-HPLC mobile phase additives, *Anal. Chim. Acta*. 2013; 767: 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.01.001>
10. Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kolobova E.A. Ionic liquids as modifiers of chromatographic and electrophoretic systems, *Journal of Analytical Chemistry*. 2016; 71(2): 141-152. <https://doi.org/10.1134/S1061934816020064>
11. García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J., Berthod A., Carda-Broch S. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review, *Anal. Chim. Acta*. 2015; 883: 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.042>
12. Axente R.E., Stan M., Chitescu C.L., Nitescu V.G., Vlasceanu A.M., Baconi D.L. Application of Ionic Liquids as Mobile Phase Additives for Simultaneous Analysis of Nicotine and Its Metabolite Cotinine in Human Plasma by HPLC–DAD, *Molecules*. 2023; 28(4): 1563. <https://doi.org/10.3390/molecules28041563>
13. Cui G., Yu H., Ma Y.J. Ionic liquids as mobile phase additives for determination of thiocyanate and iodide by liquid chromatography, *J. Sep. Sci.* 2019; 42(9): 1733-1739. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801277>
14. Welton T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis, *Chem. Rev.* 1999; 99(8): 2071-2084. <https://doi.org/10.1021/cr980032t>
15. Ruiz-Angel M.J., Carda-Broch S., García-Álvarez-Coque M.C. Ionic liquids as mobile phase additives and immobilized on stationary phases in liquid chromatography. *Ionic Liquids in Analytical Chemistry*. Elsevier, 2022; 203-234. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823334-4.00003-5>
16. DrugBank. Available at: <https://go.drugbank.com/> (accessed: 01 August 2023).



17. Chemical Book. Available at: <https://www.chemicalbook.com/> (accessed: 01 March 2023).

18. LabNetwork. Available at: <https://www.labnetwork.com/> (accessed: 01 March 2023).

19. Wang X, Zhang S, Yao J, Li H. The polarity of ionic liquids: relationship between relative permittivity and spectroscopic parameters of probe, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019; 58(17): 7352-7361. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00485>

Информация об авторах / Information about the authors

В.М. Разницына – аспирант кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Россия

Р.В. Шафигулин – к.х.н., доцент кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Самара, Россия

К.Ю. Виноградов – аспирант кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Россия

А.В. Буланова – д.х.н., профессор кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Самара, Россия

V.M. Raznitsyna – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: v_raznitsyna@mail.ru

R.V. Shafigulin – Dr.Sci (Chemistry), associate Professor of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: shafiro@mail.ru

K.Yu. Vinogradov – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: winyur@yandex.ru

A.V. Bulanova – Dr.Sci (Chemistry), professor of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: av.bul@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 24.04.2023; одобрена после рецензирования 11.08.2023; принята к публикации 16.08.2023.

The article was submitted 24.04.2023; approved after reviewing 11.08.2023; accepted for publication 16.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543; 543.38; 543.054; 537.622

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11569

Применение магнитного сорбента на основе гумата в сочетании с ГХ-МС для определения фенольных ксеноэстрогенов в донных отложениях

Александр Сергеевич Губин¹,

Павел Тихонович Суханов^{1✉}, Алексей Алексеевич Кушнир¹,

Хидмет Сафарович Шихалиев², Михаил Андреевич Потапов²

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

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. Сорбент с магнитными свойствами, функционализированный гуматами, в сочетании с газовой хроматографией – масс-спектрометрией (ГХ-МС) предложен для определения фенольных ксеноэстрогенов (ЕД) в донных отложениях. В качестве объектов исследования выбраны ЕД – октилфенол (ОР), нонилфенол (НР), бисфенол А (ВРА). Вместе с ЕД изучено распределение эстрогена естественного происхождения – 17β-эстрадиола (Е2). Предварительно ЕД извлекали из донных отложений гексаном при кратковременном озвучивании ультразвуком. Степень извлечения компонентов составила 75-89%. Сорбционное концентрирование проводили в динамических условиях: сорбент массой 0.5 г помещали в колонку из боросиликатного стекла, с двух сторон которой размещали магниты для иммобилизации сорбента. Гексановый экстракт пропускали через колонку, заполненную магнитным сорбентом на основе гуматов. Затем аналиты десорбировали 1 см³ метанола и проводили их дериватизацию проводили смесью N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида и триметилхлорсилана.

Аналитические характеристики способа определения устанавливали на примере модельных образцов донных отложений, отобранных в фоновой местности с минимальным антропогенным воздействием. Предел определения ЕД составил 30-60 нг/кг (сухой массы). В реальных объектах чувствительность способа снижается в 3-4 раза за счет матричных эффектов, обусловленных присутствием нефтепродуктов в водах. Проведен мониторинг содержания ЕД в донных отложениях в месте сброса сточных вод в р. Дон у г. Воронежа, а также на Черноморском побережье Кавказа (район г. Туапсе и пос. Ольгинка). Максимальные концентрации ОР, НР, ВРА и Е2 в донных отложениях установлены в районе порта г. Туапсе, где они составили 5.7, 8.1, 6.2 и 0.9 мкг/кг соответственно.

Ключевые слова: магнитная твердофазная экстракция, фенольные ксеноэстрогены, гуматы, бисфенол А, октилфенол, нонилфенол, 17β-эстрадиол, определение, донные отложения.

Для цитирования: Губин А.С., Суханов П.Т., Кушнир А.А., Шихалиев Х.С., Потапов М.А. Применение магнитного сорбента на основе гумата в сочетании с ГХ-МС для определения фенольных ксеноэстрогенов в донных отложениях // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 606-619. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11569>

Original article

Application of a magnetic sorbent based on humate in combination with GC-MS for the determination of phenolic xenoestrogens in bottom sediments

Alexander S. Gubin¹, Pavel T. Sukhanov^{1✉}, Alexey A. Kushnir¹,

Khidmet S. Shikhaliev², Mikhail A. Potapov²

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

²Voronezh State University, Voronezh, Russia



Abstract. A sorbent with magnetic properties, functionalized with humates, in combination with gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) was proposed for the determination of phenolic xenoestrogens (ED) in bottom sediments. The following ED were chosen as objects of the study: octylphenol (OP), nonylphenol (NP), bisphenol A (BPA). Together with ED, the distribution of the naturally occurring estrogen, 17 β -estradiol (E2), was studied. Previously, ED was extracted from bottom sediments with hexane under short-term sonication with ultrasound. The degree of component extraction was 75-89%. Sorption concentration was carried out under dynamic conditions: a sorbent weighing 0.5 g was placed in a borosilicate glass column, on both sides of which magnets were placed to immobilize the sorbent. The hexane extract was passed through a column filled with a magnetic sorbent based on humates. The analytes were then desorbed with 1 cm³ methanol and their derivatization was carried out with a mixture of N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide and trimethylchlorosilane.

The analytical characteristics of the determination method were established using model samples of bottom sediments selected in a background area with minimal anthropogenic impact. The determination limit of ED was 30-60 ng/kg (dry weight). In real objects, the sensitivity of the method was reduced by 3-4 times due to matrix effects caused by the presence of petroleum products in waters. The monitoring of ED content in bottom sediments at the site of waste water discharge into the River Don near the city of Voronezh, as well as on the Black Sea coast of the Caucasus (area of the city of Tuapse and Olginka settlement) was carried out. The maximum concentrations of OP, NP, BPA and E2 in bottom sediments were established in the area of the port of Tuapse, where they were 5.7, 8.1, 6.2, and 0.9 μ g/kg, respectively.

Keywords: magnetic solid-phase extraction, phenolic xenoestrogens, humates, bisphenol A, octylphenol, nonylphenol, 17 β -estradiol, determination, bottom sediments.

For citation: Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev Kh.S., Potapov M.A. Application of a magnetic sorbent based on humate in combination with GC-MS for the determination of phenolic xenoestrogens in bottom sediments. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 606-619 (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11569>

Введение

Ксеноэстрогены – большая группа эндокринных дизрапторов (ЭД), содержащие фрагменты, схожие с молекулой 17 β -эстрадиола (ЭС). К ним относятся большинство алкилфенолов (АФ), фталаты, полихлорированные бифенолы [1]. Эти соединения слабо токсичны и обычно не нормируются в почве, речных, питьевых или сточных водах. В настоящее время в Российской Федерации не существует единых нормативов содержания загрязняющих веществ и смесей в донных отложениях (ДО). В некоторых странах, например, Канаде, установлена минимальная концентрация содержания АФ (1400 мкг/кг) безопасная для водных организмов [2]. Однако количество исследований, связанных с распределением ЭД в природных средах, растет в геометрической прогрессии за последние 10 лет, что обусловлено их негативным воздействием на водную биоту [3, 4].

АФ [октилфенол (ОФ), нонилфенол (НФ) и их изомеры] и бисфенол А (БФА) вызывают наибольшее беспокойство

среди исследователей в связи со своим структурным сходством с молекулой ЭС (рис. 1) [5]. Они демонстрируют эстрогенную активность, связываясь с рецепторами ЭС, что в дальнейшем приводит к феминизации мужских особей и неспособности к размножению водных организмов. Большинство таких соединений (экзогенных агентов) склонны к накоплению в гидрофобных матрицах – донных отложениях (ДО), где их концентрация обычно значительно выше, чем в воде [6]. Содержание АФ и БФА в пробах ДО, отобранных в различных частях мира, варьируется в пересчете на сухой вес от 0.7 до 3357 нг/г (табл. 1), что на три порядка больше, чем в водных средах (пробы речной, сточной воды и очистных сооружений) [12].

АФ и БФА являются сложными объектами для определения. Чувствительность многих методов ниже порога концентраций, оказывающих физиологическое воздействие. Большинство таких методов

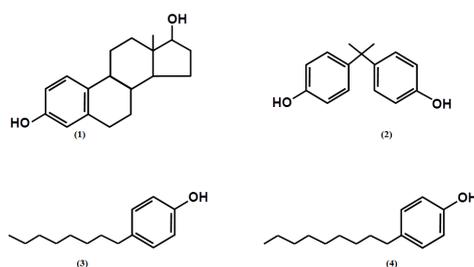


Рис. 1. Объекты исследования: 17β-эстрадиол (1), бисфенол А (2) октилфенол (3), нонилфенол (4).

Fig. 1. Research objects: octylphenol (OP), nonylphenol (NP), bisphenol A (BPA) and 17β-estradiol (E2).

Таблица 1. Содержание алкилфенолов и бисфенола А в донных отложениях разных мест отбора проб и пределы обнаружения методик (ПО)

Table 1. The content of alkylphenols and bisphenol A in bottom sediments of different sampling sites and detection limits of methods (LOD)

Вещество	Место отбора проб	Содержание в пробе (нг/г)	ПО (нг/г)	Литература
НФ БФА	Устье Жемчужной реки (провинция Гуандун, Китай)	2.21-48.52 23.64	0.27 0.28	[6]
НФ ОФ	Гданьский залив (участки Балтийского моря)	1.46 6.56	0.08	[7]
НФ ОФ	Внутренний шельф Восточно-Китайского моря	349.5-1642.8 0.7-11.1	н.д.	[8]
НФ БФА	Северное Эгейское море (Греция)	223-2695 7.2-39	н.д.	[9]
НФ	Буэнос-Айрес (Аргентина)	7-3357	н.д.	[10]
БФА ОФ НФ	р. Огун и Ибече (юго-западная часть Нигерии)	≤0.4 2.2-24.5 1.1-79.4	0.2 0.3 0.2	[11]

*в работах [6, 7] приведены пределы определения.

предложены для определения ЭД в полимерах и пищевых продуктах [13]. Определение в сложных загрязненных матрицах – ДО требует особо высокой чувствительности метода. Для достижения этих целей необходимо применять предварительное сорбционное концентрирование. В последнее время для таких целей все более часто применяют нетрадиционные сорбенты.

Одним из таких сорбентов являются гуминовые кислоты [14, 15]. Гуминовые кислоты (ГК) чаще всего применяются для извлечения и концентрирования тяжелых металлов [16]. Для выполнения

аналогичных задач в отношении органических веществ существуют ограничения, которые обусловлены проблемами десорбции веществ с сорбентов на основе ГК. Во многих полярных растворителях ГК растворимы частично. Применение гуматов (ГТ) в качестве неподвижных фаз в хроматографии снижает проблемы десорбции аналитов и растворимости в полярных растворителях [17, 18]. Как ГК, так и ГТ содержат многочисленные функциональные группы. Наибольшее их количество приходится на гидроксильные и карбоксильные, значительно меньше – лактонные и азотсодержащие группы [19].



Перспективным направлением в концентрировании является применение сорбентов с магнитными свойствами. Обычно такие сорбенты добавляют к раствору аналита, перемешивают, а затем извлекают с применением неодимового магнита. Например, такие сорбенты применяют для определения и концентрирования органических поллютантов (фенол, хлорфенолы, нитрофенолы, АФ, антибиотики), а именно: магнитные углеродные сорбенты [20, 21], гидрофобизированные [22], модифицированные силикагели (кремнеземы) [23-25], сверхсшитый полистирол [26-28] и молекулярно-импринтированные полимеры [29, 30]. Магнитные сорбенты также применяются при мониторинге фенолов в ДО. Например, в [31], получены сорбенты на основе сверхсшитого полистирола, которые применялись для концентрирования хлор-, нитрофенолов, гваякола, фенола их последующего мониторинга в воде и ДО Воронежского водохранилища (Воронеж, Россия).

В последнее время все более широкое распространение получают схемы динамического концентрирования с применением сорбентов с магнитными свойствами [32]. Для этого предлагаются различные конструкции концентрирующих патронов и способы иммобилизации в нем магнитных сорбентов [33]. Ранее нами синтезирован сорбент на основе ГТ ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-HA}$) из сапропеля и наночастиц магнетита, показавший высокую эффективность по отношению к ЭД [34].

Цель исследования – апробация способа динамического концентрирования с применением сорбента, функционализированного ГТ, в сочетании с ГХ-МС для определения ЭД в донных отложениях. В работе оценены возможности сорбента на основе доступного природного материала и наночастиц магнетита для концентрирования фенольных ксеноэстрогенов при анализе донных отложений, а также

предложен способ пробоподготовки – динамическое концентрирование с использованием магнитных свойств сорбента.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. ОФ, НФ, БФА, ЭС содержали не менее 97% основного вещества (Merck).

Приборы и реактивы. Для выделения ЭД из почв применяли гексан (ч.д.а., Экос, РФ). Десорбцию аналитов проводили метанолом (ос.ч. для ВЭЖХ, Экросхим, РФ). Перемешивание осуществляли верхнеприводной мешалкой US-2200A (Россия). Озвучивание экстрактов проводили в ультразвуковой ванне Branson 1510E MTH (Швейцария). Промывку стендовой установки для концентрирования проводили растворами соляной кислоты и гидроксида натрия (ч.д.а., Ленреактив, РФ). Для дериватизации аналитов перед ГХ-МС использовали раствор бис(триметилсилил)трифторацетамид-N,O) и триметилхлорсилана БСТФА, 99:1, об. (Sigma-Aldrich).

Синтез сорбента на основе гумата ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-HA}$). На первой стадии синтеза сорбента наночастицы Fe_3O_4 покрывали оболочкой SiO_2 с применением тетраэтоксисилана. Далее модифицировали поверхность NH_2 -группами. Для этого применяли 3-аминопропилтриэтоксисилан (APTES). Гуминовые кислоты, выделенные из сапропеля, обрабатывали тионилхлоридом. Полученные гумилхлориды перемешивали в течение 12 ч при 60°C с наночастицами магнетита, покрытыми аминогруппами после обработки APTES, в диметилформамиде. Размеры частиц $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-HA}$ составляли 218-302 нм, размер магнитного ядра в среднем 14 нм, намагниченность насыщения – 35 э.м.е./г. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-HA}$ характеризуется высокими степенями извлечения (87-95%) алкилфенолов, БФА и ЭС, при

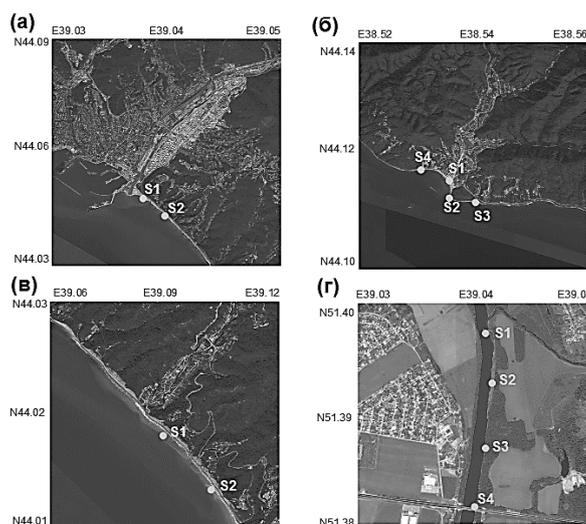


Рис. 2. Карты расположения точек отбора проб: г. Туапсе (а), пос. Ольгинка (б), ст. Шепси (в), р. Дон (сброс очистных сооружений) (г).

Fig. 2. Maps of the location of sampling points: Tuapse (a), Olginka settlement (b), Shepsi station (v), River Don (waste water discharge of purification plant) (d).

этом достигаются коэффициенты концентрирования в диапазоне 1550-1815. Более подробно синтез сорбента и его свойства изложены в работе [34]. Свойства гуминовых кислот, примененных для синтеза, приведены в работе [35].

Отбор проб и пробоподготовка. Пробы ДО отбирали на р. Дон и Черноморском побережье Кавказа (ЧПК). На р. Дон точки отбора проб располагались вблизи сброса вод правобережных очистных сооружений на удалении 50, 200, 500 и 900 м от точки сброса. На ЧПК пробы отбирали у впадения в Черное море р. Ту (пос. Ольгинка), у впадения р. Туапсе в районе Туапсинского морского порта и у железнодорожной станции Шепси. Отбор проб ДО проводился в соответствии с ГОСТ 17.1.5.01-80 [36]. Все образцы донных отложений отбирали в зонах, где устанавливался спокойный режим течения, благоприятствующий осаждению ДО. ДО на ЧПК отбирали в местах оседания взвешенных частиц из русла реки. Для исследований отбирали ДО с глубины 0.6-0.8 м с помощью ковша Ван-Вина ($V=0.5 \text{ дм}^3$, Eijkelkamp, Нидерланды) и помещали в стеклянные банки с тефлоновыми крышками. Толщина ДО в местах отбора менее

0.5 м, поэтому послыйный отбор не проводился. Карты расположения точек отбора проб приведены на рис. 2. ДО высушивали до воздушно-сухого состояния, взвешивали навеску массой 100 г, добавляли 100 см^3 гексана и перемешивали 10 мин, затем помещали на 5 мин в ультразвуковую ванну (частота 22 кГц). Экстракт отделяли от осадка и переливали в емкость.

Подготовка модельных образцов донных отложений. Отбор проб проводили в фоновой местности, практически исключая антропогенное воздействие. ДО отбирали из оз. Тальниковое (Новохоперский заповедник). Озеро является старицей р. Хопер и не имеет связи с другими водоемами, возделываемые земли и селитебные территории находятся на расстоянии около 4.5 км. Пробоподготовку проводили также, как изложено выше. Проверку правильности определения проводили методом введено-найдено (табл. 2), добавляя метанольный раствор аналитов с известной концентрацией к навеске ДО, перемешивали их и дожидались испарения метанола. Для имитации загрязнения нефтепродуктами образцы в ДО вводили препараты ГСО 10113 («Нефтепродукты в почвах по ПНДФ 16.1.2.2.22-98

Таблица 2. Результаты определения эндокринных дизрапторов в модельных образцах методом «введено-найдено» ($n=3$, $P=0.95$).

Table 2. Results of determining ED in model samples contaminated with petroleum products using the “introduced-found” method ($n=3$, $P=0.95$).

Вещество	Введено (нг/кг)	Найдено (нг/кг)	S_r , %	R^2	Предел обнаружения (нг/кг)	Предел определения (нг/кг)	Диапазон линейности (нг/кг)
ОФ	0	—*	—	0.995	10	30	30-8000
	100	87±33	15.1				
	500	450±70	6.2				
	1000	940±120	5.1				
	5000	4800±400	3.2				
НФ	0	—	—	0.997	10	30	30-9000
	100	84±25	11.8				
	500	460±60	4.9				
	1000	950±100	4.3				
	5000	4800±300	2.4				
БФА	0	—	—	0.996	20	60	60-7000
	100	95±32	14.4				
	500	490±65	5.7				
	1000	1020±110	4.5				
	5000	5250±200	2.1				
ЭС	0	—	—	0.995	18	60	60-3000
	100	85±25	11.3				
	500	430±80	7.8				
	1000	900±100	5.3				
	5000	*	*				

*за пределами диапазона линейности градуировочного графика.

(50-150 мг/кг/ИК»)) до концентрации 150 мг/кг (табл. 3). Предварительно установили, что содержание нефтепродуктов в ДО Черноморского побережья Кавказа составляет 15-147 мг/кг, в ДО р. Дон – от 28 до 137 мкг/кг.

Концентрирование аналитов. Концентрирование проводили с применением онлайн системы (рис. 3). Для этого предложена стендовая установка, состоящая из емкости с гексановым экстрактом (Е1), из которой экстракт перистальтическим насосом перекачивали в колонку (концентрирующий патрон). С двух сторон колонки (К1) из боросиликатного стекла (диаметр 1.8 мм, длина 1 м) закреплены два неодимовых магнита (М1 и М2), которые удерживали сорбент $Fe_3O_4@SiO_2-NA$ [29]. Ранее [34] установлено, что

масса сорбента, обеспечивающего практически полное извлечение, составляет 0.5 г. Десорбцию проводили метанолом, который подавался шприцевым насосом ШН1. Для промывки стендовой установки после сорбции применяли растворы HCl, NaOH и деионизированную воду.

Определение ED методом ГХ-МС. Предварительно проводили дериватизацию аналитов 100 мкл смеси N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида и триметилхлорсилана (99:1, об.) в 100 мкл пиридина. Анализ проб проводили с применением хроматографа Agilent 7890B GC System с детектором масс Agilent 5977A MSD. Использовалась инъекция пробы объемом 1.0 мкл, деление потока 30:1. Применялась неполярная колонка:

Таблица 3. Результаты определения эндокринных дизрапторов в модельных образцах, загрязненных нефтепродуктами, методом «введено-найдено» ($n=3$, $P=0.95$).

Table 3. Results of the analysis of bottom sediments of River Don ($n=3$, $P=0.95$).

Вещество	Введено, нг/кг	Найдено, нг/кг	S_r , %	r^2	Предел обнаружения, нг/кг	Предел определения, нг/кг	Диапазон линейности, нг/кг
ОФ	0	—	-	0.996	50	150	150-8000
	100	*	*				
	500	450	8.1				
	1000	930	6.9				
	5000	5010	3.8				
НФ	0	—	-	0.997	50	150	150-9000
	100	*	*				
	500	430	7.2				
	1000	950	5.6				
	5000	4890	3.7				
БФА	0	—	-	0.995	60	180	180-9500
	100	*	*				
	500	400	7.1				
	1000	890	5.3				
	5000	4740	3.5				
ЭС	0	—	-	0.996	55	170	170-5500
	100	*	*				
	500	380	9.0				
	1000	870	6.1				
	5000	4470	4.5				

*ниже предела определения.

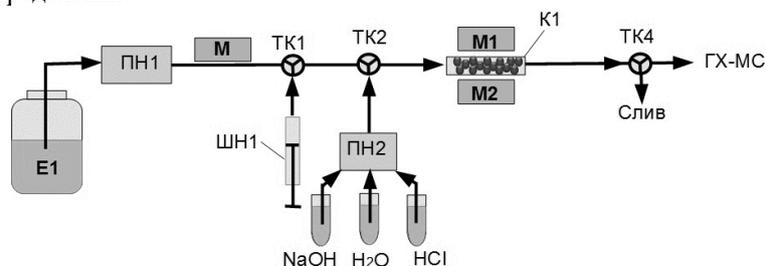


Рис. 3. Схема стандовой установки для сорбционного концентрирования ЭД с применением $Fe_3O_4@SiO_2$ -НА (обозначения на рисунке приведены в тесте).

Fig. 3. Scheme of a stand installation for sorption concentration of ED using $Fe_3O_4@SiO_2$ -НА (designations in the figure are provided in the test).

НР-5MS UI (30 м×0.250 мм×0.25 мкм), фаза – (5% фенил)-метилполисилоксан. Газ-носитель – гелий, скорость потока 1.0 см³/мин, температура узла инъекции – 300°C, температура MSD 250°C. Применялось программирование температуры: стартовая составляла 150°C и удерживалась 2 мин, затем со скоростью 10 °C/мин ее поднимали до 280°C и удерживали около 20 мин.

Применялась ионизация «электронный удар» с энергией излучения 70 эВ. Хроматограммы ГХ-МС анализа модельных образцов представлены на рис. 4.

Обсуждение результатов

ДО представляют собой сложную матрицу, в состав которой помимо продуктов

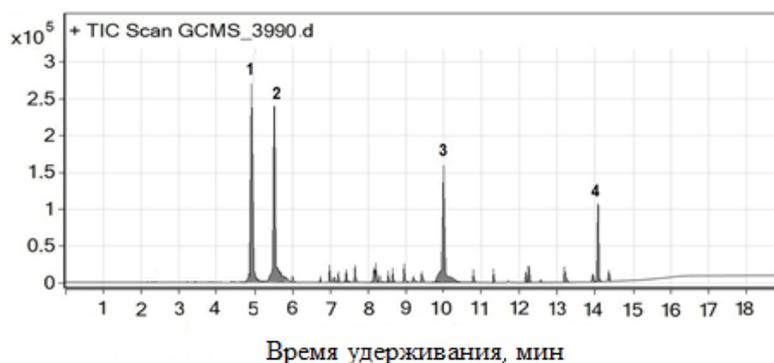


Рис. 4. Хроматограмма модельного образца донных отложений, искусственно загрязненных ЭД и нефтепродуктами: ОФ (1), НФ (2), БФА (3), ЭС (4).

Fig. 4. Chromatogram of a model sample of bottom sediments artificially contaminated with ED and petroleum products: OP (1), NP (2), BPA (3), E2 (4).

распада водной биоты и осевших взвешенных веществ, входят антропогенные загрязнения. Вблизи регионов с высокой антропогенной нагрузкой донные отложения часто сильно загрязнены нефтепродуктами и маслами. Вблизи сбросов сточных вод промышленных предприятий и городов донные отложения практически полностью покрыты практически сплошной пленкой из нефтепродуктов и масел. На поверхности формируется сплошная гидрофобная матрица, сорбирующая ЭД.

Гексан является эффективным экстрагентом ЭД, за исключением БФА в связи с его высокой полярностью. Степень извлечения БФА гексаном из водных растворов обычно не превышает 50% [29]. Для повышения степени извлечения предложено интенсифицировать процесс кратковременным воздействием ультразвука. Следует отметить, что в отличие от остальных ЭД, БФА попадает в природные воды в основном не в растворенном виде, а в виде микропластиков, которые постепенно оседают на дно, где в дальнейшем начинается постепенная их деградация в гидрофобной матрице ДО [13, 37]. Поэтому извлечение гексаном протекает значительно легче, чем из водных сред, степень извлечения варьируется от 75 до 89%.

БФА, нонил- и октилфенолы, а также ЭС, с одной стороны, характеризуются

выраженными гидрофобными свойствами ($\log P$ соответственно для НФ, ОФ, ЭС и БФА 5.9; 5.3; 4.0 и 3.4, значения рассчитывали с помощью программы Marvin-Sketch вер.22.6, Chemaxon). С другой стороны, НФ, ОФ, ЭС и БФА содержат полярные гидроксильные группы. Сорбент на основе гуматов включает гидрофобную матрицу и большое количество карбоксильных, гидроксильных, лактонных групп. Это обеспечивает высокое сродство ЭД к $Fe_3O_4@SiO_2$ -НА. При анализе ДО определению ЭД мешают нефтепродукты, которые эффективно извлекаются гексаном. Однако при пропускании через колонку их сродство к сорбенту существенно ниже, чем к растворителю, поэтому они практически не сорбируются и в большей степени вымываются из колонки. Остаточные количества нефтепродуктов в основном представлены углеводородами C_{12} - C_{37} . На хроматограмме они проявляются в виде малоинтенсивных пиков (рис. 4).

При анализе модельных сред установлены заниженные результаты определения (табл. 2-3). Особенно это проявляется в области низких концентраций, близких к пределу определения. В области более высоких концентраций показатели правильности достигают 90-105%. Для наиболее гидрофобного ЭС в широком интервале концентрациях установлены заниженные результаты, что обусловлено

Таблица 4. Результаты анализа донных отложений р. Дон ($n=3, P=0.95$).
 Table 4. Results of the analysis of bottom sediments of River Don ($n=3, P=0.95$).

Место отбора пробы, дата	Точка отбора***	Вещество	Обнаружено, мкг/кг **	$s_r, \%$
р. Дон (г. Воронеж), 11.05.2021 г.	S1	ОФ	1.8±0.4	9.9
		НФ	4.4±0.6	5.9
		БФА	5.5±0.5	3.8
		ЭС	0.6±0.2	14.9
	S2	ОФ	1.3±0.3	8.7
		НФ	2.3±0.5	7.6
		БФА	2.9±0.8	11.4
		ЭС	0.7±0.3	14.5
	S3	ОФ	*	–
		НФ	4.7±1.2	9.8
		БФА	3.1±0.7	9.6
		ЭС	0.6±0.2	11.4
	S4	ОФ	*	–
		НФ	1.8±0.5	11.2
		БФА	2.9±0.8	10.3
		ЭС	0.6±0.2	15.9

*ниже предела определения; **здесь и далее в табл. 4 и 5 приведено количество обнаруженного аналитов в пересчете на сухую массу; ***расположение точек отбора проб приведено на рис. 2.

Таблица 5. Результаты анализа донных отложений около пос. Ольгинка ($n=3, P=0.95$).
 Table 5. Results of the analysis of bottom sediments near Olginka settlement ($n=3, P=0.95$).

Место отбора пробы, дата	Точка отбора	Вещество	Обнаружено, мкг/кг	$s_r, \%$
Черное море (у впадения р. Ту, пос. Ольгинка), 30.09.2021 г.	S1	ОФ	–	–
		НФ	–	–
		БФА	–	–
		ЭС	0.9±0.2	14.5
	S2	ОФ	–	–
		НФ	*	–
		БФА	–	–
		ЭС	0.6±0.2	13.8
	S3	ОФ	–	–
		НФ	*	–
		БФА	–	–
		ЭС	0.7±0.3	16.0
	S4	ОФ	–	–
		НФ	*	–
		БФА	*	–
		ЭС	0.8±0.3	12.5

*ниже предела определения.

высоким сродством к неполярному гексану по сравнению с другими ЭД. В модельных средах (экстракция гексаном из донных отложений, отобранных в фоновой местности с минимальным антропо-

генным воздействием) пределы определения составляют 30-60 нг/кг (сухой массы). В реальных объектах за счет матричных эффектов, обусловленных в основном присутствием нефтепродуктов, пределы определения снижаются в 3-4 раза.

Таблица 6. Результаты анализа донных отложений у г. Туапсе ($n=3, P=0.95$).
 Table 6. Results of analysis of bottom sediments near the city of Tuapse ($n=3, P=0.95$).

Место отбора пробы, дата	Точка отбора	Вещество	Обнаружено, мкг/кг	$s_r, \%$
Черное море (у впадения р. Шепси, ст. Шепси), 30.09.2021 г.	S1	ОФ	4.0±1.0	9.0
		НФ	5.8±1.3	9.0
		БФА	4.9±1.2	9.1
		ЭС	0.7±0.3	12.7
	S2	ОФ	3.9±1.2	10.0
		НФ	5.1±1.2	8.7
		БФА	4.3±1.1	8.9
Черное море (у впадения р. Туапсе), 30.09.2021 г.	S1	ОФ	5.7±1.2	8.2
		НФ	8.1±1.0	5.1
		БФА	6.2±1.1	7.8
		ЭС	0.8±0.3	12.0
	S2	ОФ	5.8±1.4	9.4
		НФ	8.2±0.9	4.7
		БФА	6.3±1.0	6.2
		ЭС	0.9±0.3	15.8

*ниже предела определения.

Апробация способа на реальных объектах показала, что содержание всех ЭД в большинстве точек отбора находятся на уровне детектируемых концентраций. Вблизи сброса сточных вод в р. Дон у г. Воронежа в воде установлены все ЭД (табл. 4). На удалении более 500 м от сброса концентрации ОФ ниже предела определения. Максимальные концентрации ОФ, НФ, БФА и ЭС в ДО составили 1.8, 4.4, 5.5 и 0.7 мкг/кг соответственно. В точке отбора вблизи пос. Ольгинка детектируется только ЭС (табл. 5) – вблизи их нет значимых источников эмиссии ОФ, НФ, БФА. Концентрации ЭС сопоставимы со сбросами сточных вод крупных городов, что, вероятно, обусловлено значительной эмиссией неочищенных канализационных стоков с верховьев р. Ту. В точках отбора вблизи г. Туапсе (ст. Шепси и около порта) уровни загрязненности высоки (табл. 6). Помимо стоков с верховьев р. Туапсе, наличие нефтеперерабатывающего завода, возможно, обуславливает более высокие уровни ОФ и НФ в донных отложениях. Максимальные концентрации ОФ, НФ, БФА и ЭС в

ДО составили 5.7, 8.1, 6.2 и 0.9 мкг/кг соответственно.

Заключение

Для определения фенольных ксеноэстрогенов (ЭД): ОФ, НФ, БФА и эстрогена естественного происхождения (ЭС) в ДО предложен сорбент с магнитными свойствами, функционализированный ГТ. Динамическое концентрирование в сочетании с методом ГХ-МС позволяет проводить определение ЭД в пробах ДО на уровне от сотен нг/кг до нескольких мкг/кг. Предел определения разработанного способа в 4-15 раз меньше по сравнению с известными аналогами (табл. 1). Применение магнитного сорбента позволяет иммобилизовать и фиксировать сорбент в колонке без применения химических превращений или иных технологически сложных подходов. Использование стендовой установки минимизирует операции, выполняемые вручную, что повышает точность анализа.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет из-



вестных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые

Список литературы/References

1. Dimogerontas G., Liapi C. Endocrine Disruptors (Xenoestrogens): An Overview. *Plastics in Dentistry and Estrogenicity*. Springer. 2014: 3-48. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29687-1_1

2. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. Available at: <https://ccme.ca/en/res/nonylphenol-and-its-ethoxylates-canadian-sediment-quality-guidelines-for-the-protection-of-aquatic-life-en.pdf> (accessed 10 September 2023)

3. Stahlschmidt-Allner P., Allner B., Römbke J., Knacker T. Endocrine disruptors in the aquatic environment. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 1997; 4(3): 155-162. <https://doi.org/10.1007/BF02986325>

4. Lemos M.F., van Gestel C.A., Soares A.M. Developmental toxicity of endocrine disruptors bisphenol A and vinclozolin in a terrestrial isopod. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2010; 59(2): 274-281. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9474-9>

5. Markey C.M., Michaelson C.L., Sonnenschein C., Soto A.M. Alkylphenols and Bisphenol A as Environmental Estrogens. *Endocrine Disruptors – Part I. The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2001: 129-153. https://doi.org/10.1007/10690734_7

6. Chen Q., Lan Y.; Shi J., Liu W., Zhu B., Sun D., Duan S. Levels of NP and BPA in the Pearl River Estuary, China: Fluctuations with Country Policy Changes over the Past 40 Years. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2019; 16(21): Article 4100. <https://doi.org/10.3390/ijerph16214100>

7. Koniacko I., Staniszewska M., Falkowska L. Alkylphenols in Surface Sediments of the Gulf of Gdansk (Baltic Sea). *Water Air Soil Pollut.* 2014; 225: Article 2040. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2040-8>

8. Duan X.Y., Li Y.X., Li X.G., Zhang D.H., Gao Y. Alkylphenols in surface sediments of the Yellow Sea and East China Sea inner shelf: occurrence, distribution and fate.

могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Chemosphere. 2014; 107: 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.054>.

9. Anastasia A.; Dimitra V. Occurrence and partitioning of endocrine-disrupting compounds in the marine environment of Thermaikos Gulf, Northern Aegean Sea, Greece. *Mar. Pollut. Bull.* 2012; 64: 2443-2452. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.048>.

10. Babay P.A., Itria R.F., Ale E.E.R., Becquart E.T., Gautier E.A. Ubiquity of endocrine disruptors nonylphenol and its mono- and di-ethoxylates in freshwater, sediments, and biosolids associated with high and low density populations of Buenos Aires, Argentina. *Clean Soil Air Water* 2014; 42: 731-737. <https://doi.org/10.1002/clen.201300230>.

11. Oketola A., Fagbemigun T. Determination of nonylphenol, octylphenol and bisphenol-A in water and sediments of Two Major Rivers in Lagos, Nigeria. *J. Environ. Protect.* 2013; 4(7A): 38-45. <https://doi.org/10.4236/jep.2013.47A005>.

12. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev Kh.S., Potapov M.A. Application of magnetic sorbents modified with molecular imprinted polymers for screening of phenolic xenoestrogens. *Analitika i kontrol' [Analytics and Control]*. 2023; 27(1): 32-41. <https://doi.org/10.15826/analitika.2023.27.1.003> (In Russ.)

13. Rudakov Ya.O., Selemenev V.F., Shelekhova N.V., Rudakov O.B., Khorokhordin A.M. Gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of free bisphenol A in ethanol extracts. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2023; 23(1): 6-17. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/10989> (In Russ.)

14. Zhakina A. Kh., Arnt O.V., Vassilets Ye.P., Shur V.Ya., Volegov A.S. Magnetoactive compound based on humic acid and magnetite as a sorbent for heavy metals. *Russ. J. Appl. Chem.* 2020; 93(9): 1366-



1371. <https://doi.org/10.1134/S1070427220090086>

15. Faisal. A.A.H., Abdul-Kareem M.B., Mohammed A.K., Ghfar A.A. Novel sorbent of sand coated with humic acid-iron oxide nanoparticles for elimination of copper and cadmium ions from contaminated water. *J. Polym. Environ.* 2021; 29(11): 3618-3635. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02132-3>

16. Zherebtsov S.I., Malyshenko N.V., Votolin K.S., Ismagilov Z.R. Sorption of metal cations by lignite and humic acids. *Coke Chem.* 2020; 63(3): 142-148. <https://doi.org/10.3103/s1068364x20030096>

17. Topkafa M., Ayyildiz H.F., Memon F.N., Kara H. New potential humic acid stationary phase toward drug components: Development of a chemometric-assisted RP-HPLC method for the determination of paracetamol and caffeine in tablet formulations. *J. Sep. Sci.* 2016; 39 (13): 2451-2458. <https://doi.org/10.1002/jssc.201600045>

18. Hasan N. Surface charge engineering of nitric oxide-releasing polymeric nanoparticles: Adhesion and antibiofilm efficacy against wound infection associated MRSA biofilm in db/db mice. *J. Proteomics. Bioinform.* 2017; 10(12). <https://doi.org/10.4172/0974-276x-c1-110>

19. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Slavinskaya G.V., Drozdova N.V. Pigments of food production (melanoidins). *Moscow: Delhi Print.* 2008: 246 p. (In Russ.)

20. 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. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2023; 23(3): 395-404. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11319> (In Russ.)

21. Rodinkov O, Postnov V, Spivakovskiy V, Znamenskaya E, Zheludovskaya A, Nesterenko P. preconcentration of volatile organic compounds on carbon magnetic sorbents in the analysis of air by using the configuration change of the sorbent bed dur-

ing the transition from sorption to thermodesorption GC-FID. *Separations.* 2023; 10(7): 416. <https://doi.org/10.3390/separations10070416>

22. Karsakova I.V., Frolova A.I., Tikhomirova T.I., Tsizin G.I. Determination of phenols by liquid chromatography-mass spectrometry with sorption preconcentration on magnetic hydrophobized silica. *J. Anal. Chem.* 2022; 77: 1540-1546. <https://doi.org/10.1134/S1061934822100070>

23. Pryazhnikov D.V., Kiseleva M.S., Kubrakova I.V. Surface-modified magnetic nano-sized sorbent for MTFE-HPLC-UV determination of 4-nonylphenol in remote areas. *Analitika i kontrol' [Analytics and Control].* 2015; 19(3): 220-229. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.3.006> (In Russ.)

24. Kiseleva M.S., Pryazhnikov D.V., Kubrakova I.V. Magnetic sorbent with a mesoporous shell for the simultaneous preconcentration of ecotoxicants of different nature. *J. Anal. Chem.* 2018; 73: 10-17. <https://doi.org/10.1134/S1061934818010033>

25. Karsakova I.V., Tikhomirova T.I. Magnetic adsorbent based on Fe₃O₄ nanoparticles and chemically modified silica: preparation and properties. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2018; 18(6): 846-852. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2018.18/612> (In Russ.)

26. Tolmacheva V.V., Apyari V.V., Ibragimova B.N., Kochuk E.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Y.A. A polymeric magnetic adsorbent based on Fe₃O₄ nanoparticles and hypercrosslinked polystyrene for the preconcentration of tetracycline antibiotics. *J. Anal. Chem.* 2015; 70: 1313-1321. <https://doi.org/10.1134/S1061934815110155>

27. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Sannikova N., Konopleva V., 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>



28. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Using a magnetic sorbent based on hypercrosslinked polystyrene in combination with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of chlorophenols in freshwater fish. *J. Anal. Chem.* 2023; 78(5): 582-591. <https://doi.org/10.1134/S1061934823050064>
29. Gubin A.S., Kushnir A.A., Sukhanov P.T. On-line concentration using a magnetic molecularly imprinted sorbent and GC-MS determination of bisphenol A in natural media. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2023; 23(2): 244-254. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11148> (In Russ.)
30. Gubin A.S., Kushnir A.A., Sukhanov P.T. Sorption concentration of phenols from aqueous media by magnetic molecular imprinted polymers based on N-vinylpyrrolidone. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2021; 21(3): 326-335. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2021.21/3466> (In Russ.)
31. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A., Shikhaliev Kh.S., Potapov M.A., Kovaleva E.N. Monitoring of phenols in natural waters and bottom sediments: preconcentration on a magnetic sorbent, GC-MS analysis, and weather observations. *Chem. Pap.* 2021; 75: Article 1445. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01398-6>
32. Ahmed S.F., Mofijur M., Parisa T.A., Islam N., Kusumo F., Inayat A., Le V.G., Badruddin I.A., Khan T.M.Y., Ong H.C. Progress and challenges of contaminate removal from wastewater using microalgae biomass. *Chemosphere.* 2022; 286: Article 131656. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131656>
33. Ri H.-C., Piao J., Cai L., Jin X., Piao X., Jin X., Jon C.-S., Liu L., Zhao J., Shang H.-B., Li D. A reciprocating magnetic field assisted on-line solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of trace tetracyclines in water. *Anal. Chim. Acta.* 2021; 1182: Article 338957. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338957>
34. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Magnetic sorbent modified by humate for the extraction of alkylphenols, bisphenol. *Mendeleev Commun.* 2023; 33: 285-286. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.02.044>
35. Gubin A.S., Sukhanov P.T., Kushnir A.A. Extraction of phenols from aqueous solutions by magnetic sorbents modified with humic acids. *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2019; 74: 257-264. <https://doi.org/10.3103/S0027131419050055>
36. GOST 17.1.5.01-80. Okhrana prirody. Gidrosfera. Obshchiye trebovaniya k otboru prob donnykh otlozheniy vodnykh ob'yektov dlya analiza na zagryaznennost'. Available at: <https://gost.ruscable.ru/Index/7/7884.htm> (accessed 18 September 2023)
37. Liu X., Shi H., Xie B., Dionysiou D. D., Zhao Y. Microplastics as both a sink and a source of bisphenol a in the marine Environment. *Environ Sci Technol.* 2019; 53(17): 10188-10196. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02834>

Информация об авторах / Information about the authors

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

A.S. Gubin – Ph.D., Associate Professor, Department of Technology of Organic Compounds, Polymer Processing and Technosphere Safety, VSUIT, Voronezh, Russia, e-mail: goubinne@mail.ru

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



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

Х.С. Шихалиев – заведующий кафедрой органической химии, д.х.н., профессор, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

М.А. Потапов – ведущий инженер, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

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

Kh.S. Shikhaliev – Head of the Department of Organic Chemistry, grand Ph.D (chemistry), Professor, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: Shikhl961@yandex.ru

M.A. Potapov – Lead Engineer, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: amidines@mail.ru

Статья поступила в редакцию 19.06.2023; одобрена после рецензирования 21.09.2023; принята к публикации 04.10.2023.

The article was submitted 19.06.2023; approved after reviewing 21.09.2023; accepted for publication 04.10.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.183:544.723.23

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11570

Адсорбционные свойства поверхностно-слоистого адсорбента на основе широкопористого SiO₂ и металл-органического каркасного полимера MIL-100(Cr) по отношению к летучим органическим соединениям разных классов

Кирилл Александрович Копытин[✉], Юлия Вячеславовна Мартина, Михаил Юрьевич Парийчук, Людмила Артемовна Онучак

Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Самара, Россия, kirko87@inbox.ru[✉]

Аннотация. С использованием метода обращенной газовой хроматографии проведено исследование адсорбционных и селективных свойств композиционного поверхностно-слоистого адсорбента SiO₂/MIL-100(Cr). Композит получали на основе диоксида кремния и MIL-100(Cr) – бензол-1,3,5-трикарбоксилата Cr(III), представляющего собой мезопористый металл-органический полимерный каркас (МОКП). Методом низкотемпературной адсорбции/десорбции азота определены текстурные характеристики исходного MIL-100(Cr) и композита с ним. Установлено резкое снижение удельной площади поверхности композита по сравнению с синтезированным МОКП, объясняющееся небольшим массовым содержанием последнего (15 %) относительно кремнеземного носителя. На основании экспериментальных данных рассчитаны термодинамические характеристики адсорбции различных углеводородов и хлорпроизводных метана на поверхностно-слоистом адсорбенте. Анализ удельных удерживаемых объемов и термодинамических характеристик адсорбции позволяет сделать вывод, что композиционный адсорбент проявляет смешанный механизм адсорбции. В зависимости от природы адсорбата, формы и размеров его молекулы проявляются различные типы межмолекулярных взаимодействий, а также наблюдается ситовый эффект. На примере циклогексана продемонстрирована возможность прохождения его молекул только в поры одного типа каркаса из-за несоответствия размерам окна поры. Предложено рассматривать взаимодействие молекул адсорбатов с пористой структурой MIL-100(Cr) в рамках комплексообразования «гость-хозяин» по аналогии с макроциклическими соединениями. Поверхностно-слоистый адсорбент SiO₂/MIL-100(Cr) проявил селективные свойства по отношению к изомерным алканам и аренам. Фактор разделения для изомерных октанов при 160°C составил 1.4 для пары 2,3,4-триметилпентан/2,2,4-триметилпентан и 1.5 для пары 2,3-диметилгексан/2,2,4-триметилпентан. В случае изомеров ксилола наибольшее значение фактора разделения наблюдалось для о- и м-ксилолов ($\alpha_{o/m} = 1.2$).

Ключевые слова: металл-органический каркасный полимер, газовая хроматография, поверхностно-слоистые адсорбенты, термодинамические характеристики адсорбции, разделение изомеров, комплексы «гость-хозяин».

Для цитирования: Копытин К.А., Мартина Ю.В., Парийчук М.Ю., Онучак Л.А. Адсорбционные свойства поверхностно-слоистого адсорбента на основе широкопористого SiO₂ и металл-органического каркасного полимера MIL-100(Cr) по отношению к летучим органическим соединениям разных классов // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 620-629.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11570>



Original article

Adsorption properties of a surface-layer adsorbent based on wide-pore SiO₂ and metal-organic framework polymer MIL-100(Cr) in relation to volatile organic compounds of different classes

Kirill A. Kopytin[✉], Yulia V. Martina,
Mikhail Yu. Pariychuk, Ludmila A. Onuchak

Samara National Research University, Samara, Russia, kirko87@inbox.ru[✉]

Abstract. The study of the adsorption and selective properties of the composite surface-layer adsorbent SiO₂/MIL-100(Cr) was performed using the inverse gas chromatography method. The composite was prepared on the basis of silicon dioxide and MIL-100(Cr) – benzene-1,3,5-tricarboxylate Cr(III), which is a mesoporous metal-organic coordination polymer (MOCP). The textural characteristics of the original MIL-100(Cr) and the composite with it were determined using the method of low-temperature nitrogen adsorption/desorption. A sharp decrease in the specific surface area of the composite compared to the synthesized MOCP was established, which is explained by the low mass content of the latter (15 %) relative to the silica support. Based on experimental data, the thermodynamic characteristics of the adsorption of various hydrocarbons and chlorinated methane derivatives on a surface-layer adsorbent were calculated. An analysis of the specific retention volumes and thermodynamic characteristics of adsorption demonstrated that the composite adsorbent exhibits a mixed adsorption mechanism. Depending on the nature of the adsorbate and the shape and size of its molecule, various types of intermolecular interactions appear, and a sieve effect was also observed. Using cyclohexane as an example, the possibility of the passage of its molecules only into the pores of one type of framework due to the discrepancy between the dimensions of the pore window was demonstrated. It is proposed to consider the interaction of adsorbate molecules with the porous structure of MIL-100(Cr) in the framework of “guest-host” complex formation by analogy with macrocyclic compounds. Surface layer adsorbent SiO₂/MIL-100(Cr) exhibited selective properties towards isomeric alkanes and arenes. Separation factor for isomeric octanes at 160 °C was 1.4 for the 2,3,4-trimethylpentane/2,2,4-trimethylpentane pair and 1.5 for the 2,3-dimethylhexane/2,2,4-trimethylpentane pair. In the case of xylene isomers, the highest separation factor was observed for o- and m-xylenes ($\alpha_{o/m} = 1.2$).

Keywords: metal-organic coordination polymer, gas chromatography, surface-layer adsorbents, thermodynamic characteristics of adsorption, separation of isomers, “guest-host” complexes

For citation: Kopytin K.A., Martina Yu.V., Pariychuk M.Yu., Onuchak L.A. Adsorption properties of a surface-layer adsorbent based on wide-pore SiO₂ and metal-organic framework polymer MIL-100(Cr) in relation to volatile organic compounds of different classes. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 620-629. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11570>

Введение

Получение и исследование новых материалов на основе самоорганизующихся систем является одним из передовых направлений современной химии и материаловедения [1-4]. К ним можно отнести монослои [5, 6], пленки [7, 8] и различные каркасные структуры [9-11]. Использование хиральных макроциклических соединений, обеспечивающих распознавание на молекулярном уровне, и металл-органических каркасных полимеров, имеющих разнообразную пористую структуру, позволяет получать материалы для раз-

личных отраслей науки и техники – сорбционных технологий, катализа, медицины, сенсорных технологий и т.д. Подобные структуры склонны к проявлению комплексообразования по типу «гость-хозяин» с соединениям различной природы [12]. Основная идея использования макроциклических соединений заключается в придании сорбентам изомер-селективных и энантиоселективных свойств за счет образования комплексов включения [13]. В свою очередь, металл-органические каркасные полимеры являются новым классом микро- и мезопористых материалов, обладающих большим

разнообразием структур и геометрии каналов и пор, что позволяет им находить широкое применение в сорбционных технологиях, мембранных технологиях, катализе и медицине [11, 14]. Для металл-органических каркасов проявляется поведение, свойственное для цеолитов – ситовый эффект, а также возможность образования комплексов включения, как и в случае макроциклических соединений. Одним из перспективных направлений использования металл-органических каркасов является разделение изомерных углеводородов [9, 15].

Целью исследования являлось получение поверхностно-слоистого адсорбента $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и определение его адсорбционных и селективных свойств газохроматографическим методом.

Экспериментальная часть

Для получения композиционного поверхностно-слоистого адсорбента в работе использовали бензо-1,3,5-трикарбоксилат хрома – металл-органический каркас $\text{MIL-100}(\text{Cr})$. Образец МОКП был синтезирован в лаборатории Международного научно-исследовательского центра по теоретическому материаловедению при Самарском государственном техническом университете под руководством профессора Блатова В.А. Подтверждение структуры полученного образца было проведено с помощью дифрактометра D8 Advance (Bruker), уточнение дифрактограмм проводилось с помощью программного пакета TOPAS 4.2. Текстуальные характеристики синтезированного $\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и полученного поверхностно-слоистого адсорбента определялись с помощью анализатора Quantachrome Autosorb-1.

В качестве основы для композиционного поверхностно-слоистого адсорбента ($\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$) использовали широкопористый ($d \sim 5$ мкм) кремнеземный твердый носитель Chromosorb W-NAW ($s_{\text{уд}} = 1 \div 3.5$ м²/г) зернением 60/100 меш,

на который из суспензии наносили частицы $\text{MIL-100}(\text{Cr})$. Исходный МОКП взвешивали и навеску диспергировали в хлороформе с помощью ультразвука (44 кГц) в течение 10 мин. После этого полученную суспензию приливали к навеске твердого носителя. Затем на роторном испарителе отгоняли хлороформ, а полученную сухую массу встряхивали в течение 3 часов на виброустановке. Подобный подход позволяет равномерно заполнить широкие поры частиц носителя мелкодисперсными кристаллитами МОКП и препятствует получению их механической смеси. В полученном композиционном адсорбенте массовая доля $\text{MIL-100}(\text{Cr})$ составила 15 % от массы носителя. Готовым адсорбентом наполняли стеклянную колонку длиной 1 м и диаметром 3 мм. Масса композиционного адсорбента в колонке составила 1.7594 г. Приготовленную колонку кондиционировали в токе азота в течение 5 ч при программировании температуры до 200°C для активации $\text{MIL-100}(\text{Cr})$ (удаление возможных следов хлороформа, воды и остатков тримезиновой кислоты, находящихся в пористой структуре МОКП).

Хроматографический эксперимент проводили с использованием хроматографа Хроматэк Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором. В качестве газа-носителя использовали азот. Объемную скорость газа-носителя определяли по известному методу [16]. В качестве сорбатов были выбраны органические вещества, относящиеся к линейным и разветвленным алканам, циклоалканам, алкенам, ароматическим соединениям – производным бензола, хлорпроизводным метана. Все выбранные вещества имели квалификацию х.ч.

В системе постоянного объема термодинамические характеристики адсорбции – изменение внутренней энергии (теплоту адсорбции) $-\Delta\bar{U}_1^0 = \bar{q}_{\text{dif},1}$ и величину, пропорциональную изменению эн-

тропии ΔS^* , – рассчитывали из температурных зависимостей удельных объемов удерживания V_g^T согласно уравнению:

$$\ln V_g^T = \frac{-\Delta \bar{U}_1^0}{RT} + \frac{\Delta S^*}{R}.$$

Обсуждение результатов

Анализ литературных [17-19] и экспериментальных данных позволяет отнести MIL-100(Cr) к мезопористым цеолитоподобным структурам, причем мезопоры представлены двумя типами сообщающихся полостей – диаметром $\sim 25 \text{ \AA}$ с пятиугольными окнами размером $4.8 \times 5.8 \text{ \AA}$ и диаметром $\sim 29 \text{ \AA}$ с шестиугольными окнами $8.6 \times 8.6 \text{ \AA}$ (рис. 1). Удельная площадь поверхности для синтезированного MIL-100(Cr) составила $2184 \text{ м}^2/\text{г}$ (по БЭТ), что близко к результатам, полученным другими научными группами ($\sim 2000 \text{ м}^2/\text{г}$). У поверхностно-слоистого адсорбента $\text{SiO}_2/\text{MIL-100(Cr)}$ величина удельной площади поверхности много меньше ($55 \text{ м}^2/\text{г}$) в сравнении с МОКП, что обуславливается бóльшим массовым содержанием широкопористого кремнеземного носителя с небольшими значениями порового объема и удельной площади поверхности в готовом композите. При нанесении микрокристаллитов МОКП возможно агрегирование частиц и адгезионное их закрепление в плохо продуваемых труднодоступных участках порового пространства твердого носителя, что должно затруднять диффузию молекул сорбата внутрь таких участков. Следствием этого может являться несоответствие ожидаемой и измеренной величины удельной поверхности у полученного композита $\text{SiO}_2/\text{MIL-100(Cr)}$. Кроме того, само понятие поверхности для сетчатых и

каркасных структур является весьма условным, что также затрудняет однозначную интерпретацию сравнения исходного МОКП и композита с ним.

Рассчитанные по результатам газохроматографического эксперимента термодинамические характеристики адсорбции паров органических соединений и характеристики удерживания на поверхностно-слоистом адсорбенте $\text{SiO}_2/\text{MIL-100(Cr)}$ представлены в таблице 1.

Анализ табл. 1 и рис. 2, на котором приведены температурные зависимости $\ln V_g^T$ для углеводородов различного строения с шестью атомами углерода, указывает на сильную зависимость удерживания адсорбатов на адсорбенте $\text{SiO}_2/\text{MIL-100(Cr)}$ от структуры и электронного строения их молекул. В данном случае при температурах ниже $180-190 \text{ }^\circ\text{C}$ наблюдается рост удерживания в ряду циклогексан – н-гексан – бензол – гексен-1, а при температурах выше указанной происходит инверсия выхода для н-гексана и бензола. Из рассмотренных четырех углеводородов наибольшие наклоны температурных зависимостей, свидетельствующих о бóльшем вкладе величины теплоты адсорбции в удерживание, наблюдаются для бензола, имеющего π -электронную систему, и гексена-1, обладающего помимо кратной связи небольшим дипольным моментом (0.25 D). Эти факторы позволяют реализоваться дополнительным межмолекулярным взаимодействиям кроме дисперсионного притяжения – π - π - и ориентационному взаимодействиям. При этом следует указать, что при близких линейных размерах молекул бензола и циклогексана, составляющих $\sim 5 \text{ \AA}$ (табл. 1), объем последней больше,

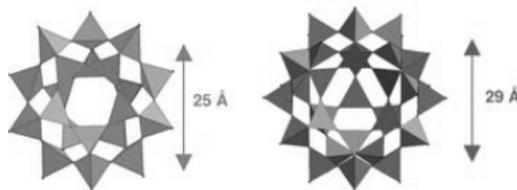


Рис. 1. Строение и характер мезопор в структуре MIL-100(Cr) [16]
Fig. 1. Structure and nature of mesopores in the structure of MIL-100(Cr) [16]

Таблица 1. Термодинамические характеристики адсорбции исследованных веществ на композиционном поверхностно-слоynom адсорбенте SiO₂/MIL-100(Cr)
 Table 1. Thermodynamic characteristics of adsorption of the studied substances on composite surface-layer adsorbent SiO₂/MIL-100(Cr)

№	Вещество	l, Å	V, Å ³	μ, D	V _g ^T , см ³ /г		-ΔŪ ⁰ , кДж/моль	-ΔS*, Дж/(моль·К)
					160 °С	200 °С		
1	Пентан	6.81	106.5	0.00	35.74	15.09	36.7±0.7	55.1±1.6
2	Гексан	8.09	124.8	0.00	135.1	50.29	42.1±1.1	56.4±2.5
3	Гептан	9.33	143.1	0.00	419.4	129.9	49.9±1.9	65.0±4.1
4	Октан	10.60	161.4	0.00	1289	337.7	57.1±2.4	72.3±5.1
5	Нонан	11.87	179.7	0.00	3912	876.5	63.7±2.6	78.3±5.7
6	2,2,4-Триметилпентан	6.81	160.2	0.00	614.2	181.0	52.1±2.4	66.8±5.1
7	2,3,4-Триметилпентан	6.88	160.2	0.00	858.0	238.3	54.6±0.5	69.9±1.0
8	2,3-Диметилгексан	8.11	160.1	0.00	933.5	259.8	54.5±0.6	68.9±1.4
9	Циклогексан	4.98	111.5	0.00	88.21	33.84	40.8±1.1	57.0±2.5
10	Гексен-1	8.05	120.6	0.25	340.2	104.5	50.3±3.9	67.7±8.1
11	Гептен-1	9.29	138.9	0.25	765.5	210.9	54.9±5.4	71.6±10.5
12	Бензол	4.97	99.17	0	154.0	49.04	48.7±1.3	70.7±2.9
13	Толуол	5.86	117.1	0.26	512.2	144.1	54.0±2.1	72.8±4.6
14	Этилбензол	7.03	135.4	0.33	1516	369.9	60.1±2.1	77.8±4.7
15	o-Ксилол	5.86	135.3	0.46	2298	490.7	65.8±3.1	87.5±6.7
16	m-Ксилол	5.85	135.6	0.26	1866	432.9	62.2±2.0	81.1±4.3
17	n-Ксилол	6.82	135.2	0	2024	454.7	63.6±1.6	83.6±3.4
18	Дихлорметан	2.84	60.90	1.36	93.12	30.10	48.1±2.7	73.4±6.0
19	Трихлорметан	2.85	74.86	1.02	222.5	70.15	49.2±0.4	68.6±0.9
20	Тетрахлорметан	2.85	89.06	0.00	253.0	89.09	44.5±1.8	56.6±4.0

что, по-видимому, препятствует ее прохождению через пятиугольные окна первого типа мезопор каркаса MIL-100(Cr). Для гексана и гексена-1, поперечный линейный размер которых оценивается ~1.8 Å, напротив, возможно движение через оба типа пор. Таким образом, на примере этих соединений можно наблюдать ситовый эффект для композита SiO₂/MIL-100(Cr).

При практически одинаковых геометрических параметрах и поляризуемости линейных алканов и алкенов (гексан, гептан и гексен, гептен, соответственно) у последних величины удельных удерживаемых объемов и термодинамические характеристики выше, что связано с перераспределением электронной плотности в их молекулах из-за наличия sp²-гибридизованных атомов углерода. Это

приводит к более сильным связям С-Н-О между атомами кислорода каркаса и алкильными группами непредельных соединений. Такое поведение в удерживании алканов и алкенов на композиционном адсорбенте с МОКП MIL-100(Cr) характеризует его как специфический адсорбент типа II по классификации А.В. Киселева [20].

На полученном композиционном адсорбенте обнаруживается экспоненциальный рост удельных объемов удерживания в гомологических рядах n-алканов и аренов (таблица 1, рис. 3), что указывает на усиление дисперсионного притяжения с ростом поляризуемости и удлинением молекулы на каждое метиленовое звено. Разветвление линейной молекулы алкана при сохранении объема приводит

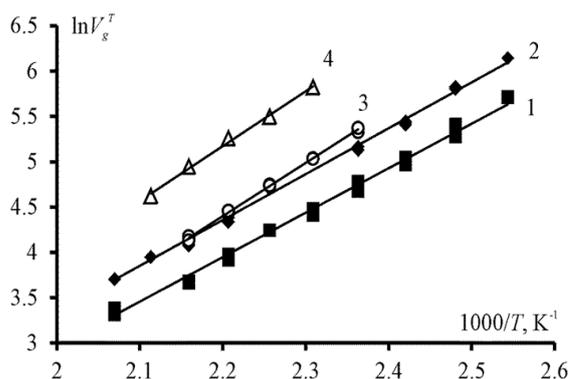


Рис. 2. Зависимости логарифма удельного объема удерживания от обратной температуры для соединений с шестью атомами углерода, 1 – циклогексан, 2 – н-гексан, 3 – бензол, 4 – гексен-1

Fig. 2. Dependence of the logarithm of the specific retention volume on the inverse temperature for compounds with six carbon atoms, 1 – cyclohexane, 2 – n-hexane, 3 – benzene, 4 – hexene-1

к снижению удерживания, что наблюдается на примере изомеров октана (рис. 3, точки 6, 7 и 8). При этом фактор разделения для пары триметилзамещенных пентанов при 160 °С составляет 1.4, а для пары 2,3-диметилгексан/2,2,4-триметилпентан – 1.5 при той же температуре. Такой характер сорбции изомеров октана, по-видимому, связан с соответствием геометрических параметров и формы их молекул размерам окон порового пространства каркаса.

При всех исследованных температурах удерживание ксилолов увеличивается в ряду м-ксилол – п-ксилол – о-ксилол (таблица 1, рис. 3), как и в случае жидкокристаллических сорбентов [21]. Причем, если в случае последних о-изомер удерживается сильнее за счет диполь-дипольного взаимодействия, а м- и п- изомеры, обладая близкими значениями давления насыщенного пара, разделяются из-за лучшего соответствия анизометричных молекул 1,4-диметилбензола упорядоченной структуре жидкокристаллического модификатора, то для каркаса МП-100(Сг) основное значение имеет строение и форма молекул адсорбата, не препятствующие прохождению

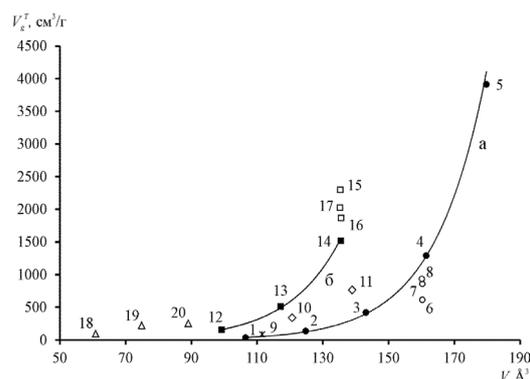


Рис. 3. Влияние объема молекул адсорбатов на удельные удерживаемые объемы, линия (а) – н-алканы, линия (б) – гомологи бензола, нумерация соответствует табл. 1

Fig. 3. The influence of the volume of adsorbate molecules on the specific retention volumes, line (a) - n-alkanes, line (b) - benzene homologues, numbering corresponds to Table 1

сквозь окна пор, и, обеспечивающие максимальное число контактов «адсорбат – органический лиганд». Значения фактора разделения при 160 °С составили для п- и м-ксилолов $\alpha_{п/м}=1.09$, для о- и м-ксилолов $\alpha_{о/м}=1.2$. С ростом температуры структурная селективность композиционного адсорбента падает.

Для хлорпроизводных метана рост удельных объемов удерживания согласуется с увеличением поляризуемости молекул, поэтому сильнее всего удерживается тетрахлорметан. Вместе с тем, как следует из табл. 1, для полярных хлороформа и хлористого метилена наблюдаются наибольшие (абсолютные) значения величин $-\Delta\bar{U}^0$ и $-\Delta S^*$ в сравнении с неполярным тетрахлорметаном, что связано с проявлением диполь-дипольного взаимодействия с каркасом МОКП, а в случае трихлорметана и с возможностью образования водородных связей с кислородом карбоксильных групп. В целом для ди- и три- хлорзамещенного метана при сравнительно небольших значениях $-\Delta\bar{U}^0$ наблюдаются сопоставимые с более объемными и крупными молекулами величины $-\Delta S^*$.

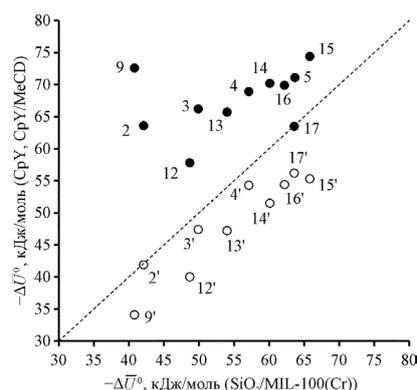


Рис. 4. Диаграмма, характеризующая различие величин $-\Delta\bar{U}^0$ углеводородов на адсорбенте $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и адсорбентах CpY (белые точки) и CpY/MeCD (черные точки), нумерация соответствует табл. 1

Fig. 4. Diagram characterizing the difference in quantities of $-\Delta\bar{U}^0$ hydrocarbons on the adsorbent $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ and adsorbents CpY (white dots) and CpY/MeCD (black dots), numbering corresponds to Table 1

Анализ полученных данных по удерживанию и термодинамическим характеристикам адсорбции для исследованных веществ на поверхностно-слоистом адсорбенте $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ указывает на смешанный механизм удерживания, связанный с адсорбцией и с проявлением размерных эффектов. Сравнение величин изменения внутренней энергии при адсорбции ряда углеводородов на изученном адсорбенте с аналогом графитированной термической сажи Carborack Y (CpY) и с системой «Carborack Y с мономолекулярным слоем перметилированного β -циклодекстрина» (CpY/MeCD) [22] указывает на схожесть механизма удерживания с комплексообразованием по типу «гость-хозяин», где в качестве хозяина можно рассматривать полости каркаса (рис. 4).

Из диаграммы следует, что для линейных алканов C6-C9 (точки 2-5), взаимодействие которых с любыми адсорбентами сводится практически только к дисперсионному притяжению (группа А по классификации А.В. Киселева), с удлинением скелета молекулы разница между энергией взаимодействия с $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и CpY/MeCD , проявляющего выраженную способность к образованию комплексов включения, уменьшается. В свою очередь для пары адсорбентов

$\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и CpY разность незначительно, но увеличивается. Поскольку с увеличением числа атомов углерода в молекуле n-алканов увеличивается ее длина и объем, то это приводит к большему соответствию ее размеров с размерами пор каркаса $\text{MIL-100}(\text{Cr})$, что проявляется и в случае макроциклических полостей перметилированного циклодекстрина. Учитывая, что поверхность CpY за счет высокой плотности атомов углерода и их малого радиуса проявляет сильные неспецифические взаимодействия, следовало бы ожидать на этом адсорбенте для углеводородов значений величины $-\Delta\bar{U}^0$ больших (по абсолютному значению), чем на $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и CpY/MeCD , однако это не так. У всех углеводородов изменение внутренней энергии при адсорбции или теплоты адсорбции на CpY меньше, чем на $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и CpY/MeCD . Исключением является н-гексан, имеющий с учетом погрешности одинаковые значения $-\Delta\bar{U}^0$ на адсорбентах $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ и CpY . Следует указать на особенности поведения циклогексана (точка 9) на рассмотренных сорбентах. Так, на плоской поверхности CpY его неплоские молекулы адсорбируются слабо, в то время как на адсорбенте с метилированным циклодекстрином образуются прочные комплексы включения за



счет соответствия формы и объема циклической молекулы макроциклической полости. В случае поверхностно-слоистого адсорбента с МОКП, как отмечалось выше, для конформационно мало подвижной молекулы циклогексана в каркасе, по-видимому, доступны только поры одного типа с окном большого размера. Малая доступность порового пространства каркаса привела к малой энергии адсорбции циклогексана на $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$.

Заключение

Проведенное исследование показало, что композиционный поверхностно-слоистый адсорбент $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ является специфическим, он чувствителен к размерам молекул сорбатов и их электронному строению, вследствие чего про-

являет селективные свойства как по отношению к изомерам алканов, так и аренов, что указывает на потенциал его использования для разделения подобных соединений. Впервые проведенное сопоставление теплот адсорбции углеводородов на $\text{SiO}_2/\text{MIL-100}(\text{Cr})$ с классическим углеродным адсорбентом (CpY) и адсорбентом с выраженной комплексообразующей способностью (CpY/MeCD) указывает на возможность образования аналогов комплексов включения по типу «гость-хозяин» в случае МОКП.

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. Maselko J., Self-organization as a new method for synthesizing smart and structured materials, *Materials Science and Engineering: C*, 1996; 4(3): 199-204. [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(96\)00146-4](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(96)00146-4)
2. Drain C.M., Self-organization of self-assembled photonic materials into functional devices: Photo-switched conductors, *PNAS*, 2002; 99(8): 5178-5182. <https://doi.org/10.1073/pnas.062635099>
3. Hosono N., Kitagawa S., Modular Design of Porous Soft Materials via Self-Organization of Metal-Organic Cages, *Acc. Chem. Res.*, 2018; 51(10): 2437-2446. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00361>
4. Wang J., Huang M.J., Baker-Sediako R.D., Kapral R., Aranson I.S., Forces that control self-organization of chemically-propelled Janus tori, *Commun. Phys.*, 2022; 5(176). <https://doi.org/10.1038/s42005-022-00953-9>
5. Kato H., Noh J., Hara M., Kawai M., An HREELS Study of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers on Au(111), *J. Phys.*

Chem. C, 2002; 106(37): 9655-9658. <https://doi.org/10.1021/jp020968c>

6. Onuchak L.A., Lapshin S.V., Kudryashov S.Yu., Akopova O.B., Adsorption and selective retention of organic compounds by graphitized thermal black modified with a nematic crown ether, *Russ. J. Phys. Chem. A.*, 2005; 79(5): 817-819

7. Innocenzi P., Mesoporous ordered films via self-assembly: trends and perspectives, *Chem. Sci.*, 2022; 13: 13264-13279. <https://doi.org/10.1039/D2SC04828K>.

8. Babutan I., Todor-Boer O., Atanase L.I., Vulpoi A., Botiz I., Self-Assembly of Block Copolymers in Thin Films Swollen-Rich in Solvent Vapors, *Polymers*, 2023; 15(8): 1900. <https://doi.org/10.3390/polym15081900>

9. Kotova A.A., Thiebaut D., Vial J., Tisot A., Serre C., Metal-organic frameworks as stationary phases for chromatography and solid phase extraction: A review, *Coord. Chem. Rev.*, 2022; 455: 214364. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214364>

10. Tian Y., Zhu G., Porous Aromatic Frameworks (PAFs), *Chem. Rev.*, 2020; 120(16): 8934-8986. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00687>



11. Freund R., Zaremba O., Arnauts G., Ameloot R., Skorupskii G., Dincă M., Bavykina A., Gascon J., Ejsmont A., Gościańska J., Kalmutzki M., Lächelt U., Ploetz E., Diercks C., Wuttke S., The Current Status of MOF and COF Applications, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021; <https://doi.org/10.1002/anie.202106259>
12. Dodziuk H. Cyclodextrins and their complexes. Weinheim, Wiley-VCH, 2006, 507 p.
13. Cserhati T., Forgacs E. Cyclodextrins in chromatography. Cambridge, RSC, 2003, 158 p.
14. Yusuf V.F., Malek N.I., Kailasa S.K., Review on Metal-Organic Framework Classification, Synthetic Approaches, and Influencing Factors: Applications in Energy, Drug Delivery, and Wastewater Treatment, *ACS Omega*, 2022; 7(49): 44507-44531. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05310>
15. Onuchak L.A., Kopytin K.A., Kuraeva Y.G., Pariichuk M.Yu., Martina Y.V., Vinogradov N.A., Alexandrov E.V. Adsorption properties and gas chromatographic application of a composite surface-layer sorbent with Terephthalic acid-based metal-organic framework, *J. Chromatogr. A*, 2022; 1679: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463373>.
16. Kudryashov S.Yu., Arutyunov Yu.I., Onuchak L.A., New methods for determining the volumetric flow rate in the column and the retention time of the unretained substance in gas chromatography, *Russ. J. Phys. Chem. A.*, 2007; 81(1) 102-107.
17. Férey G., Serre C., Mellot-Draznieks C., Millange F., Surble S., Dutour J., Margiolaki I., A Hybrid Solid with Giant Pores Prepared by a Combination of Targeted Chemistry, Simulation, and Powder Diffraction, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004; 43: 6296-6301. <https://doi.org/10.1002/anie.200460592>
18. Chen M.-L., Zhou S.-Y., Xu Z., Ding L., Cheng Y.-H., Metal-Organic Frameworks of MIL-100(Fe, Cr) and MIL-101(Cr) for Aromatic Amines Adsorption from Aqueous Solutions, *Molecules*, 2019; 24: 3718. <https://doi.org/10.3390/molecules24203718>
19. Zhong G., Liu D., Zhang J., Applications of Porous Metal-Organic Framework MIL-100(M=Cr,Fe,Sc,Al,V), *Cryst. Growth Des.*, 2018; 18: 12 7730-7744. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.8b01353>
20. Kiselev A.V. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija v adsorbicii i hromatografii. M., Vyssh. shk., 1986, 360 p. (In Russ.)
21. Tugareva D.A., Onuchak L.A., Kapralova T.S., Kuraeva Yu.G., Kuvshinova S.A., Burmistrov V.A., Sorbtsionnoe pereraspredelenie uglevodorodov i spirtov v sisteme gaz – supramolekulyarnyi zhidkii kristall 4-(2-gidroksietoksi)-4'-tsianoazoksibenzol, *Zhidkie kristally i ikh prakticheskoe ispol'zovanie*, 2015; 15(1): 81-90. (In Russ.)
22. Kudryashov S.Yu., Kopytin K.A., Pavlov M.Yu., Onuchak L.A., Kuraeva Yu.G., Adsorption of organic vapors on the carbopack y carbon adsorbent modified with heptakis-(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin, *Russ. J. Phys Chem. A.*, 2010; 84(3): 495-502.

Информация об авторах / Information about the authors

К.А. Копытин – к.х.н., доцент кафедры физической химии и хроматографии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия
Ю.В. Мартина – аспирант кафедры физической химии и хроматографии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

К.А. Kopytin – Ph. D (chemistry), assistant professor of the Department of Physical Chemistry and Chromatography Samara University, Samara, Russia
Yu.V. Martina – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography Samara University, Samara, Russia



М.Ю. Парийчук – аспирант кафедры физической химии и хроматографии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия
Л.А. Онучак – д.х.н., профессор, зав.кафедрой физической химии и хроматографии Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

M.Yu. Pariychuk – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography Samara University, Samara, Russia

L.A. Onuchak – Dr. Sci. (Chemistry), prof., Head of the Department of Physical Chemistry and Chromatography Samara University, Samara, Russia

Статья поступила в редакцию 25.04.2023; одобрена после рецензирования 23.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 25.04.2023; approved after reviewing 23.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.27.-8

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11571

Оценка возможности прогноза и регуляции сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров

Анастасия Александровна Шуба^{1✉},

Татьяна Анатольевна Кучменко^{1,2}, Руслан Умарханович Умарханов¹

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия,
an-mishina@yandex.ru[✉]

²Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук,
Москва, Россия

Аннотация. В настоящее время бурно развивается направление синтеза и применения новых соединений в качестве сорбентов, в том числе при создании сенсоров. Для обеспечения высоких эксплуатационных характеристик в сочетании с чувствительностью и селективностью используют различные подходы для создания композитных покрытий сенсоров. Изучение сорбционных процессов лежит в основе создания и разработки аналитического применения газовых сенсорных систем, в том числе на основе пьезокварцевых резонаторов. При разработке новых покрытий для дальнейшего успешного их аналитического применения актуальным является создание модели или теории прогноза их сорбционных свойств. Поэтому работа посвящена оценке возможности прогнозирования сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров на основе сорбентов различной природы.

В качестве сорбентов для формирования сорбционных пленок и композитных покрытий (в соотношении 1:1 по массе, обозначение (сорбент1+сорбент2)) на поверхности электродов пьезокварцевых резонаторов (ПКР) с базовой частотой колебания 14,0 МГц использовали вещества различной природы (хитозан, 18-краун-6, аморфный оксид кремния, ланолин, дигидрокверцетин, углеродные нанотрубки, концентрат мицеллярного казеина (КМК)). Исследование сорбции соединений на индивидуальных и композитных покрытиях сенсоров проводили в статическом режиме на приборе «МАГ-8». В качестве сорбционных свойств покрытий рассчитывали характеристики, отражающие эффективность (удельная массовая чувствительность) и кинетику (коэффициент десорбции, скорость сорбции) сорбции веществ. Для прогнозирования сорбционных свойств покрытий применяли метод проекций на латентные структуры. В результате исследований подтверждено ранее установленное влияние степени дисперсности сорбента на массовую чувствительность микровзвешивания паров веществ – с увеличением размера частиц удельная массовая чувствительность возрастает. Показано, что наблюдается увеличение удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ композитными покрытиями (КМК+стабилизирующий сорбент) при увеличении сродства стабилизирующего сорбента к парам воды. При этом с увеличением длины углеводородного радикала на C_2H_5 - в гомологических рядах карбоновых кислот и спиртов скорость возрастания удельной массовой чувствительности микровзвешивания увеличивается на порядок. Также с ростом полярности сорбируемых соединений скорость сорбции возрастает на всех композитных покрытиях (КМК+стабилизирующий сорбент). Установлено, что удельная массовая чувствительность микровзвешивания паров веществ на композитных покрытиях на основе хитозана увеличивается для паров летучих соединений с небольшим углеводородным радикалом при увеличении сродства сорбента к воде. Также с ростом полярности молекул сорбатов скорость сорбции на всех композитных покрытиях на основе хитозана уменьшается, что согласуется с изменением скорости сорбции на его индивидуальной пленке. Предложен подход для оценки сорбционных характеристик композитных покрытий на основе рассмотренных типов сорбентов с определением коэффициентов методом регрессии на латентные структуры с погрешностью 5%. Рассмотренные тенден-



ции в изменении сорбционных свойств покрытий в зависимости от различных факторов возможно использовать при создании композитных покрытий газовых пьезосенсоров с заданными сорбционными свойствами.

Ключевые слова: пьезокварцевый сенсор, сорбент, композитное покрытие, сорбция, летучие соединения, массовая чувствительность, кинетика сорбции, проекция на латентные структуры.

Благодарности: работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда № 22-76-10048.

Для цитирования: Шуба А.А., Кучменко Т.А., Умарханов Р.У. Оценка возможности прогноза и регуляции сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 630-641.* [https://doi.org/ 10.17308/sorpchrom.2023.23/11571](https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11571)

Original article

Assessment of the possibility of the prediction and regulation of sorption properties of composite coatings of piezoquartz sensors

Anastasiya A. Shuba¹✉, Tatiana A. Kuchmenko^{1,2}, Ruslan U. Umarchanov¹

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia, an-mishina@yandex.ru✉

²Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract. The synthesis and application of new compounds as sorbents, including in the creation of sensors, is rapidly developing. To ensure high performance characteristics in combination with sensitivity and selectivity, various approaches are used to create composite sensor coatings. The study of sorption processes is the basis for the creation and development of analytical application of gas sensor systems, including those based on piezoquartz resonators. When developing new coatings for their further successful analytical application, it is important to create a model or theory for predicting their sorption properties. Therefore, the study is devoted to assessing the possibility of predicting the sorption properties of composite coatings of piezoquartz sensors based on sorbents of various natures.

As sorbents for the formation of sorption films and composite coatings (in the ratio of 1: 1 by weight, designation (sorbent1+sorbent2)) on the electrode surface of piezoquartz resonators (PCR) with a base oscillation frequency of 14.0 MHz, substances of different nature (chitosan, 18-crown-6, amorphous silicon oxide, lanolin, dihydroquercetin, carbon nanotubes, micellar casein concentrate (MCC)) were used. The study of sorption of compounds on individual and composite coatings of sensors was carried out in static mode using a MAG-8 device. As the sorption properties of coatings, the characteristics reflecting the efficiency (specific mass sensitivity) and kinetics (desorption coefficient, sorption rate) of the sorption of substances were calculated. The method of projections onto latent structures was used for the prediction of the sorption properties of coatings. As a result of the research, the previously established influence of the degree of dispersion of the sorbent on the mass sensitivity of the micro-weighing of vapours of substances was confirmed, with an increase in particle size, the specific mass sensitivity increased. It has been shown that an increase in the specific mass sensitivity of the microweighing of substance vapours using composite coatings (MCC + stabilizing sorbent) was observed with an increase in the affinity of the stabilizing sorbent for water vapour. Moreover, with an increase in the length of the hydrocarbon radical by C₂H₅- in a homologous series of carboxylic acids and alcohols, the rate of increase in the specific mass sensitivity of microweighing increased by an order of magnitude. Also, with an increasing polarity of sorbed compounds, the sorption rate increased on all composite coatings (MCC + stabilizing sorbent). It has been established that the specific mass sensitivity of the microweighing of substance vapours on chitosan-based composite coatings increased for vapours of volatile compounds with a small hydrocarbon radical with increasing affinity of the sorbent for water. Also, with an increasing polarity of sorbate molecules, the rate of sorption on all composite coatings based on chitosan decreased, which is consistent with the change in the rate of sorption on its individual film. An approach was proposed for assessing the sorption characteristics of composite coatings based on the considered types of sorbents with the determination of coefficients using the regression method on latent structures with an error of 5%. The considered trends in changes in the sorption properties of coatings depending on various factors can be used to create composite coatings of gas piezosensors with specified sorption properties.

Keywords: piezoquartz sensor, sorbent, composite coating, sorption, volatile compounds, mass sensitivity, sorption kinetics, projection onto latent structures.



Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant No. 22-76-10048.

For citation: Shuba A.A., Kuchmenko T.A., Umarchanov R.U. Assessment of the possibility of the prediction and regulation of sorption properties of composite coatings of piezoquartz sensors. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 630-641. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11571>

Введение

В настоящее время бурно развивается направление синтеза и применения новых соединений в качестве сорбентов, в том числе при создании сенсоров. Для обеспечения высоких эксплуатационных характеристик в сочетании с чувствительностью и селективностью используют различные подходы для создания композитных покрытий сенсоров [1]. Изучение сорбционных процессов лежит в основе создания и разработки аналитического применения газовых сенсорных систем. Для анализа газовых сред с помощью сенсорных технологий широко применяются полупроводниковые материалы на основе оксидов, полимеров, углеродных наноматериалов и других гетероструктур [2]. Также одним из развивающихся направлений является применение химических конденсаторов [3], нановолокон из золота [4], марганца [5], оксидов металлов [6], твердотельных газовых сенсоров [7].

Цель работы – оценить возможность прогнозирования сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров на основе сорбентов различной природы.

Экспериментальная часть

В качестве сорбентов для формирования сорбционных пленок и композитных покрытий на поверхности электродов пьезокварцевых резонаторов (ПКР) с базовой частотой колебания 14.0 МГц использовали вещества различной природы, их характеристики указаны в табл. 1. Растворители сорбционных фаз (толуол, этанол, хлороформ) применяли классификации «ч.д.а» (РеаХим, Россия). Все хроматографические фазы приобретены в

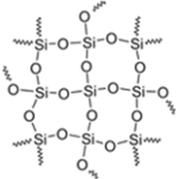
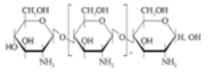
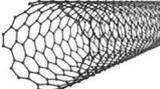
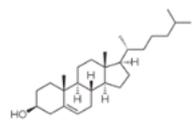
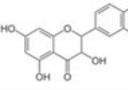
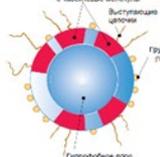
фирме «Alfa Aesar», США; УНТ представлены научной группой проф. Гражулене С.С. (Институт Особо чистых материалов РАН, Черноголовка), хитозан (ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, лаборатория проф. Варламова В.П.), концентрат мицеллярного казеина (КМК) (АО «Молвест»). Электроды ПКР предварительно обезжиривали растворителем (ацетон, хлороформ), высушивали в сушильном шкафу и далее наносили покрытия. Композитные покрытия на основе КМК и хитозана с другими сорбентами (КМК+сорбент или хитозан+сорбент) формировали из смеси растворов сорбентов в соотношении по массе 1:1 методом напыления с предварительной фильтрацией размера частиц дисперсной системы или капель раствора [12]. Массу полученных покрытий рассчитывали по уравнению Зауэрбрея [13], которая в зависимости от природы сорбента составила от 4 до 25 мкг.

В качестве тест-веществ для оценки характеристик сорбционных покрытий выбраны различные классы летучих органических соединений: спирты (этанол, бутанол, изобутанол, изопентанол), кетоны (ацетон, бутанон-2), этилацетат, ацетальдегид, карбоновые кислоты (муравьиная, уксусная, масляная), вода (ч.д.а. ООО «Реахим»).

Исследование сорбции соединений на индивидуальных и композитных покрытиях сенсоров проводили на приборе «МАГ-8» (ООО «Сенсорика – Новые Технологии», Россия). В специальном программном обеспечении фиксировали: частоту колебания пьезосенсора до сорбции вещества, изменение частоты колебания пьезосенсора при сорбции органического соединения с шагом в 1 с – хроночастотограмма, по которой определяли максимальное изменение сигнала сенсора

Таблица 1. Характеристики сорбентов модификаторов электродов пьезокварцевых резонаторов

Table 1. Characteristics of sorbents modifiers of electrodes of piezoquartz resonators

№	Наименование	Структурная формула	Растворитель	Аббревиатура	Категория
1	Аморфный оксид кремния		этанол	АОК	Мелкодисперсный, гидрофильный
2	Хитозан		водно-этанольный раствор	-	Полимерный, вязкий, гидрофильный
3	Многослойные углеродные нанотрубки		хлороформ	УНТ	Мелкодисперсный, гидрофобный
4	Ланолин (сложный состав из смеси стероидов, основной компонент - холестерин)	Основной компонент 	хлороформ	-	Полимерный, вязкий, гидрофобный
5	18-краун-6		толуол	18К6	Макромолекулярный, вязкий, гидрофильный
6	Дигидрокверцетин		этанол	ДГК	Макромолекулярный, гидрофильный
7	Концентрат мицеллярного казеина		этанол	КМК	Макромолекулярный, дисперсный, гидрофильный

(ΔF_{max} , Гц) за время сорбции, время достижения максимального сигнала от момента начала сорбции, сигналы на выбранных секундах сорбции. Для расчета сорбционных характеристик и статистического анализа данных сорбцию индивидуальных соединений на пленках сорбентов и композитных покрытий проводили не менее трех раз.

В качестве сорбционных свойств покрытий рассчитывали характеристики, отражающие эффективность и кинетику сорбции веществ. Выбранные характеристики рассчитываются по выходным кривым, регистрируемым в специальном

программном обеспечении прибора, которые в полной мере отражают особенности сорбции веществ, а именно:

1. удельная массовая чувствительность микровзвешивания паров веществ (S_m^{yD} , Гц·см³/мкг²) [11]:

$$S_m^{yD} = \Delta F_{max} / m_{пл} \cdot c, \quad (1)$$

где ΔF_{max} – максимальное изменение частоты колебания сенсора при сорбции вещества, Гц, c – концентрация паров органических соединений в ячейке детектирования, мкг/см³ (рассчитанная по уравнению Антуана); $m_{пл}$ – масса пленки, мкг;

2. коэффициент десорбции γ :

$$\gamma = \frac{\Delta F_{max}}{\Delta F_{80c}}, \quad (2)$$

где ΔF_{80c} – изменение частоты колебания сенсора на 80 с сорбции вещества, Гц;

3. Скорость сорбции до достижения максимального сигнала ν , Гц/с:

$$\nu = \frac{\Delta F_{max}}{\tau_{max}}, \quad (3)$$

где τ_{max} – время достижения максимального изменения частоты колебания сенсора за весь период измерения, Гц;

Обработку экспериментальных данных и расчет статистических параметров, метод проекций на латентные структуры проводили в программе MS Excel (настройка Chemotrix-Add-in).

Обсуждение результатов

Одним из главных факторов, определяющих сорбционные свойства покрытия газовых сенсоров, является природа сорбентов. Поэтому на примере КМК и хитозана (дисперсного и полимерного сорбентов соответственно) и композитных покрытий на их основе рассмотрим особенности их сорбционных свойств.

Влияние степени дисперсности сорбента. Рассмотрим влияние степени дисперсности или размера частиц на сорбционные свойства покрытий на примере концентрата мицеллярного казеина (рис. 1). В последнее время в сенсорике бурно развивается направление на стыке химических и биологических сенсоров, когда для создания покрытий для анализа газовых фаз используют биологически активные соединения (например, антимикробные пептиды, аптамеры) [14-15], которые достаточно устойчивы во внешней среде и, в тоже время, проявляют повышенное сродство к метаболитам в биологических объектах (бактерии, пищевые продукты, биопробы человека или животного).

Особенностью применения таких сорбентов является невозможность обработки их растворов ультразвуком, так как разрушается их нативная структура, которая может привести к деструкции мицелл. Поэтому для формирования покрытий из таких сорбентов можно применять метод напыления из водно-этанольной

суспензии с предварительным фильтрованием по размеру мицелл. Водно-этанольные растворы используют, чтобы частично гидратировать мицеллу и придать ей гидрофильные свойства при этом не допустить гидролиза и размножения патогенных микроорганизмов, которые из воздуха могут попадать в концентрат. Эксплуатационные и некоторые сорбционные характеристики покрытий на основе концентрата мицелл казеина были рассмотрены ранее [12].

Установлено, что с увеличением размера мицелл казеина в покрытии массовая удельная чувствительность микровзвешивания паров веществ возрастает. При этом возрастание тем сильнее, чем больше разветвленность в строении аналита. Так при размере мицелл менее 10 мкм массовая чувствительность веществ минимальна с повышенным сродством к веществам с изомерным углеводородным радикалом. При увеличении размера мицелл в покрытии различия в эффективности сорбции веществ увеличивается и при достижении размера 100 мкм массовая чувствительность микровзвешивания паров веществ значительно различается для многих соединений. Однако, адгезия крупных частиц к поверхности электродов ПКР меньше, следовательно, покрытие с крупными частицами будет менее устойчиво во времени. Это подтверждается экспериментальными данными эксплуатационных характеристик сенсоров с пленками из КМК [12]. Поэтому исследовали влияние различных по природе сорбентов на сорбционные свойства композитных покрытий на основе КМК. Для изучения взяты различные сорбенты, как нерастворимые в растворителях (оксид кремния, углеродные нанотрубки), так и образующие полимерные вязкоупругие пленки (ланолин, хитозан). Выбранные сорбенты также отличаются по своей полярности и способности растворяться в воде: ланолин, УНТ относятся к гидрофобным сорбентам, АОК, хитозан – к гидрофильным.

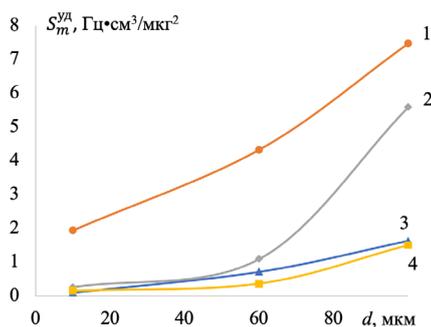


Рис. 1. Зависимость массовой удельной чувствительности покрытий (S_m^{yD}) из КМК от размера мицелл казеина (d , мкм) к парам веществ: 1 – изопентанол, 2 – этилацетат, 3 – муравьиная кислота, 4 – бутанон-2.

Fig. 1. Dependence of mass specific sensitivity of MCC coatings (S_m^{yD}) on the size of casein micelles (d , μm) to vapours of substances: 1 – isopentanol, 2 – ethyl acetate, 3 – formic acid, 4 – butanone-2.

Влияние природы сорбента при стабилизации покрытия. Влияние природы стабилизирующего сорбента (СС) оценивали по величине удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ (рис. 2).

Установлено, что наблюдается увеличение массовой удельной чувствительности микровзвешивания паров веществ при увеличении сродства стабилизирующего сорбента к парам воды. Для пленок из углеродных нанотрубок, хитозана удельная массовая чувствительность к парам воды различается незначительно, и для пленки с ланолином она минимальна, а для пленки с аморфным оксидом кремния – максимальна. При этом, если рассматривать летучие соединения с различными функциональными группами и одинаковым углеводородным радикалом, то наиболее резкое увеличение характерно для паров масляной кислоты (карбокисильная группа). Менее значительные

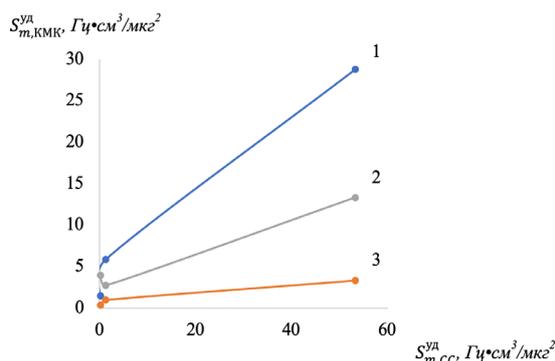


Рис. 2. Зависимость удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ (1 – масляная кислота, 2 – бутанон-2, 3 – бутанол) для композитных покрытий с КМК ($S_{m,КМК}^{yD}$) от удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров воды сенсорами с индивидуальными пленками стабилизирующих сорбентов ($S_{m,СС}^{yD}$).

Fig. 2. Dependence of the specific mass sensitivity of microweighing of vapours of substances (1 – butyric acid, 2 – butanone-2, 3 – butanol) for composite coatings with CMC ($S_{m,КМК}^{yD}$) on the specific mass sensitivity of microweighing of water vapour by sensors with individual films of stabilizing sorbents ($S_{m,СС}^{yD}$).

изменения характерны для бутанона-2 (карбонильная группа), и практически незначительное увеличение массовой чувствительности характерно для бутанола (гидроксильная группа). Аналогичная тенденция характерна и для остальных тест-веществ, однако степень возрастания различается в зависимости от функциональной группы и разветвленности углеводородного радикала (табл. 2).

Установлено, что с увеличением длины углеводородного радикала на C_2H_5 - в гомологических рядах карбоновых кислот и спиртов скорость возрастания массовой чувствительности микровзвешивания с увеличением полярности сорбента увеличивается на порядок. При этом гомологи (изобутанол, изопентанол) с разветвленным углеводородным радикалом также имеют на порядок выше скорость возрастания массовой чувствитель-

Таблица 2. Угловые коэффициенты регрессионных прямых (β) для зависимостей удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ для пленок КМК с различными по природе стабилизирующими сорбентами от удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров воды сенсорами с индивидуальными пленками стабилизирующих сорбентов

Table 2. Slope ratios of regression lines (β) for the dependences of the specific mass sensitivity of the microweighing of vapours of substances for MCC films with stabilizing sorbents of different nature on the specific mass sensitivity of the microweighing of water vapour by sensors with individual films of stabilizing sorbents

Вещество	β	Вещество	β	Вещество	B
Муравьиная кислота	0.0025	Этанол	0.0092	Изобутанол	0.186
Уксусная кислота	0.0185	Бутанол	0.0508	Изопентанол	0.539
Масляная кислота	0.479	Гексанол	0.345	Ацетон	0.0019
Ацетальдегид	0.0313	Этилацетат	0.0094	Бутанон-2	0.189

ности, что в целом соответствует тенденции изменения массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ на пленках стабилизирующих сорбентов. Аномально высокие значения скорости возрастания массовой чувствительности для ацетальдегида, по-видимому, связана, с высокой избирательностью композитной пленки КМК+АОК к его парам из-за стерической доступности карбонильной группы для взаимодействия. Следовательно, при создании композитной пленки с новыми сорбционными свойствами необходимо сочетание сорбентов различной природы и полярности (например, ланолин+КМК), при сочетании сорбентов с одинаковыми свойствами (например, АОК+КМК) могут наблюдаться аномалии при сорбции летучих соединений близкой полярности и доступности полярного фрагмента аналита для взаимодействия. Сорбционные свойства композитной пленки на основе сорбента с высокой дисперсностью будут в значительной степени определяться свойствами стабилизирующего сорбента. Увеличение гидрофильности и полярности используемого сорбента в композитном покрытии приведет к увеличению сорбционных характеристик для молекул, способных к поляризации и образованию водородных связей. Применение гидрофобных сорбентов способствует увеличению массовой чувствительности

микровзвешивания соединений, сорбирующихся преимущественно за счет гидрофобных взаимодействий.

При изучении кинетики сорбции веществ коэффициент десорбции характеризует быстроту взаимодействия вещества с сорбентом и степень десорбции вещества за время измерения, то есть фактически оценивает скорость самопроизвольной регенерации покрытия. Чем больше коэффициент десорбции, тем быстрее происходит взаимодействие и раньше начинается процесс десорбции вещества в закрытой ячейке детектирования. Значения коэффициента десорбции близкие к 1 характеризуют накопительную сорбцию вещества или достижение процесса сорбционно-десорбционного равновесия с отсутствием самопроизвольной десорбции.

Для композитных покрытий на основе КМК установлено, что коэффициент десорбции паров масляной кислоты уменьшается с увеличением коэффициента десорбции паров воды на пленках сорбентов в ряду ланолин<УНТ<хитозан<АОК (рис. 3). Следовательно, на покрытиях КМК с хитозаном и АОК наблюдается стабилизация сорбции паров масляной кислоты, что является уникальным для данных покрытий и, по-видимому, связано с высоким сорбционным сродством всех сорбентов к парам масляной кислоты. При этом для паров бутанола и бутанона-2 коэффициент десорбции растет,

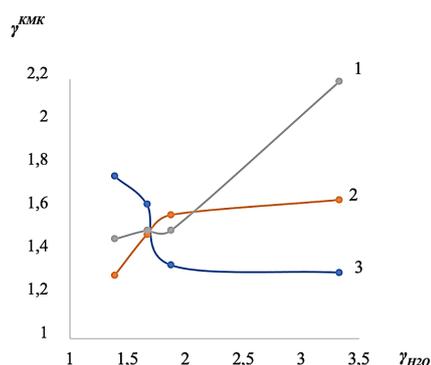


Рис. 3. Зависимость коэффициента десорбции тест-веществ (1 – бутанон-2, 2 – бутанол, 3 – масляная кислота) на композитных покрытиях с КМК ($\gamma^{КМК}$) от коэффициента десорбции паров воды (γ_{H_2O}) сенсорами с индивидуальными пленками стабилизирующих сорбентов.

Fig. 3. Dependence of the desorption coefficient of test substances (1 – butano-2, 2 – butanol, 3 – butyric acid) on composite coatings with CMC (γ^{CMC}) on the water vapour desorption coefficient (γ_{H_2O}) by sensors with individual films of stabilizing sorbents.

кроме того, для бутанона-2 рост значительный. Из этого следует, что при равной длине углеводородного радикала с ростом полярности соединения будет наблюдаться увеличение скорости самопроизвольной десорбции соединения при использовании более гидрофильного сорбента в композитном покрытии.

Другой важной кинетической характеристикой является скорость сорбции веществ на покрытиях, которая отражает природу соединения и может быть использована для расчета кинетических критериев для идентификации соединений по сигналам сенсоров. Для рассматриваемых покрытий на основе КМК рассчитанные значения скорости сорбции веществ представлены на рис. 4.

Установлено, что с ростом полярности сорбируемых соединений скорость сорбции возрастает на всех композитных покрытиях. При этом резкое увеличение

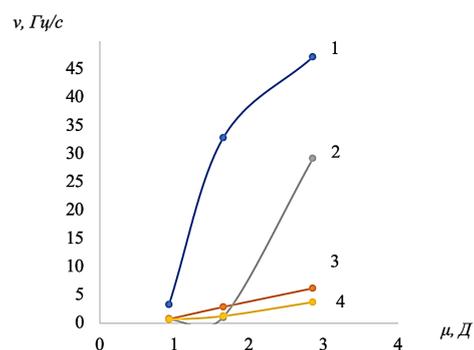


Рис. 4. Зависимость скорости сорбции (v , Гц/с) тест-веществ до достижения максимального сигнала для сенсоров с композитными покрытиями (1 – КМК+АОК, 2 – КМК+ланолин, 3 – КМК+хитозан) и индивидуальным покрытием из КМК (4) от дипольного момента (μ , Д) сорбируемых органических веществ с углеводородным радикалом C_4 .

Fig. 4. Dependence of sorption rate (v , Hz/s) of test substances until the maximum signal is achieved for sensors with composite coatings (1 – MCC+АОК, 2 – MCC+lanoлин, 3 – MCC+chitosan) and individual MCC coating (4) from the dipole moment (μ , D) of sorbed organic substances with hydrocarbon radical C_4 .

скорости сорбции на покрытиях на основе ланолина и АОК связано сонаправленным ростом скорости сорбции веществ на индивидуальных пленках сорбентов, входящих в композитное покрытие, а увеличение скорости сорбции на покрытии КМК+хитозан определяется вероятно влиянием мицелл казеина, так как на пленке хитозана скорость сорбции этих веществ уменьшается.

Влияние природы сорбента при формировании композитного покрытия из вязких сорбентов. Рассмотрим подробнее влияние взаимодействия сорбентов в композитном покрытии при использовании полимерного сорбента (хитозана) в сочетании с другими типами сорбентов на примере 18 краун-6, АОК и дигидрокверцетина. Эти сорбенты являются полярными гидрофильными соединениями, следовательно возможно взаимодействие между хитозаном и этими сорбентами с

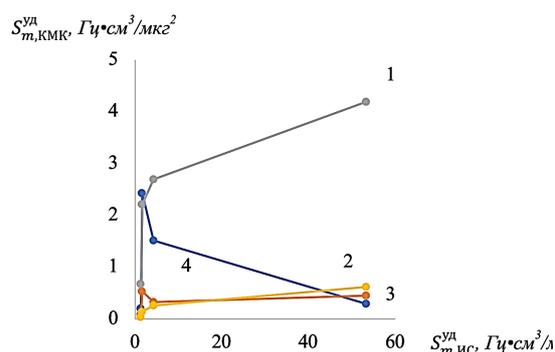


Рис. 5. Зависимость удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ (1 – уксусная кислота, 2 – этанол, 3 – бутанол, 4 – изобутанол) для композитных пленок хитозана ($S_{m,ХИТ}^{уд}$) с различными по природе сорбентами от удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров воды сенсорами с индивидуальными пленками сорбентов ($S_{m,ИС}^{уд}$).

Fig. 5. Dependence of the specific mass sensitivity of microweighing of vapours of substances (1 – acetic acid, 2 – ethanol, 3 – butanol, 4 – isobutanol) for chitosan composite films ($S_{m,ХИТ}^{уд}$) with sorbents of different nature from the specific mass sensitivity of microweighing of water vapour by sensors with individual films of sorbents ($S_{m,ИС}^{уд}$).

возникновением уникальных сорбционных свойств композитных покрытий на их основе. Результаты оценки удельной массовой чувствительности композитных покрытий, представлены на рис. 5. Установлено, что удельная массовая чувствительность микровзвешивания паров веществ на композитных покрытиях больше, чем на пленке хитозана. С ростом сродства сорбента к воде увеличивается удельная массовая чувствительность микровзвешивания паров летучих соединений с небольшим углеводородным радикалом (ацетальдегид, уксусная кислота, этанол, этилацетат) (рис. 5). При этом максимальный рост наблюдается для уксусной кислоты, что возможно связано с большей гидрофильностью карбоксильной группы по сравнению с другими функциональными группами. Для

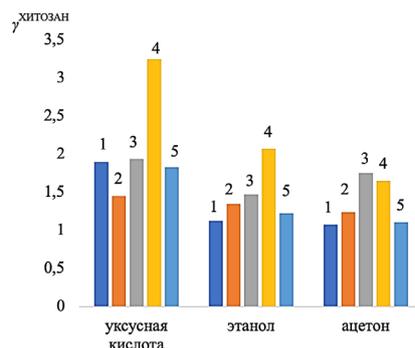


Рис. 6. Коэффициенты десорбции ($\gamma^{ХИТОЗАН}$) тест-веществ на композитных покрытиях: 1 – 18К6+хитозан, 2 – КМК+хитозан, 3 – ДГК+хитозан, 4 – ОАК+хитозан и пленке хитозана (5).

Fig. 6. Desorption coefficients ($\gamma^{ХИТОЗАН}$) of test substances on composite coatings: 1 – 18К6+chitosan, 2 – СМК+chitosan, 3 – ДНА+chitosan, 4 – УАК+chitosan and chitosan film (5).

паров масляной кислоты, и спиртов изомерного строения характерна обратная тенденция – уменьшение массовой чувствительности при увеличении гидрофильности одного из сорбентов в композитном покрытии. Для остальных изученных паров веществ, например, бутанол, характерно практически постоянная массовая чувствительность микровзвешивания композитных покрытий независимо от сродства сорбентов к воде.

При изучении кинетики сорбции веществ на композитных покрытиях на основе хитозана установлено, что коэффициенты десорбции для паров карбоновых кислот и этилацетата изменяются одинаково при изменении сорбента в композитном покрытии (рис. 6), при этом добавление КМК приводит к уменьшению коэффициента десорбции, а добавление ОАК, напротив, к его увеличению, что связано

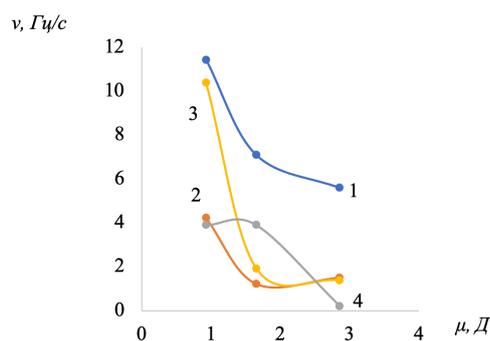


Рис. 7. Зависимость скорости сорбции (v , Гц/с) тест-веществ до достижения максимального сигнала для сенсоров с композитными покрытиями (1 – АОК+хитозан, 2 – 18К6+хитозан, 3 – ДГК+хитозан) и пленкой хитозана (4) от дипольного момента (μ , Д) сорбируемых органических веществ с углеводородным радикалом C_4 .

Fig. 7. Dependence of sorption rate (v , Hz/s) of test substances until the maximum signal is achieved for sensors with composite coatings (1 – AOC + chitosan, 2 – 18K6 + chitosan, 3 – DHA + chitosan) and chitosan film (4) from the dipole moment (μ , D) of sorbed organic substances with hydrocarbon radical C_4 .

с особенностями сорбции этих соединений на этих сорбентах. Коэффициенты десорбции на покрытия хитозан+АОК также увеличиваются при сорбции спиртов, по сравнению с коэффициентами десорбции для других покрытий, что объясняется, вероятно, сродством взаимодействия гидрофильных сорбатов на гидрофильном покрытии.

Для паров кетонов и ацетальдегида характерен одинаковый коэффициент десорбции на покрытиях 18К6+хитозан и АОК+хитозан (рис. 6), что возможно связано с электронным сопряжением карбонильной группы с центрами электронной плотности в молекуле дигидрохверцетина и ксерогеля оксида кремния. Также оценены скорости сорбции веществ на этих композитных покрытиях (рис. 7).

Установлено, что с ростом полярности молекул сорбатов скорость сорбции на всех композитных покрытиях уменьшается, что согласуется с изменением скорости сорбции на пленке хитозана, и наиболее резко падает для покрытия ДГК+хитозан, что возможно связано с взаимодействием дигидрохверцетина и хитозана с образованием внутренних ассоциатов.

Прогнозирование сорбционных характеристик композитных покрытий. Для

оценки сорбционных характеристик композитных покрытий возможно использовать линейную комбинацию сорбционных свойств индивидуальных сорбентов с поправкой на особенности взаимодействия сорбентов в покрытии и/или с аналитом при сорбции. Рассмотрим этот подход на примере расчета удельной массовой чувствительности микровзвешивания паров веществ ($S_m^{теор}$) по формуле:

$$S_m^{теор} = x_1 S_{m,1} + x_2 S_{m,2} + x_3 S_{m,1} \cdot S_{m,2} + B \quad (4)$$

где x_1, x_2, x_3 – регрессионные коэффициенты, отражающие массовые доли индивидуальных покрытий 1 и 2 в композитном покрытии (1/2), $S_{m,1(2)}$ – удельная массовая чувствительность пьезосенсоров с индивидуальными сорбентами (1 и 2) в парах вещества, B – свободный член, учитывающий возможность взаимодействия сорбентов в покрытии и его природу. Значения регрессионных коэффициентов можно найти различными методами. Мы использовали метод регрессии на латентные структуры (РЛС). Результаты определения регрессионных коэффициентов для некоторых изучаемых покрытий представлены в табл. 3. Ошибка прогноза массовой чувствительности составляет менее 5%. Данные модели могут

Таблица 3. Параметры регрессионных моделей прогноза сорбционных свойств композитных покрытий

Table 3. Parameters of regression models for predicting the sorption properties of composite coatings

Покрытие (1+2)	Регрессионные коэффициенты для первого фактора				R ²	RMSE
	B	x ₁	x ₂	x ₃		
Хитозан+ДПК	-0.040	2.47	0.839	0.719	0.82	1.51
18К6+хитозан	-0.208	0.183	2.38	1.48	0.89	2.38
Хитозан+АОК	0.357	7.86	-0.022	-0.580	0.71	1.50

быть применены для прогнозирования сорбционных свойств покрытий с применением сходных по сорбционным характеристиками сорбентов. Например, модель для покрытия 18-краун-6+хитозан может быть применена для расчета массовой удельной чувствительности покрытия поли-N-винилпирролидон+хитозан при том же массовом соотношении сорбентов. В этом случае погрешность предсказания для некоторых соединений увеличивается до 35%. В дальнейшем возможно объединение частных моделей в глобальную модель, подходящую для прогноза сорбционных свойств композитных покрытий с произвольным выбором сорбентов.

Заключение

В статье рассмотрены сорбционные характеристики композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров на основе концентрата мицеллярного белка и хитозана в сравнении с индивидуальными покрытиями и в зависимости от природы второго сорбента, входящего в композитное

Список литературы/References

1. Combinatorial Methods for Chemical and Biological Sensors, ed. RA Potyrailo and VM Mirsky. 2009: 135.
2. Nikolic MV, Milovanovic V, Vasiljevic ZZ, Stamenkovic Z. Semiconductor Gas Sensors: Materials, Technology, Design, and Application. *Sensors*. 2020; 20(22): 6694. <https://doi.org/10.3390/s20226694>
3. Blue R., Uttamchandani D. Capacitors as a versatile platform for miniature gas and vapor sensors. *Meas. Sci. Technol.* 2017; 28: 022001. <https://doi.org/10.1088/1361-6501/28/2/022001>

покрытие. Изучено влияние дисперсности сорбента и природы сорбентов на эффективность и кинетику сорбции веществ при формировании их на основе полимерного или дисперсного сорбентов. Предложен подход для оценки сорбционных характеристик композитных покрытий на основе рассмотренных типов сорбентов с определением коэффициентов методом регрессии на латентные структуры. Рассмотренные тенденции в изменении сорбционных свойств покрытий в зависимости от различных факторов возможно использовать при создании композитных покрытий газовых пьезосенсоров с заданными сорбционными свойствами.

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. Sadeghian R.B., Kahrizi M. A novel miniature gas ionization sensor based on freestanding gold nanowires. *Sensors and Actuators A: Physical*. 2007; 137(2): 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2007.03.010>
5. Savaloni H., Savari R., Abbasi S. Application of Mn nano-flower sculptured thin films produced on interdigitated pattern as cathode and anode electrodes in field ionization gas sensor. *Current Applied Physics*. 2018; 18(8): 869-878. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2018.04.017>
6. Sichani S.B., Nikfarjam A., Hajghassem H. A novel miniature planar gas



ionization sensor based on selective growth of ZnO nanowires. *Sensors and Actuators A: Physical*. 2019; 1: 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2019.01.024>

7. Lagutin, A.S., Vasil'ev, A.A. Solid-State Gas Sensors. *J Anal Chem*. 2022; 77: 131-144. <https://doi.org/10.1134/S1061934822020083>

8. Kuchmenko T.A. Metod p'ezokvarcevoogo mikrosvzveshivaniya v gazovom organi-cheskom analize. Dis...d-ra. him. nauk. Voronezh, 2003. 473 p. (In Russ.)

9. Kuchmenko T.A., Asanova Y.A., Molchanov V.I. Effect of solvent on the adsorption of benzene vapors by dicyclohexane-18-crown-6 thin films. *J Anal Chem*. 2009; 64: 354-360. <https://doi.org/10.1134/S1061934809040066>

10. Karlov P.A., Kuchmenko T.A. Izuchenie sorbtsionnykh svoystv modificirovannykh MUNT k param organicheskikh soedineniy. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2022; 22(4): 512-522. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10606> (In Russ.)

11. Shuba, Anastasiia, Tatiana Kuchmenko, and Ruslan Umarkhanov.

2022. "Piezoelectric Gas Sensors with Poly-composite Coatings in Biomedical Application" *Sensors* 22, no. 21: 8529. <https://doi.org/10.3390/s22218529>

12. Shuba A., Kuchmenko T., Umarkhanov R. Bogdanova E. Composite Coatings of Piezoelectric Quartz Sensors Based on Viscous Sorbents and Casein Micelles Conference Proceedings, Istanbul Türkiye April 24-25, 2023 XVII. international research conference proceedings P. 1-4.

13. Sayerbrey G., Messung Von Plattenschwingungen Sehr Kleiner Amplitude Durch Lichtstrommodulation. *Zeitschrift Fuer Physik*. 1964; 178: 457-471.

14. Karimzadeh, Ayub, Mohammad Hanzadeh, Nasrin Shadjou, and Miguel de la Guardia. "Peptide based biosensors." *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2018; 107: 1-20.

15. Tianwei T., Liu Y., Jiang Y. "Recent progress on highly selective and sensitive electrochemical aptamer-based sensors." *Chemical Research in Chinese Universities*. 2022; 38(4): 866-878.

Информация об авторах / Information about the authors

А.А. Шуба – доцент кафедры физической и аналитической химии, к.х.н., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Т.А. Кучменко – профессор РАН, заведующая кафедрой физической и аналитической химии, д.х.н., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж. Ведущий научный сотрудник лаборатории химических сенсоров и определения газообразующих примесей Института ГЕОХИ им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

Р.У. Умарханов – доцент кафедры физической и аналитической химии, к.х.н., Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

A.A. Shuba – Associate Professor, Department of Physical and Analytical Chemistry, Ph.D. (chemistry), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia. e-mail: an-mishina@yandex.ru

T.A. Kuchmenko – Professor of the Russian Academy of Sciences (chemistry), Head of the Department of Physical and Analytical Chemistry, Doctor of Chemical Sciences, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh. Leading Researcher, Laboratory of Chemical Sensors and Determination of Gas-Forming Impurities, GEOKHI Institute Vernadsky RAS, Moscow, Russia. e-mail: tak1907@mail.ru

R.U. Umarkhanov – Associate Professor, Department of Physical and Analytical Chemistry, Ph.D. (chemistry), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia. e-mail: rus_270487@mail.ru

Статья поступила в редакцию 30.05.2023; одобрена после рецензирования 08.07.2023; принята к публикации 19.07.2023.

The article was submitted 30.05.2023; approved after reviewing 08.07.2023; accepted for publication 19.07.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544:663.51

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11572

Хроматографические методы определения свободного бисфенола А в технической и пищевой продукции

Ярослав Олегович Рудаков^{1,2}✉, Владимир Федорович Селеменев²,
Алексей Митрофанович Хорохордин¹, Александр Анатольевич Волков²

¹Воронежский государственный технический университет, Воронеж, Россия, robi57@mail.ru✉

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. В статье представлен краткий обзор хроматографических способов определения свободного бисфенола А в технической и пищевой продукции. Бисфенол А (БФА) используется в качестве мономера при получении некоторых пластиков и эпоксидных смол. Свободный БФА может содержаться в количествах, превышающих допустимый уровень в пищевой пластиковой таре и в пищевой продукции, упакованной в этой таре. Предельно допустимая концентрации (ПДК) БФА в воздухе рабочей зоны – 5 мг/м³, что в пересчете на жидкость дает 5 мкг/дм³. ПДК для содержания БФА в воде, в водных объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования – 0.1 мг/дм³. В европейских странах для пластмасс, контактирующих с пищевыми продуктами, значение миграции БФА равно 0.6 мг/кг. Несмотря на сравнительно низкую токсичность БФА, он способен накапливаться в организме человека и вызывать вредное воздействие. Для определения БФА в пластике, пищевых продуктах, биологических жидкостях чаще всего применяют газовую хроматографию с предварительной дериватизацией силилированием или ацилированием аналита. Разработаны также газохроматографические методики прямого хроматографирования на термостойких колонках. В качестве детектирующих устройств применяют, наряду с пламенно-ионизационным детектором, флуорометрический детектор и масс-спектрометрический детектор. Альтернативным методом определения БФА является ВЭЖХ с оптическими и масс-спектрометрическими способами детектирования. При определении БФА получил развитие также метод ТСХ. В пробоподготовке БФА применяют методы твердофазной экстракции (ТФЭ), жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ), дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции (ДЖЖМЭ), комбинированный метод экстракции с разделением в ацетонитриле (QuEChERS). **Ключевые слова:** бисфенол А, хроматографические методы, эпоксидная смола, пищевая пластиковая тара, контроль качества и безопасности.

Благодарности: исследование проведено в Воронежском государственном техническом университете, при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, Соглашение № 075-15- 2021-662.

Для цитирования: Рудаков Я.О., Селеменев В.Ф., Хорохордин А.М., Волков А.А. Хроматографические методы определения свободного бисфенола А в технической и пищевой продукции // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 642-656. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11572>

Original article

Chromatographic methods for the determination of free bisphenol A in technical and food products

Yaroslav O. Rudakov^{1,2}✉, Vladimir F. Selemenev²,
Alexey M. Khorokhordin¹, Alexander A. Volkov²

¹Voronezh State Technical University, Voronezh, Russia, robi57@mail.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russia

Abstract. The article provides a brief overview of chromatographic methods for the determination of free bisphenol A in technical and food products. Bisphenol A (BPA) is used as a monomer in the production of



some plastics and epoxy resins. Free BPA may be present in quantities exceeding acceptable levels in plastic food containers and in food products packaged in these containers. Maximum permissible concentration (MPC) of BPA in the air of the working area is 5 mg/m^3 , which in terms of liquid is $5 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$. Maximum permissible concentration for the content of BPA in water, in water bodies for domestic, drinking and community water use is 0.1 mg/dm^3 . In European countries for plastics in contact with food, the BPA migration value is 0.6 mg/kg . Despite the relatively low toxicity of BPA, it can accumulate in the human body and cause harmful effects. To determine BPA in plastic, food products, and biological fluids, gas chromatography with preliminary derivatization by silylation or acylation of the analyte is most often used. Gas chromatographic techniques for direct chromatography on heat-resistant columns have also been developed. A fluorometric detector and a mass spectrometric detector are used as detection devices, along with a flame ionization detector. An alternative method for determination of BPA is HPLC with optical and mass spectrometric detection methods. The TLC method was also developed for the determination of BPA. For the preparation of BPA samples, solid-phase extraction (SPE), liquid-liquid extraction (LLE), dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), combined extraction method with acetonitrile separation (QuEChERS) are used.

Keywords: bisphenol A, chromatographic methods, epoxy resin, food plastic containers, quality and safety control.

Acknowledgements: the study was conducted at Voronezh State Technical University and supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Agreement No. 075-15-2021-662.

For citation: Rudakov Ya.O., Selemenev V.F., Khorokhordin A.M., Volkov A.A. Chromatographic methods for the determination of free bisphenol A in technical and food products. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2023. 23(4): 642-656. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11572>

Введение

Бисфенол А [2,2-бис (4-гидроксифенил)пропан; ВРА, БФА] – ключевой компонент эпоксидных смол, широко используемых в качестве внутренних покрытий металлических банок для пищевых продуктов и напитков, в качестве компонентов многих потребительских товаров, включая игрушки, водопроводные трубы, контейнеры для питья, линзы для очков, спортивное защитное снаряжение, стоматологические композиты, медицинское оборудование и трубки, а также бытовую электронику. Это соединение привлекает повышенное внимание как научного сообщества, так и регулирующих органов. Официально признано его разрушающее действие на эндокринную систему. Прямой контакт между пищевыми продуктами и упаковочными материалами создает условия для миграции БФА в содержимое упаковки и пероральное попадание этого контаминанта в организм человека.

Многочисленные лабораторные исследования на животных, а также некоторые наблюдения на людях продемонстрировали, что БФА связан с повышенной частотой сердечно-сосудистых заболева-

ний, диабета, рака репродуктивной системы (яичек, предстательной железы и т.д.), проблем с фертильностью (уменьшение количества сперматозоидов), нарушениями работы печеночных и других ферментов, продуцируемых эндокринной системой [1-4]. Имеются также доказательства того, что даже незначительное воздействие БФА на чувствительных стадиях жизненного цикла (плод, младенцы и дети младшего возраста), может привести к необратимому изменению гормонального статуса.

Так, ученые Гарвардского университета предупреждают, что употребление консервов из металлических банок приводит к предельно опасному для здоровья увеличению концентрации БФА в организме. Для участия в исследовании было приглашено 75 добровольцев – мужчин и женщин разного возраста. Участники эксперимента были поделены на 2 группы: первая в течение 5 дней ежедневно питалась консервированным супом из металлических банок, вторая употребляла в пищу аналогичный, но свежеприготовленный суп. Затем рацион питания групп менялся: первая группа получила свежий суп, а вторая – консервированный. Ежедневно на протяжении каж-

дого этапа эксперимента у участников исследовалась моча, в которой измерялась концентрация БФА. Оказалось, что уже после употребления одной банки консервированного супа весом 340 г, уровень БФА в моче добровольцев повышался на 1200%! Ученые отмечают, что ожидали увеличения концентрации бисфенола А в организме участников эксперимента, но не были готовы к таким масштабным цифрам.

И все же, БФА и другие фенольные соединения, разрушающие эндокринную систему, широко используются в промышленности. Как уже сказано выше, бисфенол А играет важную роль в производстве эпоксидных смол и поликарбонатных пластиков, а также используется в качестве стабилизатора или антиоксиданта во многих типах пластмасс, таких как поливинилхлорид, используемый для водопроводных труб. Более того, бисфенол А постоянно попадает в водную среду с промышленными, сельскохозяйственными и муниципальными сточными водами. БФА в различных регионах обнаружен в донных отложениях, сточных водах, почве, пробах вод [6,7].

Как показали отдельные исследования [1, 4], маркировка пластиковых изделий «BPA-free» или «0% BPA» нередко не гарантирует отсутствия БФА. На основании данных этих исследований в [1,4] даны рекомендации не использовать тару, возможно содержащую БФА для хранения спирто- и жиросодержащей продукции; не нагревать в этой таре воду и пищу. БФА, как известно, хорошо растворим в этаноле и жиросодержащих фазах.

Таким образом, БФА представляет серьезную озабоченность в плане охраны окружающей среды из-за высокого потенциала воздействия на человека и установленной токсичности. Люди подвергаются воздействию бисфенола А в пище, которую они едят, в воде, которую они пьют, и в некоторых рабочих зонах. Потенциально возможно воздействие БФА на рабочем месте, особенно во время его

производства и производства материалов с применением БФА как мономера, стабилизаторов добавок и пр.

А различные токсичные формы хлорированного бисфенола А (моно-, ди-, три- и тетрахлорпроизводных БФА), обнаруженные в сточных водах заводов по переработке макулатуры, в воде, обработанной хлором, усугубляют проблему миграции БФА в окружающую среду. С другой стороны, хлорированные производные БФА находят лишь ограниченное применение в промышленности. Поэтому единственным источником воздействия хлорированных производных, скорее всего, будет вода, обработанная хлором. Вместе с тем, эстрогенная активность хлорированных производных может быть выше, чем у исходных соединений [5, 7].

Были разработаны различные аналитические методы для мониторинга и количественного определения БФА. Целью обзора стало обсуждение возможностей хроматографических методов анализа в обнаружении БФА в различных средах и объектах.

Газовая хроматография

БФА сравнительно высококипящее соединение – температура кипения 220°C, поэтому для газохроматографического анализа чаще всего применяют дериватизацию БФА силилирующими и ацилирующими реагентами [8-11]. В качестве детектора пригоден стандартный пламенно-ионизационный детектор и масс-спектрометр. В связи с широким производством хромато-масс-спектрометров, обусловленным их высокой эффективностью в химическом анализе, усовершенствованием их конструкции, эти приборы стали доступнее по цене, стало больше разработок методик с применением ГХ-МС, в том числе методик определения БФА в разных средах.

Определение соединений бисфенольного типа в пищевых продуктах требует этапа подготовки образцов перед хроматографическим анализом. Твердофазная



экстракция (ТФЭ) и жидкостно-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) [5-11] это наиболее широко используемые методы выделения БФА из пищевых продуктов. Однако эти традиционные подходы утомительны и отнимают много времени и требуют больших объемов пробы и органических растворителей, поскольку для обеспечения полного выделения бисфенола А обычно необходимы повторные экстракции. Использование большого количества органических растворителей приводит к образованию загрязнения окружающей среды, риски для здоровья человека и дополнительные затраты на обработку остатков. Из-за важности разработки чистых химических процедур с минимальным использованием органических растворителей появился ряд миниатюрных методов сорбционной экстракции для подготовки образцов. Одним из наиболее важных методов предварительной концентрации без растворителей является твердофазная микроэкстракция, которая обеспечивает возможность автоматизации и является чистым, селективным, быстрым и эффективным методом, улучшающим выделение и очистку загрязняющих веществ из пищевых продуктов [12].

Для одновременного определения БФА и бисфенола В (БФБ) в образцах консервированных морепродуктов был разработан новый простой и надежный метод, сочетающий процедуру экстракции с разделением в ацетонитриле с последующей дисперсионной твердофазной очисткой (QuEChERS), с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией (ДЖЖМЭ) и дальнейшим газохроматографическим масс-спектрометрическим анализом [9]. Помимо обеспеченного большого коэффициента концентрации на стадии ДЖЖМЭ, эта стадия была разработана таким образом, чтобы осуществить одновременное ацетилирование соединений, необходимых для их газохроматографического анализа.

В качестве экстрагирующего растворителя использовали тетрахлорэтилен, в то время как ацетонитрильный экстракт, полученный методом QuEChERS, использовали в качестве диспергирующего растворителя, а уксусный ангидрид - в качестве производного реагента. Были оценены основные факторы, влияющие на эффективность QuEChERS и ДЖЖМЭ, включая природу дисперсионных сорбентов QuEChERS, количество экстрактивных и дисперсионных растворителей ДЖЖМЭ, а также природу и количество производного реагента. Процедура ДЖЖМЭ обеспечивает эффективное обогащение экстракта, обеспечивая требуемую чувствительность даже при использовании одного квадрупольного масс-спектрометра в качестве детектора. Оптимизированный метод ГХ-МС показал достаточную точность (извлечение >68%), воспроизводимость (относительное стандартное отклонение <21%) и чувствительность к целевым анализируемым веществам (пределы обнаружения метода составляют 0.2 мкг/кг для БФА и 0.4 мкг/кг для БФБ. Проверка 47 образцов консервированных морепродуктов, поступивших в продажу в Португалии, выявила присутствие бисфенола А более чем в 83% образцов с содержанием от 1.0 до 99.9 мкг/кг, в то время как БФБ был найден только в 1 образце на уровне 21.8 мкг/кг.

Производные БФА с использованием смеси реагентов для силилирования (BSTFA с 1 % TMCS) дают абсолютную интенсивность сигнала, полученного в стандартном растворе и реальных образцах немного выше, чем в случае ацетильных производных, и меньшее количество мешающих соединений [13].

Благодаря своей простоте, высокому уровню чувствительности и точности разработанный ГХ-МС способ может быть широко применен для многих других матриц, таких как консервированные овощи, фрукты и мясо.

Для экстракции БФА применяли ацетонитрил или его смесь, например, с этилацетатом или изопропиловым спиртом. В [13] вместо жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) токсичным и дорогостоящим ацетонитрилом и последующей дериватизации БФА уксусным ангидридом - веществом, входящим в перечень прекурсоров, подлежащих контролю на территории Российской Федерации, предложена экстракция из пластика этанолом, в котором БФА хорошо растворяется и прямое хроматографирование БФА. Такой подход можно отнести к «зеленой» хроматографии.

БФА с рядом других активных эндокринных разрушителей (нонилфенол, октилфенол) были проанализированы в [13] двух водоносных горизонтах и соответствующих поверхностных водах, чтобы определить потенциал выщелачивания этих соединений в грунтовых водах и в конечном итоге соотнести эти уровни с пробами поверхностных вод. Образцы экстрагировали с помощью ТФЭ с полимерными картриджами OASIS и анализировали методом ГХ-МС.

На основании анализа литературных и патентных источников [14-15 и цитируемые в этих публикациях ссылки] для определения БФА в пластмассах часто используют рабочую станцию Agilent 8890 (США) с масс-селективным детектором Agilent GC/MSD 5977B и системой автоматического ввода пробы Agilent G4513A. Одним из преимуществ этой газохроматографической системы является возможность подключения для ввода образцов многофункционального пиролизера Multi-Shot pyrolyzer EGA/PY-3030D (Япония). Пиролизер является универсальным вспомогательным устройством для изучения химического состава добавок в полимер, а также идентификации самого полимера с минимально простой подготовкой образца - небольшой «кусочек» полимера помещается в стальной тигель с кварцевым покрытием. Таким образом, пиролитическая газовая хромато-

масс-спектрометрия – уникальное направление развития метода ГХ-МС, позволяющее при программировании температуры устройства ввода пробы, вначале разделить и зарегистрировать летучие присадки и примеси в полимере, затем получить хроматограмму и масс-спектры продуктов пиролиза полимера, решая одновременно несколько задач, в частности, идентификацию присадок и примесей, а также идентификацию полимера [15]. Для прямого определения методом ГХ-МС пригодны неподвижные фазы, приведенные в табл. [14].

Для определения БФА в [14] выбрали неполярную хроматографическую колонку Ultra ALLOY®-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) из нержавеющей стали, весомым преимуществом которой является возможность работы в широком температурном диапазоне с максимальной рабочей температурой 360/380°C. Кроме того, за счет металлических наконечников на концах, предназначенных для крепления колонки, практически исключены утечки газа-носителя, даже при выборе максимальных температур. Колонка Ultra ALLOY®-5 была разработана как раз для анализа опасных для окружающей среды веществ, в том числе летучих только при высоких температурах (алкилфенолов, таких как БФА и нонилфенолы, а также сложных эфиров фталатов в виде свободных форм на уровне ppb без сложной предварительной пробоподготовки [14].

БФА идентифицировали масс-спектру из библиотеки NIST20 (см. рис.):

Совпадение экспериментального масс-спектра и спектра из библиотеки NIST20 составляло 98%.

Известно, что метод ГХ-МС может быть реализован с использованием различных газов-носителей [16]. Из-за технико-эксплуатационных свойств Agilent 8890 наиболее подходящим является «особо чистый» гелий.

Разработана [17] чувствительная метода одновременного определения БФА,

Таблица. Колонки, пригодные для прямой газовой хроматографии БФА
 Table. Columns suitable for direct BPA gas chromatography

Хроматографическая колонка	Состав неподвижной фазы	Характеристика	Температурный диапазон, °С
Rtx-5, DB-5, ZB-5	диметилполисилоксан (95%), модифицированный дифенилполисилоксаном (5%)	универсальные неполярные колонки	от -60 до 360/370
ZB-FFAP, DB-FFAP, HP-FFAP	полиэтиленгликоль, модифицированный нитротерефталатом	Колонка высокой полярности	от 40 до 250/260
ZB-1, Rtx-1, DB-1	100% диметилполисилоксан	Неполярная колонка	от -60 до 360/370
ZB-WAX, Rtx-WAX, HP-INNOWax	полиэтиленгликоль	Полярная колонка	от 40 до 250/260
Ultra ALLOY®-5	диметилполисилоксан (95%), модифицированный дифенилполисилоксаном (5%)	Неполярная	от 40 до 360/380

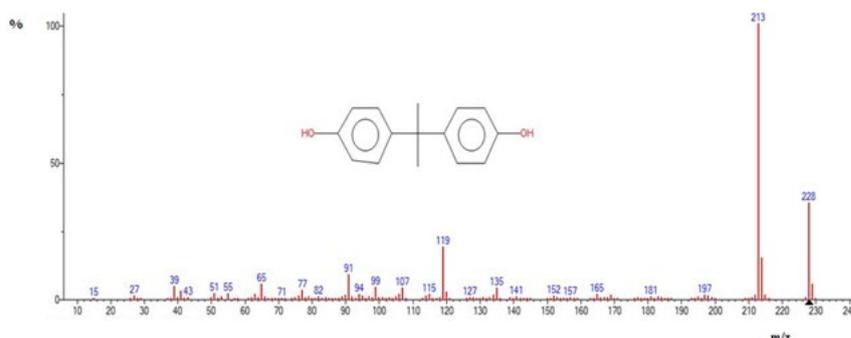


Рис. Масс-спектр бисфенола А библиотеки NIST20 [14]
 Fig. Mass spectrum of bisphenol A of the NIST20 library [14]

триклозана (ТК) и тетрабромбисфенола А (ТББФА) в сыворотке крови человека с использованием ТФЭ и ГХ-МС. Подготовка образцов включала денатурацию сывороточных белков муравьиной кислотой с последующим ТФЭ на картридже Oasis HLB, в котором фенольные соединения элюировали смесью метанол – дихлорметан (5:1, об./об.). Фенольную фракцию дополнительно дериватизировали ангидридом пентафторпропионовой кислоты (30 мин при 70°C). Для удаления избытка реагента и кислых побочных продуктов, образующихся при дериватизации, использовали дальнейшее разде-

ление ЖЖЭ с использованием смеси гексан – метанол - дихлорметан(4:1, об/об) и 3%-ного водного раствора K₂CO₃. Очищенный экстракт вводили в систему ГХ-МС.

В работе [12] методом ГХ-МС было оценено наличие фталатов, алкилфенолов, триазинов, хлорацетамидов и бисфенола А в 131 испанском источнике воды, предназначенной для розлива. Исследованными водами были родниковые воды и скважины, которые имеют защитный диаметр для минимизации загрязнения окружающей среды. Восемьдесят пять процентов образцов не содержали ни од-

ного из целевых соединений. Целевые соединения были обнаружены в очень низкой концентрации и только в очень небольшом количестве образцов. Это свидетельствует о хорошем качестве исходной воды, предназначенной для розлива, и эффективности мер защиты, принятых в Испании. Ни один из проанализированных образцов не превысил максимально допустимых уровней для питьевой воды, установленных законодательством как в Испании, так и в Европейском союзе. Вместе с тем, БФА обладает растворимостью в воде 120 мг/дм^3 , периодом полураспада в почве 75 дней, что повышает его способность к выщелачиванию. Это соединение ранее было обнаружено в промышленных грунтовых водах и в некоторых колодцах с питьевой водой в концентрациях до 32.9 мкг/дм^3 .

Пробы были собраны непосредственно из 131 источника воды, соответствующего 40 родникам и 91 скважине, расположенных по всей Испании. Все эти воды имеют обозначение природной минеральной воды или родниковой воды. Образцы, собранные из скважин, находились на глубине от 24 до 400 м. В этих образцах общее содержание органического углерода всегда составляло $<1 \text{ мг/дм}^3$. В качестве газа-носителя использовался гелий с постоянным расходом при $1.2 \text{ см}^3/\text{мин}$. Колонка DB-5MS ($30 \text{ м} \times 0.25 \text{ мм} \times 0.25 \text{ мкм}$) фирмы J&W Scientific (США), градиент температуры 70°C (2 мин), $10^\circ\text{C}/\text{мин}$ до 135°C , $3^\circ\text{C}/\text{мин}$ до 160°C , $1^\circ\text{C}/\text{мин}$ до 175°C , $3^\circ\text{C}/\text{мин}$ до 195°C и $10^\circ\text{C}/\text{мин}$ до 310°C (5 мин). Общее время анализа составило 55 минут. Объем пробы составил 2 мкл. Образцы были сначала проанализированы в режиме сканирования с использованием диапазона масс 75-450 а.е.м. для оптимизации условий сбора, а затем в режиме мониторинга выбранных ионов для идентификации и количественного определения целевых соединений. Целевые соединения определяли количественно методом внутреннего стандарта. Бисфенол А

был одним из наиболее часто обнаруживаемых соединений (в шести источниках) в концентрациях между 0.031 и 0.203 мкг/л. Он был обнаружен в неглубоких скважинах, расположенных в муниципальных районах, или родниках, на которые могут воздействовать поверхностные воды.

Описана экологически чистая система предварительной обработки образцов, основанная на твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) для чувствительного определения бисфенола А (БФА), бисфенола S (БФС) и бисфенола (БФВ). Проведено сравнение двух реакций дериватизации с получением летучих производных. Дериватизацию уксусным ангидридом проводили *in situ* в буферном растворе $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$. Для дериватизации бис(триметилсилил)трифторацетамидом анализируемые вещества сначала экстрагировали, затем экстракт сушили, а после дериватизации анализируемые вещества десорбировали в инъекционном отверстии хроматографа в режиме без разделения при 280°C в течение 4 мин [12]. Разделение осуществляли путем ГХ-МС. Эта методика позволила определить уровни миграции бисфенолов, обнаруженных в банках из-под пищевых продуктов – пределы обнаружения варьировались от 3 до 16 пг/см^3 , в зависимости от соединения, при соотношении сигнал/шум, равном 3. Уровни БФА были выше, чем у БФС, а самое низкое содержание было обнаружено у БФВ. Для определения аналитов в пищевых продуктах были выбраны температуры 25°C и 80°C и разное время контакта в диапазоне 0-240 ч. Были также найдены значения для повышенной температуры и был проведен сравнительный анализ бисфенолов с использованием двух реакций дериватизации.

Так вот, пределы обнаружения были лучше при использовании силилирующего реагента, чем ацетилирующего, также были примерно в 100 раз лучше, чем те, которые были получены без дериватизации.



В работе [6] методом ГХ-МС исследовалось содержание БФА в водах, почвах и донных отложениях, при этом использовалось концентрирование в динамических условиях с применением молекулярно импринтированного сорбента (Fe_3O_4 @МИП-БФА) с отпечатками бисфенола А (БФА) для его последующего определения на уровне ультрамикрочастиц.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ультраэффективная жидкостная хроматография (УЭЖХ) стали альтернативными ГХ-МС способами определения БФА, на смену ультрафиолетовым или спектрофотометрическим детекторам пришли масс-спектрометры. ЖХ-МС аппаратно более сложный, чем ГХ-МС, а, следовательно, более дорогой метод анализа. Однако одним из преимуществ ЖХ-МС является то, что он не требует этапа дериватизации.

Например, в работе [7] анализировали пробы воды. Они были отобраны методом твердофазной экстракции (ТФЭ). Процедура ТФЭ для очистки и концентрирования проб воды проводилась с использованием стеклянного картриджа C18 upi-clean® с торцевой крышкой 200 мг (Interchim, Франция). Картриджи кондиционировали с помощью 4 см³ смеси дихлорметан/гексан (50:50) и дважды 3 см³ смеси метанол/ацетон/этилацетат (2:2:1) и затем уравнивали 5 см³ очищенной воды. Пробы воды (250 мл) пропускали через влажные картриджи, промывали 5 см³ очищенной воды и сушили в течение 15 мин. Для всех этих этапов скорость потока была установлена на уровне 10 см³/мин. Элюирование проводили смесью гексан/дихлорметан (50:50 об./об.) и смесью метанол/ацетон/этилацетат (2:2:1 об./об./об.) при скорости потока 2 см³/мин. Экстракты выпаривали при температуре 40°C до высыхания под слабой струей азота. Остатки растворяли

в 250 мкл смеси очищенной воды/метанола (50:50). Наконец, 25 мкл экстракта вводили в аппарат ЖХ-МС/МС.

В работе [7] методом ВЭЖХ-МС/МС/МС в окружающей среде определяли концентрацию БФА, хлорпроизводных БФА и нонилфенол. В качестве колонки для ВЭЖХ применили Supelcosil ABZ® (размер частиц 3 мкм, 150×4.6 мм; Supelco, США). Анализ БФА и хлорпроизводных БФА проводили с использованием программы градиента подвижной фазы при скорости потока 1 см³/мин. Исходным состоянием подвижной фазы было соотношение метанол/вода 50:50 (об./об.). Градиент был запрограммирован таким образом, чтобы линейно увеличивать количество метанола до 99% в течение 10 мин.

Пределы обнаружения варьировались от 0.3 до 2.3 нг/дм³ для бисфенола А и хлорированного бисфенола А от 1.4 до 63.0 нг/дм³. БФА был обнаружен в большинстве проанализированных проб воды на уровне от 2.0 до 29.7 нг/дм³, нонилфенол – от 0 до 124.9 нг/дм³, соответственно. В большинстве случаев наблюдалось снижение содержания БФА и нонилфенола в поверхностных водах и очищенной воде. Ни хлорированного БФА, ни хлорированного нонилфенола обнаружено не было. Несмотря на то, что концентрации этих этих контаминантов в питьевой воде не высоки, питьевая вода может оставаться источником их воздействия на человека.

Определению БФА в пластиковой пищевой таре, имеющей обращение во Вьетнаме методом ВЭЖХ-МС/МС посвящены работы [19-21]. Стандартные растворы БФА готовили в смеси ацетонитрил-этилацетат (85:15), в диапазоне концентраций 20-200 нг/см³, чтобы построить градуировку. Образцы материала измельчали до размера 5×5 мм и взвешивали на аналитических весах массу навески ~ 0.5 г. Навеску помещали в коническую плоскодонную колбу и прили-

вали 10 см³ смеси ацетонитрил – этилацетат (85:15), встряхивали 15 мин на вибросмесителе. Отбирали 10 мкл пробы и анализировали на ГХ-МС Shimadzu (Япония), колонка InertSustain C18 (5 мкм × 150 мм × 4.6 мм). Подвижная фаза – ацетонитрил – вода, градиент. Из 5 образцов пластиковой тары в двух образцах обнаружено 5.5 и 10.2 мг/кг БФА, в остальных образцах, если и присутствовал БФА, то его концентрация была ниже чувствительности методики. Анализ выполнен в аккредитованной Laboratory of Food Chemistry and Toxicology National Institute for Food Control, г. Ханой.

В работе [5] представлен новый метод, основанный на обработке пробы ДЖЖМЭ, содержащей шесть бисфенолов (бисфенол А, бисфенол S и монохлор-, дихлор-, трихлор- и тетрахлорбисфенол А), четыре парабена (метил-, этил-, пропил- и бутилпарабен) и шесть бензофенонов (бензофенон-1, бензофенон-2, бензофенон-3, бензофенон-6, бензофенон-8 и 4-гидроксибензофенон) в образцах мочи человека с последующей УЭЖХ-МС/МС.

Пределы количественной оценки варьируются от 0.1 до 0.6 нг/см³, относительные стандартные отклонения – от 2.0 до 13.8 %. Методика была удовлетворительно применена для определения целевых соединений в образцах мочи человека, взятых у 20 случайно отобранных индивидуумов. Таким образом, идентификация и количественное определение свободных и суммарных концентраций шести бисфенолов, четырех парабенов и шести бензофенонов в образцах мочи человека были успешно проведены с использованием метода ДЖЖМЭ-УЭЖХ-МС/МС/МС.

В работе [18] была исследована закономерность миграции соединений, связанных с БФА, из покрытий банок в консервы и имитатора на масляной основе. Количественное определение и подтверждение этих соединений были выполнены с помощью высокоэффективной

жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (УЭЖХ-МС/МС/МС). Была исследована корреляция между молекулярной массой, временем миграции, начальной концентрацией и уровнем миграции загрязняющих веществ. По количественному соотношению структура–свойство (QSPR) была создана соответствующая модель миграции этих мигрантов в маслянистом имитаторе при 55°C, что послужило ускоренным тестированием срока годности с использованием повышенной температуры для имитации длительного хранения при комнатной температуре.

Коэффициенты корреляции (R) и внешней валидации (Qext) для установленной модели были выше 0.9000. Более того, применение разработанной модели было предварительно апробировано на трех маслянистых консервах, результаты которых показали, что модель может играть важную роль в обеспечении справочника по оценке миграционного поведения соединений, связанных с бисфенолом-А, в консервированных продуктах.

Для определения БФА в безалкогольных напитках методом ВЭЖХ был разработан чувствительный и селективный способ метод с использованием 2-(11Н-бензо[а]карбазол-11-ил)этилхлороформата (БКЭХФ) в качестве дериватизирующего реагента для ВЭЖХ с детектором флуоресценции [22]. Чувствительность ВЭЖХ к бисфенолу А и алкилфенолам была значительно повышена за счет введения в молекулы-мишени фрагмента БКЭХФ, обладающего превосходными флуоресцентными свойствами. Между тем, внедрение высокоэффективного гидрофобного фрагмента БКЭХФ в аналиты также значительно повышал гидрофобность целевых соединений и отличал их от гидрофильных матриц. Таким образом, наблюдалось мало помех. ТФЭ с использованием картриджа C18 применялась для процедуры очистки образцов с извлечением более 82%. Когда для анализа использовали 20 см³ пробы, пределы



количественного определения анализируемых веществ составляли от 0.06 до 0.1 мг/дм³. Предложенный в [22] метод был успешно применен для определения целевых соединений в образцах безалкогольных напитков с гораздо более высокой чувствительностью, выше, чем у традиционных методов ВЭЖХ. Кроме того, этот метод был применен к 21 образцам человеческой сыворотки. Средние концентрации, полученные для БФА – 0.71 нг/см³.

Классические методы фотоиндуцированной флуоресценции проводятся в два этапа: этап ультрафиолетового облучения с целью образования фотоиндуцированного соединения с последующим его флуориметрическим определением. Разработан способ прямого облучения анализируемого вещества во флуориметрической ячейке с целью образования фотоиндуцированного флуоресцентного соединения и его прямого флуориметрического обнаружения в течение короткого времени облучения [23]. Облучение проводится с помощью настраиваемого лазера для выбора оптимальной длины волны возбуждения. Облучение бисфенола А при 230 нм приводит к образованию фотоиндуцированного соединения со значительно более высоким квантовым выходом флуоресценции и специфическими длинами волн возбуждения/излучения. В водопроводной воде флуоресценция бисфенола А линейно возрастает в зависимости от его концентрации, и ее определение с помощью прямой лазерной фотоиндуцированной флуоресценции позволяет получить нижний предел обнаружения 17 мг/дм³. Хроматографическое разделение БФА и его фотоиндуцированного соединения осуществляли методом ВЭЖХ с детекцией флуоресценции. Длина волны возбуждения составляла 230 нм. А хроматограмма, записанная при 310 и 410 нм показала время удерживания БФА и фотоиндуцированного соединения, соответственно, 2.38 и 4.21 мин.

Тонкослойная хроматография

Что касается тонкослойной хроматографии, привлекает сочетание низкотемпературной ЖЖЭ, ТСХ и цифровой цветометрии [24]. Процедура анализа заключается в следующем: из водной матрицы, содержащей БФА, выдержанной при -10°C, со смесью ацетонитрил – этилацетат (85:15) или ацетонитрил – ИПС – этилацетат (80:5:15), после расслоения водной и органических фаз, микрошприцом отбирали верхний органический слой (5 мкл) и анализировали методом ТСХ в сочетании с цветометрией, при этом использовали параллельно 2 цветные реакции: 1) с 0.1 н. раствором KMnO₄ в разбавленной уксусной кислоте CH₃COOH (желтые пятна на розовом фоне); 2) со смесью хлорида железа (III) и феррицианида калия (синие пятна). Для контроля отверждения эпоксидной смолы по содержанию свободного бисфенола А методом ТСХ [25] образцы измельчали и взвешивали на аналитических весах массу навески ~0.5 г с точностью ±0.002 г. Навеску помещали в коническую плоскодонную колбу и приливали мерным цилиндром 10 мл смеси ацетонитрил – этилацетат (85 : 15 об. %). Колбу закрывали притертой пробкой и встряхивали 15 минут на орбитальном шейкере OS-20. После этого микрошприцем отбирали 5 мкл раствора для анализа методом ТСХ. Определение проводили на тонкослойной пластине марки Sorbfil (Краснодар), размером 12.5×5 см, сорбент – силикагель с зернением 5-12 мкм. Пробу – 5 мкл анализируемого раствора, наносили на линию старта. Пластины помещали в стеклянную камеру с 30 мл подвижной фазы (хлороформ – этилацетат – уксусная кислота, 50:50:1). Для проявления хроматографических пятен БФА применяли две цветные реакции, приведенные выше. Отсканированные изображения свежих хроматографических пятен регистрировали и анализировали с помощью программы Adobe Photoshop (версия CS3). Полученные цветометрические

данные представляли в виде лепестковых диаграмм (ЛД) с 6 осями в полярных координатах, отражающих значения интенсивности (F_i) цветовых координат в модели RGB в единой последовательности $R_1, G_1, B_1, R_2, G_2, B_2$, где индекс 1 и 2 относятся к первой и второй цветным реакциям. Фигура ЛД – интегральный показатель, являющийся вторичным цифровым сигналом, полученным в результате цифровой обработки двух электронных изображений в оболочке ПО Microsoft Excel. В этом же ПО реализован алгоритм расчета геометрических размеров ЛД, коррелирующих с концентрацией БФА, имеющих для различных фенольных соединений индивидуальный профиль. Использование низкотемпературной ЖЖЭ носит универсальный характер, этот способ пробоподготовки пригоден и для ТСХ, и для ВЭЖХ, и для оптических методов анализа.

Заключение

Таким образом, современные хроматографические способы, особенно, в тан-

деме с масс-спектрометрическим детектированием, позволяют определять вплоть до ультрамикрочислительных содержания бисфенола А в технических материалах, пищевой и бытовой продукции, в биологических жидкостях, в объектах окружающей среды на фоне других контаминантов. Для подготовки проб БФА, как в случае газовой хроматографии, так и методов жидкостной хроматографии, используют усовершенствованные сорбционные и экстракционные способы, а также их комбинации: жидкостно-жидкостную экстракцию гидрофобными растворителями и при низких температурах ацетонитрильными растворами, твердофазную экстракцию на обращенно-фазовых сорбентах, динамическую жидкостно-жидкостную экстракцию, метод *QuEChERS*.

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

1. Шварцльмюллер Э., Бругер Х. Аспекты влияния упаковки для напитков на здоровье/Информация об экологической политике. № 185. Режим доступа: http://barley-malt.ru/wp-content/uploads/2014/03/yssledovanye-ruet_avstryja.pdf. Вена, 2011 г. 73 с. Дата обращения 25.05.2023.
2. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Бисфенол А: с чем его едят? // *Переработка молока*. 2019. № 6(236). С. 24-26.
3. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В. Опасен ли бисфенол А в консервах? // *Мясные технологии*. 2019. № 7(199). С. 24-27.
4. Сперанская О.А., Гурский Я.Г. Миграция бисфенола А из бутылок для питья многоразового использования, поступающих на российский рынок //

Химическая безопасность. 2021. Т. 5, № 2. С. 186-199.

5. Vela-Soria F., Ballesteros O., Zafra-Gómez A., Ballesteros L., Navalón A. UHPLC-MS/MS method for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives, bisphenol S, parabens, and benzophenones in human urine samples // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. Vol. 406 (15). P. 3773-3785.

6. Губин А.С., Кушнир А.А., Суханов П.Т. Он-лайн концентрирование с применением магнитного молекулярно импринтированного сорбента и ГХ-МС определение бисфенола А в природных средах // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т.23, №2. С. 244-254.

7. Dupuis A., Migeot V., Cariot A., Albouy-Llaty M., Legube B., Rabouan S. Quantification of bisphenol A, 353-



- nonylphenol and their chlorinated derivatives in drinking water treatment plants // *Environmental Science and Pollution Research*. 2012. Vol. 19(9). P. 4193-4205.
8. Feshin D.B., Fimushkin P.V., Brodskii E.S., Shelepchikov A.A., Mir-Kadyrova E.Ya., Kalinkevich G.A. Determination of bisphenol A in foods as 2,2-bis-(4-(isopropoxycarbonyloxy)phenyl)propane by gas chromatography/mass spectrometry // *Journal of Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 67, no 5. P. 460-466.
9. Cunha S. C., Cunha C., Ferreira A. R., Fernandes J. O. Determination of bisphenol A and bisphenol B in canned seafood combining QuEChERS extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. No 404. P. 2453-2463.
10. Амелин В. Г., Королев Д. С., Третьяков А. В. Сочетание метода QuEChERS с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией и получением производных при определении диэтилстильбэстрола и бисфенола А в продуктах питания методом газожидкостной хроматографии // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2012. Т. 12, № 4. С. 17-22.
11. Королев, Д. С., Амелин В. Г., Третьяков А. В. Газожидкостная хроматография и дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция при определении бисфенола А и диэтилстильбэстрола в воде и напитках // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013. Т. 13, № 3. С. 266-272.
12. Vono-Blay F., Guart A., De la Fuente B., Pedemonte M., Pastor M.C., Borrell A., Lacorte S. Survey of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and herbicides in Spanish source waters intended for bottling // *Sci. Pollut. Res.* 2012. no 19. P. 3339-3349.
13. Vinas P., Campillo N., Martinez-Castillo N., Hernandez-Cordoba M. Comparison of two derivatization-based methods for solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometric determination of bisphenol A, bisphenol S and biphenol migrated from food cans // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. no 397. P. 115-125.
14. Рудаков Я.О., Селеменев В.Ф., Шелехова Н.В., Рудаков О.Б., Хорохордин А.М. Метод газовой хромато-масс-спектрометрии для определения свободного бисфенола А в этанольных экстрактах // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 1. С. 6-17
15. Рудаков О.Б., Хорохордин А.М., Рудаков Я.О., Хорохордина Е.А. Применение пиролитической хромато-масс-спектрометрии в контроле качества строительных полимеров и композитов // *Строительные материалы*. 2022. № 8. С. 65-69.
16. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза. М.: Техносфера. 2009. 458 с.
17. Dirtu A.C., Roosens L. Geens T., Gheorghe A. Neels H., Covaci A. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. no 391. P.1175-1181.
18. Na Lin, Yinyan Zou, Hong Zhang. Kinetic migration studies of bisphenol-A-related compounds from can coatings into food simulant and oily foods // *Eur. Food Res. Technol.* 2013. no 237. P.1009-1019.
19. Чан Х.Д., Хорохордина Е.А., Рудаков О.Б. Хромато-масс-спектрометрическое определение бисфенола А в пластиковой таре // *Научный вестник Воронежского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Физико-химические проблемы и высокие технологии строительного*



материаловедения. 2015. № 2(11), С. 94-98.

20. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Чан Х.Д., Рудакова Л.В. Применение МС-ВЭЖХ в определении бисфенола А в пищевой пластиковой таре, используемой во Вьетнаме // *Аналитика Сибири и Дальнего Востока: материалы X Всеросс. научной конф. с междунар. участием, Барнаул, 12-17 сентября 2016 г. Барнаул: Алтайский гос. ун-т, 2016. С. 147.*

21. Yanxin Li, Shijuan Zhang, Cuihua Song, Jinmao You. Determination of Bisphenol A and Alkylphenols in Soft Drinks by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Anal. Methods.* 2013. no 6. P.1284-1290.

22. Maroto A., Kissingou P. Diascorn A., Benmansour B., Deschamps L. Stephan L. Cabon J.-Y. Giamarchi P. Direct laser photo-induced fluorescence determination of bisphenol A // *Anal. Bioanal. Chem.* 2011. no 401. P. 3011-3017.

23. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Рудакова Л.В., Чан Х.Д. Определение бисфенола А, триклозана и нонилфенола в материалах и экстрактах методом ТСХ, совмещенным с цифровой цветометрией // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2016. Т. 16, № 5. С. 686-694.*

24. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Глазков С.С. Контроль отверждения эпоксидной смолы по содержанию свободного бисфенола А методом ТСХ // *Аналитика и контроль. 2017. Т. 21, № 2. С. 135-143.*

25. Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А. Экспрессные методы контроля качества и безопасности технических материалов. Воронеж: Воронежский государственный технический университет, 2017. 103 с.

References

1. Shvarczl`myuller E`., Bruger X. Aspekty` vliyaniya upakovki dlya napitkov na zdorov`e/Informaciya ob e`kologicheskoy politike. № 185. Rezhim dostupa: [\[ley-malt.ru/wp-content/uploads/2014/03/ysledovanye-pyet_avstryja.pdf\]\(http://bar-ley-malt.ru/wp-content/uploads/2014/03/ysledovanye-pyet_avstryja.pdf\). Vena, 2011 g. 73 s. Data obrashheniya 25.01.2023.\(In Russ.\)](http://bar-</p></div><div data-bbox=)

2. Rudakov O.B., Rudakova L.V. Bisfenol A: s chem ego edyat? *Pererabotka moloka.* 2019; 6(236): 24-26. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-6-24-26> (In Russ.)

3. Rudakov O.B., Rudakova L.V. Opasen li bisfenol A v konservax? *Myasny`e texnologii.* 2019; 7(199): 24-27. <https://doi.org/10.33465/2308-2941-2019-7-24-27> (In Russ.)

4. Speranskaya O.A., Gurskij Ya.G. Migraciya bisfenola A iz buty`lok dlya pit`ya mnogorazovogo ispol`zovaniya, postupayushhix na rossijskij ry`nok. *Ximicheskaya bezopasnost`.* 2021; 5(2): 186-199. <https://doi.org/10.25514/CHS.2021.2.20012> (In Russ.)

5. Vela-Soria F., Ballesteros O., Zafra-Gómez A., Ballesteros L., Navalón A. UHPLC-MS/MS method for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives, bisphenol S, parabens, and benzophenones in human urine samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406 (15): 3773-3785. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7785-9>

6. Gubin A.S., Kushnir A.A., Suxanov P.T. On-lajn koncentrirovanie s primeneniem magnitnogo molekulyarno imprintirovannogo sorbenta i GX-MS opredelenie bisfenola A v prirodny`x sredax. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2023; 23(2): 244-254. <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2023.23/11148> (In Russ.)

7. Dupuis A., Migeot V., Cariot A., Albouy-Llaty M., Legube B., Rabouan S. Quantification of bisphenol A, 353-nonylphenol and their chlorinated derivatives in drinking water treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research.* 2012; 19(9): 4193-4205. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0972-3>

8. Feshin D.B., Fimushkin P.V., Brodskii E.S., Shelepchikov A.A., MirKadyrova E.Ya., Kalinkevich G.A. Determination of



- bisphenol A in foods as 2,2-bis-(4-(isopropoxycarbonyloxy)phenyl)propane by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*. 2012; 67(5): 460-466.
9. Cunha S. C., Cunha C., Ferreira A. R., Fernandes J. O. Determination of bisphenol A and bisphenol B in canned seafood combining QuEChERS extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012; 404: 2453-2463. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6389-5>
10. Amelin V. G., Korolev D. S., Tret'yakov A. V. Sochetanie metoda QuEChERS s dispersionnoj zhidkostno-zhidkostnoj mikroekstrakciej i polucheniem proizvodny'x pri opredelenii die'tilstil'be'strola i bisfenola A v produktax pitaniya metodom gazozhidkostnoj xromatografii. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Ximiya. Biologiya. Ekologiya*. 2012; 12(4): 17-22. (In Russ.)
11. Korolev D.S., Amelin V.G., Tret'yakov A.V. Gazozhidkostnaya xromatografiya i dispersionnaya zhidkostno-zhidkostnaya mikroekstrakciya pri opredelenii bisfenola A i die'tilstil'be'strola v vode i napitkax. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2013; 13(3): 266-272. (In Russ.)
12. Bono-Blay F., Guart A., De la Fuente B., Pedemonte M., Pastor M.C., Borrell A., Lacorte S. Survey of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and herbicides in Spanish source waters intended for bottling. *Sci. Pollut. Res.* 2012; 19: 3339-3349. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0851-y>
13. Vinas P., Campillo N., Martinez-Castillo N., Hernandez-Cordoba M. Comparison of two derivatization-based methods for solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometric determination of bisphenol A, bisphenol S and biphenol migrated from food cans. *Anal. Bioanal. Chem.* 2010; 397: 115-125. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3464-7>
14. Rudakov Ya.O., Selemenev V.F., Shelexova N.V., Rudakov O.B. Xoroxordin A.M. Gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of free bisphenol A in ethanol extracts. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023; 23(1): 6-17. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/10989> (In Russ.)
15. Rudakov O. B., Xoroxordin A. M., Rudakov Ya. O., Xoroxordina E. A. Primenenie piroliticheskoy xromato-mass-spektrometrii v kontrole kachestva stroitel'ny'x polimerov i kompozitov. *Stroitel'ny'e materialy*. 2022; 8: 65-69. <https://doi.org/10.31659/0585-430X-2022-805-8-65-69> (In Russ.)
16. Byokker Yu. Xromatografiya. Instrumental'naya analitika: metody xromatografii i kapillyarnogo e'lektroforeza. M., Texnosfera. 2009. 458 p. (In Russ.)
17. Dirtu A.C., Roosens L. Geens T., Gheorghe A. Neels H., Covaci A. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008; 391: 1175-1181. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1807-9> (In Russ.)
18. Na Lin, Yinyan Zou, Hong Zhang. Kinetic migration studies of bisphenol-A-related compounds from can coatings into food simulant and oily foods. *Eur. Food Res. Technol.* 2013; 237: 1009-1019. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2003-0>
19. Chan X. D., Xoroxordina E. A., Rudakov O. B. Xromato-mass-spektrometricheskoe opredelenie bisfenola A v plastikovoj tare. *Nauchny'j vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo arxitekturostroitel'nogo universiteta. Seriya: Fiziko-ximicheskie problemy i vy'sokie texnologii stroitel'nogo materialovedeniya*. 2015; 2(11): 94-98. (In Russ.)
20. Rudakov O.B., Xoroxordina E.A., Chan X.D., Rudakova L.V. Primenenie MS-VE'ZhX v opredelenii bisfenola A v pishhevoj plastikovoj tare, ispol'zuemoj vo V'etname. *Analitika Sibiri i Dal'nego Vostoka: materialy X Vseross. nauchnoj konf. s*



mezhdunar. uchastiem, Barnaul, 12–17 sentyabrya 2016 g. Barnaul: Altajskij gos. un-t, 2016: 147. (In Russ.)

21. Yanxin Li, Shijuan Zhang, Cuihua Song, Jinmao You. Determination of Bisphenol A and Alkylphenols in Soft Drinks by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Anal. Methods*. 2013; 6: 1284-1290. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9541-0>

22. Maroto A., Kissingou P. Diascorn A., Benmansour B., Deschamps L. Stephan L. Cabon J.-Y. Giamarchi P. Direct laser photo-induced fluorescence determination of bisphenol A // *Anal. Bioanal. Chem.* 2011; 401; 3011-3017. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5375-7>

23. Rudakov O.B., Xoroxordina E.A., Rudakova L.V., Chan X.D. Opredelenie

bisfenola A, triklozana i nonilfenola v materialax i e`kstraktax metodom TSX, sovmeshenny`m s cifrovoj czvetometriej. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2016; 16(5); 686-694. (In Russ.)

24. Rudakov O.B., Xoroxordina E.A., Glazkov S.S. Kontrol` otverzheniya e`poksidnoj smoly` po sodержaniyu svobodnogo bisfenola A metodom TSX. *Analitika i kontrol`*. 2017; 21(2): 135-143. <https://doi.org/10.15826/analitika.2017.21.2.004> (In Russ.)

25. Rudakov O. B. Xoroxordina E.A. E`kspressny`e metody` kontrolya kachestva i bezopasnosti texnicheskix materialov. *Voronezh: Voronezhskij gosudarstvenny`j texnicheskij universitet*, 2017. 103 s. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Я.О. Рудаков – инженер кафедры химии и химической технологии материалов Воронежского государственного технического университета, аспирант кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета Воронеж, Россия

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

А.М. Хорохордин – руководитель Центра коллективного пользования Воронежского государственного технического университета, Воронеж, Россия

А.А. Волков – студент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Ya.O. Rudakov – of Department of chemistry and chemical technology of materials of Voronezh state technical University, postgraduate student of the Department of Analytical Chemistry of Voronezh State University Voronezh, Voronezh, Russia, e-mail: robi57@mail.ru

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

A.M. Khorokhordin – Head of the Center for Collective Use of Voronezh State Technical University, Voronezh, Russia

A.A. Volkov – student of Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russia

Статья поступила в редакцию 10.07.2023; одобрена после рецензирования 13.08.2023; принята к публикации 16.08.2023.

The article was submitted 10.07.2023; approved after reviewing 13.08.2023; accepted for publication 16.08.2023.



Original article

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11574

Kinetic features of the adsorption of menthol enantiomers on *o*-toluic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality

Eduard V. Belonogov[✉], Idris N. Muslimov, Ilya M. Zinoviev, Vladimir Yu. Guskov
Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, edikbelonogov74@mail.ru[✉]

Abstract. Chirality plays a key role in modern science because it is the distinguishing feature of molecules and crystals. The spontaneous emergence of chirality in the absence of detectable chiral physical and chemical sources has recently advanced significantly due to the deracemization of conglomerates through Viedma ripening. As a result, systems based on supramolecular chirality are obtained. Of particular importance to this type of chirality is the fact that supramolecular chirality underlies the formation of life on Earth. One manifestation of supramolecular chirality is enantiomorphic crystals.

Previously, we studied the mechanism of supramolecular chiral recognition for enantiomorphic crystals in the case of adsorption of optically active substances on them. However, for a more detailed study of the mechanism, it is required to study a large number of chiral crystals, which differ in their physicochemical properties. In this work, we studied the adsorption kinetics of menthol enantiomers on the surface of enantiomorphic crystals of *o*-toluic acid and CsCuCl₃ with supramolecular chirality.

The Viedma ripening method was used to obtain homochiral crystals. The crystals obtained in this way were deposited on the surface of the ASKG silica gel. The kinetics of adsorption has been studied by describing chemical models of Lagergren's pseudo-first order, Ho and McKay's pseudo-second order, and the Elovich model, simplified by Chen and Clayton. Boyd model of film diffusion and Weber-Morris and Dumwald-Wagner models dealing with intraparticle diffusion were used as well.

From an analysis of the adsorption curves of menthol enantiomers, it is noticeable that the curves differ on the crystals under consideration. The enantioselectivity coefficient on crystals of *o*-toluic acid and CsCuCl₃ α , calculated as the ratio of higher adsorption to lower one, is 1.04-1.07 and 1.34-1.36 respectively. Using the *t*-test, the adsorption values of menthol enantiomers on enantiomorphic crystals of *o*-toluic acid and CsCuCl₃ were processed until equilibrium was reached. The variances of all experimental data were checked for homogeneity using the *F*-test. It follows from the obtained data that the difference in adsorption values is statistically significant for the sample modified with both *o*-toluic acid and CsCuCl₃.

Based on the results obtained in the process of modeling the adsorption kinetics of menthol enantiomers by chemical models, the adsorption rate constants were calculated. It was found that in all methods the rate constants of D-menthol and L-menthol are different, and D-menthol is adsorbed faster than L-. From the data obtained, it is noticeable that the adsorption equilibrium in the case of both samples is shifted to the right.

Thus, the difference in adsorption rate constants, as well as significant differences in the adsorption values of enantiomers in the region until adsorption-desorption equilibrium is reached, indicates that the adsorption rate of menthol enantiomers on crystals of *o*-toluic acid and CsCuCl₃ obtained under Viedma ripening conditions is different.

Keywords: *o*-toluic acid, CsCuCl₃, Viedma ripening, chiral recognition, supramolecular chirality, adsorption kinetic.

Acknowledgments: the financial support of Russian Science Foundation is gratefully acknowledged (project № 19-73-10079).

For citation: Belonogov E.V., Muslimov I.N., Zinoviev I.M., Guskov V.Yu. Kinetic features of the adsorption of menthol enantiomers on *o*-toluic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 657-666. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11574>



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.543

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11574

Кинетические особенности адсорбции энантиомеров ментола на кристаллах орто-толуиловой кислоты и CsCuCl_3 с супрамолекулярной хиральностью

Эдуард Владимирович Белоногов[✉], Идрис Ниматджонович Муслимов,
Илья Михайлович Зиновьев, Владимир Юрьевич Гуськов

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия, edikbelonogov74@mail.ru[✉]

Аннотация. Хиральность играет ключевую роль в современной науке, поскольку она представляет собой отличительную особенность молекул и кристаллов. Самопроизвольное появление хиральности в отсутствие обнаруживаемых хиральных физических и химических источников в последнее время значительно продвинулось вперед благодаря дерацемизации конгломератов посредством созревания Виедмы. В результате этого получают системы, основанные на супрамолекулярной хиральности. Особую важность данному виду хиральности придает то, что супрамолекулярная хиральность лежит в основе формирования жизни на Земле. Одним из проявлений супрамолекулярной хиральности являются энантиоморфные кристаллы.

Ранее нами был изучен механизм супрамолекулярного хирального распознавания для энантиоморфных кристаллов в случае адсорбции на них оптически активных веществ. Однако, для более детального изучения механизма, требуется исследовать большое количество хиральных кристаллов, которые отличаются по физико-химическим свойствам. В данной работе изучена кинетика адсорбции энантиомеров ментола на поверхности энантиоморфных кристаллов о-толуиловой кислоты и CsCuCl_3 с супрамолекулярной хиральностью.

Для получения гомохиральных кристаллов применялся метод созревания Виедмы. Кристаллы, полученные таким образом были нанесены на поверхность силикагеля АСКГ. Кинетика адсорбции изучалась описанием химическими моделями псевдо-первого порядка Лагергрена, псевдо-второго порядка Хо и Маккея, а также модель Еловича, упрощенное Ченом и Клейтоном. Также применялись диффузионные уравнения Вебера-Морриса, Бойда и Думвальда-Вагнера.

Из анализа кривых адсорбции энантиомеров ментола заметно, что кривые различаются на рассматриваемых кристаллах. Коэффициент энантиоселективности на кристаллах о-толуиловой кислоты и CsCuCl_3 α , рассчитываемый как отношение большей адсорбции к меньшей, составляет 1.04-1.07 и 1.34-1.36 соответственно. С помощью t-критерия были обработаны значения адсорбции энантиомеров ментола на энантиоморфных кристаллах о-толуиловой кислоты и CsCuCl_3 до достижения равновесия. Дисперсии всех экспериментальных данных проверялись на предмет однородности с помощью F-критерия. Из полученных данных следует, что различие значений адсорбции статистически значимо на образце, модифицированном как о-толуиловой кислотой, так и CsCuCl_3 .

По результатам, полученных в процессе моделирования кинетики адсорбции энантиомеров ментола химическими моделями, вычислили константы скорости адсорбции. Было установлено, что во всех методах константы скорости D-ментола и L-ментола различаются, причем D-ментол адсорбируется быстрее, чем L-. Из полученных данных заметно, что адсорбционное равновесие в случае обоих образцов смещено вправо.

Таким образом, различие констант скорости адсорбции, а также значимые отличия значений адсорбции энантиомеров в области до достижения адсорбционно-десорбционного равновесия свидетельствует о том, что скорость адсорбции энантиомеров ментола на полученных в условиях созревания Виедмы кристаллах о-толуиловой кислоты и CsCuCl_3 различна.

Ключевые слова: о-толуиловая кислота, CsCuCl_3 , созревание Виедмы, кривые адсорбции, хиральное распознавание, супрамолекулярная хиральность, модель псевдо-первого порядка Лагергрена, модель псевдо-второго порядка Хо и Маккея, модель Еловича, модель Бойда, модель Вебера-Морриса, модель Думвальда-Вагнера.



Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-73-10079)

Для цитирования: Belonogov E.V., Muslimov I.N., Zinoviev I.M., Guskov V.Yu. Kinetic features of the adsorption of menthol enantiomers on o-toluylic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 657-666.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11574>

Introduction

Chirality is an inherent property of natural materials, including minerals, organic molecules, and biological structures. Chirality can be identified both in molecules and in supramolecular formations, such as crystals [1]. Pasteur was the first, who noticed the analogy between crystals and molecules in this context. He realized that the non-identity of a crystal (or a molecule) with its own specular reflection is due to what he called dissymmetry. It is known that the two enantiomers differ in their physiological effects: one enantiomer may be an effective drug, while the other may be toxic. Therefore, the development of new methods for chiral recognition and separation of optical isomers is of practical importance for drugs and biologically active compounds design. In chromatography, in the most cases, enantiomers are separated by interaction with a chiral selector, which is either fixed to a solid substrate or added to the mobile phase. As a result of the interaction, diastereomeric complexes are formed between the enantiomers of the analyzed substance and the chiral selector. They differ in physical and chemical characteristics. Due to this approach, more than 50 years ago Davankov [2, 3] and Gil-Av [4] performed the first chromatographic separations of enantiomers. Enantioselective stationary phases based on cyclodextrins have been used in gas chromatography for several decades. Cyclodextrins occupy a leading position in chiral GC, but many challenges require more selective chiral stationary phases.

In this context, concepts based on supramolecular chirality were tempting. Supramolecular chirality implies a dissymmetric arrangement of molecular components in a non-covalent assembly. Elements with this type of chirality can be obtained as a result

of a certain spatial arrangement of molecules [5]. In this case, they have higher levels of hierarchy than simple molecules – they consist of several layers of molecules or atoms. Chiral supramolecular structures can be formed from both chiral and achiral molecules. The latter can be used either in the case of an external source of chirality, or by spontaneous violation of chiral equilibrium. Enantiomorphic crystals are the examples of elements with supramolecular chirality. These objects is usually obtained by crystallization of optically pure substances [6]. However, in some cases optically pure crystals can also be obtained from molecular achiral compounds. Such crystals are suitable for studying the effect of supramolecular chiral recognition, because there is no effect of chiral molecular recognition.

Among a lot of methods for obtaining individual enantiopure crystals from a racemic or achiral solution, the method of Viedma ripening has shown the greatest reliability. In this process, the ratio of the crystallization centers of the two optical forms is disrupted by continuous grinding of the suspension. Further, the Frank autocatalytic process leads to a complete shift in the chiral equilibrium: the crystals of one of the enantiomorphs completely dissolve and the other enantiomorph crystallizes.

Previously, Viedma ripening was successfully applied to obtain enantiomorphic crystals of achiral molecules. These crystals were studied for their ability to recognize enantiomers in adsorption processes. It was found that the chiral recognition of enantiomers was caused by different energies of lateral interactions of adsorbate on the crystal surface. So there was a difference in the thermodynamic characteristics of the adsorption of enantiomers. However, it was previously determined that the Van Deemter curves for optical isomers have differed. Therefore,

there may also be differences in the rate of adsorption of enantiomers. However, this phenomenon has not been thoroughly studied.

In this paper, the kinetics of menthol enantiomers adsorption on *o*-toluic acid and CsCuCl₃ crystals with supramolecular chirality was studied. Various models have been used to describe kinetic curves, such as Lagergren's pseudo-first-order model, Ho and McKay's pseudo-second-order model, and the Elovich model simplified by Chen and Clayton. Boyd model of film diffusion [12] and Weber-Morris [13] and Dumwald-Wagner [14] models dealing with intraparticle diffusion were used as well.

Experimental part

o-Toluic acid crystals (99%, Sigma Aldrich, China, CAS No. 118-90-1) and CsCuCl₃ were selected as the compounds for crystallization. The latter were obtained by the reaction of CuCl₂ (>99%, Reachim, St. Petersburg, Russia, 7447-39-4) and CsCl (>99%, Reachim, St. Petersburg, Russia, 7647-17-8)

To obtain homochiral crystals, the method of Viedma ripening was used. To obtain enantiopure crystals of *o*-toluic acid, 17 g of *o*-toluic acid were dissolved in 160 ml of acetonitrile. 9 g of glass beads were added to create a "mill" effect. The resulting suspension was stirred at a speed of 1000 rpm for 2 hours, and then left to ripe for two days [7].

To obtain CsCuCl₃ crystals, a saturated solution containing 57.2 g of CsCl in acidified water was gradually added to a solution containing 110.8 g of CuCl₂ at 32 °C (pH=1.39). The resulting solution was intensively stirred in the presence of glass beads at a speed of 1300 rpm. Then the temperature was reduced to room temperature and stirring was continued for 2 days. The solution was left for 7 days in an open flask to complete the autocatalytic process. The suspension was filtered, and the resulting precipitate was dried in a desiccator over CaCl₂ for a day. After that, the adsorbent was additionally dried in a nitrogen stream for an hour.

As a result, crystals of a characteristic garnet-black color were obtained.

The specific surface area of the crystals is several m²/g. For this reason, the value of adsorption on crystals is too small for reliable chiral discrimination determination. Therefore, to increase the specific surface area, the obtained crystals were applied on the surface of ASKG silica gel (Reachim, St. Petersburg, Russia, CAS No. 112926-00-8). To apply *o*-toluic acid, 220 ml of acetonitrile and 10 g of crystals were added to 50 g of ASKG silica gel. The suspension was stirred for 2 hours, and then the precipitate was filtered and dried. To apply CsCuCl₃ crystals, a saturated solution of CsCl in acidified water was gradually added to the CuCl₂ solution with continuous stirring (pH=1.39). 5 g of previously obtained CsCuCl₃ crystals were added to the solution, then stirred for 30 minutes. Then 50 g of silica gel was added. The stirred solution was evaporated at room temperature until stirring became impossible.

The adsorption of menthol enantiomers from solutions was studied using the following algorithm. A 0.5 g silica gel sample modified with *o*-toluic acid or CsCuCl₃ was added to a solution of D- or L-menthol in *n*-heptane. The volume of the solution was 20 ml. The concentration of menthol in the case of studying the adsorption activity of *o*-toluic acid was 70 µg / ml; for CsCuCl₃ – 220 µg/ml. The choice of menthol concentrations was determined by the analysis of previously obtained data [8]. The concentration was chosen when the difference in the adsorption of enantiomers by modified enantiomorphous silica gel crystals was maximal. The volume of the analyzed substance was 5 µl. To obtain kinetic adsorption curves, samples were taken after adding the sorbent for certain periods of time.

The amount of the adsorbed substance was determined using a Crystall-5000.2 gas chromatograph with a flame ionization detector with an SBP-1 capillary column measuring 30m·0.53mm. The temperature of the evaporator and detector was 220 °C. The adsorbed substances were D-menthol (99%,



Sigma Aldrich, Germany, CAS No. 15356-60-2) and L-menthol (99%, Sigma Aldrich, China, CAS No. 2216-51-5).

The equilibrium adsorption value (a , $\mu\text{mol/g}$) was calculated as follows:

$$a = \frac{(c_0 - c_x)V}{Mm}, \quad (1)$$

where c_0 was the concentration before adsorption of $\mu\text{g/ml}$; c_x was the concentration after adsorption, $\mu\text{g/ml}$; V was n-heptane volume, ml, M was the molecular weight of menthol, g/mol, and m is the mass of the adsorbent. The relative standard deviation for adsorption values did not exceed: on CsCuCl₃ for L-menthol – 2.3%, for D-menthol – 3.3%, on o-toluic acid for L-menthol – 4.6%, for D-menthol – 9.8%.

The kinetic curves were approximated using pseudo-first-order Lagergren, pseudo-second-order Ho and McKay models, as well as the Elovich model, as well as Boyd, Weber-Morris and Dumwald-Wagner diffusion models.

The pseudo-first-order Lagergrenian equation in linear form looks like this [9]:

$$\ln(a_e - a) = \ln a_e - k_1 t, \quad (2)$$

where a_e was the adsorption value when the adsorption equilibrium was reached, a was the adsorption value at time t , and k_1 was the pseudo-first-order rate constant, min^{-1} . From a physicochemical point of view, a pseudo-first-order model will describe experimental data only if the adsorption is limited by the transport of molecules from solution to adsorbent. This is because the model describes cases of film diffusion, which controls the rate of adsorption during the first few minutes in experiments with mixing [10].

The pseudo-second-order equation of Ho and McKay [11] in the integrated form, can be calculated as follows [12]:

$$\frac{t}{a} = \frac{1}{k_2 a_e^2} + \frac{t}{a_e} \quad (3)$$

where k_2 is the pseudo-second-order adsorption rate constant, $\text{g}/(\mu\text{mol}\cdot\text{min})$.

This equation allows us to consider not only the sorbate-sorbent interactions, but also the intermolecular interactions of the adsorbed substances, which determines the

high adequacy of using the kinetic model of Ho and McKay.

The Elovich equation is often used to describe the kinetics of adsorption of substances in heterogeneous systems, with considering the sorption capacity. The Elovich equation simplified by Chen and Clayton [13], has the following form:

$$a = \frac{1}{\beta} \cdot \ln(\alpha \cdot \beta) + \frac{1}{\beta} \ln t, \quad (4)$$

where α was the initial adsorption rate constant, $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$; β was the desorption constant, $\mu\text{mol/g}$.

This equation was previously successfully used to describe the chemisorption of gas molecules on a sorbent. A general explanation of this form of kinetic law involves a change in the chemisorption energy depending on the surface coverage. But in recent years this equation has been widely used to describe the kinetics of gas adsorption by solids [20].

For the primary distinction between intra- and external diffusion limitation of adsorption the diffusion models of Boyd and Weber-Morris can be used. The Boyd equation, proposed in 1947, suggested that the film diffusion is the rate limiting step. The equation can be written as follows:

$$\ln\left(1 - \frac{a}{a_e}\right) = -k_{p1} t, \quad (5)$$

where k_{p1} (min^{-1}) is liquid film diffusion constant [21]. Weber-Morris model assumed that the intraparticle diffusion is the sole rate-limiting step. In this case, the amount of adsorbed substance was linked with adsorption time by the following equation:

$$a = k_{\text{int}} \cdot t^{1/2}, \quad (6)$$

where k_{int} is the intraparticle diffusion rate constant. Additionally, a Dumwald-Wagner model was used:

$$\log\left(1 - \left(\frac{a}{a_e}\right)^2\right) = -\frac{K}{2.303} t, \quad (7)$$

where K (min^{-1}) is the rate constant of adsorption.

Results and discussion

On Figure 1 the kinetic curves of the adsorption of D-menthol and L-menthol on silica gel modified with o-toluic acid crystals,

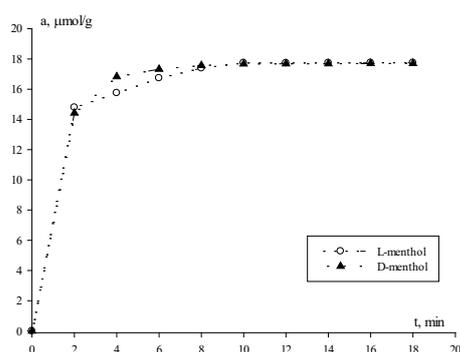


Fig. 1. Adsorption curves of menthols on o-toluic acid crystals obtained under Viedma ripening conditions.

obtained under Viedma ripening conditions, were shown. As can be seen from the presented data, the kinetic curves of enantiomers adsorption have differed. Before reaching equilibrium, D-menthol was adsorbed more strongly than L-menthol. Thus, after 2 minutes, the L-menthol adsorption was 14.8 $\mu\text{mol/g}$, while the adsorption of D-menthol was 15.7 $\mu\text{mol/g}$. The enantioselectivity coefficient α , calculated as the ratio of higher adsorption to lower adsorption, was 1.06. After 4 minutes, the largest difference in adsorption values was observed. They were 15.8 and 16.8 $\mu\text{mol/g}$ for L-menthol and D-menthol, respectively ($\alpha=1.07$). At the 6th minute, the adsorption value of L-menthol was 16.7 $\mu\text{mol/g}$, D-menthol – 17.3 $\mu\text{g/ml}$ ($\alpha=1.04$). By 8 minutes, adsorption-desorption equilibrium was reached, and no differences in adsorption values were observed. Thus, the analysis of the obtained kinetic curves made it possible to assume differences in the adsorption rate.

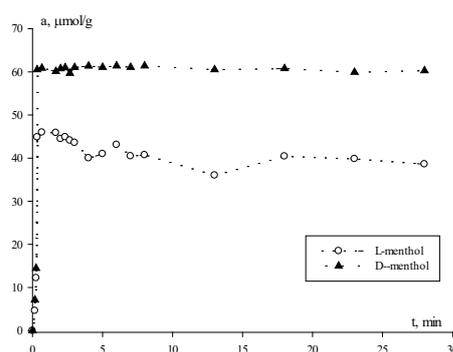


Fig. 2. Adsorption curves of menthols on CsCuCl_3 crystals obtained under Viedma ripening conditions.

Figure 2 has shown the kinetic curves of adsorption on silica gel modified with CsCuCl_3 crystals. As can be seen from the obtained data, the adsorption curves of menthol enantiomers have also differed. It should be noted that the time of establishment of adsorption equilibrium between the modified samples has differed too. Thus, in the case of CsCuCl_3 , adsorption equilibrium was established already at 20 s, which is 24 times faster than in the sample with o-toluic acid.

The t-test was used to prove the relevance of the difference in the adsorption values of enantiomers. This statistical method consists in proposing and testing a null hypothesis about the coincidence of two sets of parallel data by comparing the experimental values of the t-test and the extreme boundary value tabulated depending on the number of measurements and the confidence level. If the experimental value is below the extreme value ($\alpha=0.05$), this indicates that the two values

Table 1. Values of t-criterion and F-criterion for pairs of values of menthol adsorption on crystals of o-toluylic acid and CsCuCl_3 (critical degree of significance $\alpha=0.05$)

o-toluylic acid		
t, min	t-test	F-test
2	0.0017	fulfilled
4	$9.95 \cdot 10^{-7}$	fulfilled
6	$2.87 \cdot 10^{-7}$	fulfilled
8	$1.30 \cdot 10^{-3}$	fulfilled
CsCuCl_3		
t, s	t-test	F-test
10	0.0147	fulfilled
15	0.0230	fulfilled



are different. In this work, the null hypothesis was the assumption that the adsorption values of menthol enantiomers belong to the same sample set. Using the t-test, the adsorption values of menthol enantiomers on enantiomorphic crystals of o-toluic acid and CsCuCl₃ were processed until equilibrium was reached. Previously, the dispersions of all experimental data were checked for homogeneity using the F-test. In all cases, the dispersions were homogeneous. The obtained data of the *p* values of the t-test are given in Table 1. As can be seen from the obtained values, the difference in adsorption values is statistically significant for the sample modified with both o-toluic acid and CsCuCl₃. Thus, the fact of the difference between the kinetic curves of menthol enantiomers adsorption on the studied adsorbent samples was confirmed.

In the case of menthols adsorption on silica gel modified with CsCuCl₃, due to the high rate of establishment of adsorption-desorption equilibrium, the use of various kinetic models was difficult. Therefore, the experimental curves were approximated only for the adsorption of menthols on silica gel modified with o-toluic acid.

In Figure 3, the kinetics of menthols adsorption in the coordinates of Lagergren's pseudo-first-order model was described. It can be seen from the figure, that the adsorption kinetics was adequately described only for D-menthol. This was confirmed by high correlation coefficients (Table 3). Hence, in the case of D-menthol, the limiting stage was the diffusion to the adsorbent, and in the case of L-menthol, it can be otherwise. By Lagergren's model, the rate constants of adsorption were calculated (Table 3). For L-menthol the rate constant was 0.7766 min⁻¹, while for D-menthol it was 0.4781 min⁻¹.

Ho and McKay's pseudo-second order equation is widely used to describe the kinetic laws of adsorption. The plotting of curves (Fig. 4) in the *t/a - t* coordinates makes it possible to analyze the experimental data from the point of view of the Ho and McKay rate model. As can be seen from

the graph, this model was able to adequately describe the experimental data on the adsorption kinetics for both D- and L-menthol. The results of the determination made it possible to calculate the reaction rate constants equal to 0.08 g/(μmol·min) and 0.17 g/(μmol·min) for L-Menthol and D-Menthol, respectively.

The Elovich model, simplified by Chen and Clayton [15], was used to estimate the adsorption and desorption constants. Data linearization in the coordinates of the Elovich model also did not cause difficulties (Fig. 5). The equation constants can be determined by drawing the dependence *a - lg t* from the slope and the segment cut off by the straight line on the y-axis. The initial rate constant (α) of adsorption and desorption constant (β) for L-menthol were 820 μmol/g·min and 0.51 μmol respectively, while for D-menthol α and β were 386000 μmol/g min and 0.85 μmol/g, respectively. From the data obtained, it is noticeable that the adsorption equilibrium in the case of both samples is shifted to the right. The dependence in the values of the adsorption rate constants has coincided with the previous methods - D-menthol was adsorbed faster than L-. Differences were observed only in the ratio of rate constants.

The Lagergren, Ho and McKay and Elovich models were used only for comparing adsorption rate constants of enantiomers. From the data obtained one can see the different kinetics of adsorption for enantiomers. Enantiomer diffusion in solution should be equal because of solvent achiral nature. So, if diffusion was rate-limiting step, no enantioselectivity should be observed. One can conclude that the rate-limiting step was adsorption.

From this insight, it is interesting to analyze the results of curve approximation using the diffusion models. Thus, Boyd model describes diffusion out of particle, but it has approximated the experimental data with high

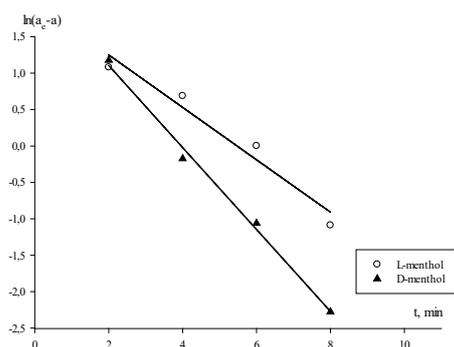


Fig. 3. Description of the kinetics of adsorption of menthols in the coordinates of Lagergren's pseudo-first-order model.

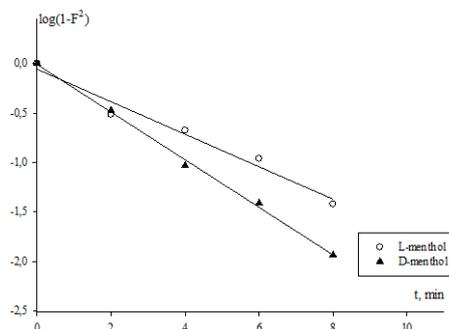


Fig. 4. Description of the adsorption kinetics of menthols in the coordinates of the Dumwald-Wagner model

Table 2. Parameters of approximation of the o-toluic acid kinetic curve by the models used

Model name	Parameter	L-Menthol	D-Menthol
Pseudo-first order of Lagergren	Rate constant	0.36	0.56
	R	0.977	0.997
Pseudo-second order Ho and McKay	Adsorption rate constant	0.080	0.11
	R	0.999	0.999
The Elovich model	The constant of the initial rate of adsorption	1152	2435
	Desorption constant	0.51	0.57
	R	0.983	0.927
Weber-Morris model	Intraparticle diffusion rate constant.	6.18	6.38
	R	0.936	0.941
Boyd Model	Kinetic coefficient	0.45	0.63
	R	0.973	0.994
The Dumwald-Wagner model	Rate constant of adsorption	0.38	0.55
	R	0.986	0.999

correlation coefficients. Moreover, the kinetic coefficients for enantiomers have differed. The Weber-Morris model wasn't fit data well, unlike of Dumwald-Wagner equation (see Fig. 4). The last has shown the best fitting among the diffusion models used. Non-linearity $a - t^{1/2}$ dependences in the coordinates of the Weber-Morris equation could indicate a potential mixed-diffusion mechanism of adsorption kinetics, when the process cannot uniquely limited by external or internal diffusion.

So, there can be two points of view on kinetic mechanism. From the one hand, the results of approximation can indicate the mixed mechanism, with diffusion and adsorption rate are closed to each other. In the other hand, the absence of dependence between the fitting results of pseudo-first- and pseudo-first-order rate equations and kinetic mechanisms was thoroughly proved by Khamizov [22-24]. So there is a question, how we can trust to use the fitting quality to making conclusions about kinetic mechanism. Maybe a good fitting of experimental

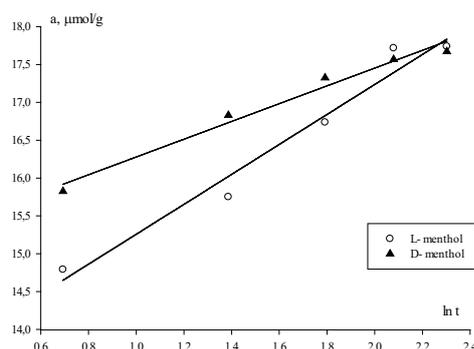


Fig. 5. Description of the adsorption kinetics of menthols in the coordinates of the Elovich models

data by Boyd model has only a mathematical nature.

Conclusion

Thus, the reliable differences in enantiomers adsorption values in the region before adsorption-desorption equilibrium were reached. The difference in adsorption rate constants was observed as well. It has indicated that the adsorption rate of menthol enantiomers on crystals of *o*-toluic acid and CsCuCl_3 obtained under Viedma ripening conditions was different. This phenomenon

References

1. Viedma C., Coquerel G., Cintas P. Crystallization of Chiral Molecules. Handbook of Crystal Growth. Nishinaga T. Tokyo, Japan: Elsevier, 2015: 951-1002.
2. Rogozhin S.V., Davankov V.A. Ligand chromatography on asymmetric complex-forming sorbents as a new method for resolution of racemates. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*. 1971;10: 490.
3. Davankov V.A., Rogozhin S.V. Ligand chromatography as a novel method for the investigation of mixed complexes: stereoselective effects in α -amino acid copper (II) complexes. *Journal of Chromatography A*. 1971; 60(2): 280-283.
4. Gil-Av E., Feibush B., Charles-Sigler R. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetrahedron Letters*. 1966; 7(10): 1009-1015.
5. Liu M., Zhang L., Wang T. Supramolecular chirality in self-assembled systems. *Chem. Rev.* 2015;115(15): 7304-7397.

was discovered for the first time in this work. Differences in the kinetics of adsorption of enantiomers on adsorbents with a supramolecular chiral surface open up new opportunities for developing technologies for the separation of optical isomers.

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.

6. Walsh M.P., Barclay J.A., Begg C.S., Xuan J., Johnson N.T., Cole J.C., Kitching M.O. Identifying a hidden conglomerate chiral pool in the CSD. *JACS Au*. 2022; 2: 2235-2250.

7. Zinovyev I., Ermolaeva E., Sharafutdinova Y., Gilfanova E., Khalilov L., Pavlova I., Guskov V. Manifestation of supramolecular chirality during adsorption on CsCuCl_3 and γ -glycine crystals. *Symmetry*. 2023; 15: 498-512.

8. Muslimov I.N., Gus'kov V.YU. Osobennosti supramolekulyarnogo hiral'nogo raspoznavaniya pri adsorbicii na poverhnosti kristallov orto-toluilovoj kisloty. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023; 23(2): 189-198. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/1143> (In Russ.)

9. Lagergren S. About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. Handlingar*. 1898; 24(4): 1-39.

10. Yuh-Shan H., McKay G. Sorption of dye from aqueous solution by peat. *Chemical Engineering Journal*. 1998; 70(2): 115-124.



11. Chien S.H., Clayton W.R. Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1980; 44; 265-268.
12. Boyd G.E., Adamson A.W., Myers L.S. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by organic zeolites, II, Kinetics. *Journal of American Chemical Society*. 1947; 69(11): 2836-2848.
13. Alkan M., Demirbaş Ö., Doğan M. Adsorption kinetics and thermodynamics of an anionic dye onto sepiolite. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2007; 101(3): 388-396.
14. Wang H.L., Chen J.L., Zhai Z.C. Study on thermodynamics and kinetics of adsorption of p-toluidine from aqueous solution by hypercrosslinked polymeric adsorbents. *Environmental Chemistry*. 2004; 23(2): 188-192.
15. Abraham M.H., Whiting G.S., Doherty R.M. Hydrogen bonding XVI. A new solute solvation parameter, from gas chromatographic data. *Journal of Chromatography*. 1991; 587: 213-228.
16. Yuh-Shan H. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. *Scientometrics*. 2004; 1(59): 171-177.
17. Douven S., Paez C.A., Gommès C.J. The range of validity of sorption kinetic models. *Journal of colloid and interface science*. 2015; 448: 437-450.
18. Yuh-Shan H. Review of second-order models for adsorption systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2006; 3(136): 681-689.
19. Sparks D.L. Kinetics of Soil Chemical Processes. *New York: Academic Press*. 1989; 76: 210.
20. Rudzinski W., Panczyk T. Kinetics of isothermal adsorption on energetically heterogeneous solid surfaces: a new theoretical description based on the statistical rate theory of interfacial transport. *J. Phys. Chem.* 2000; 104; 9149-9162.
21. Hui QIU L.L., Bing-cai PAN, Qing-jian ZHANG, Wei-ming ZHANG, Quan-xing ZHANG Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University SCIENCE A*. 2009; 10(5): 716-724.
22. Khamizov R.H., Sveshnikova D.A., Kucherova A.E., Sinyaeva L.A. Modeli kinetiki sorbcionnyh processov v ogranichennom ob'yome. *ZHurnal fizicheskoy khimii*. 2018; 92(9): 1451-1460. (In Russ.)
23. Khamizov R.H., Sveshnikova D.A., Kucherova A.E. Kineticheskaya model' sorbcionnyh processov v ogranichennom ob'yome: sravnenie raschyotnyh i eksperimental'nyh dannyh. *ZHurnal fizicheskoy khimii*. 2018; 92(10): 1619-1625. (In Russ.)
24. Khamizov R.H. O kineticheskom uravnenii psevdovtorogo poryadka v sorbcionnyh processah. *ZHurnal fizicheskoy khimii*. 2020; 94(1): 125-130.

Информация об авторах / Information about the authors

Э.В. Белоногов – аспирант 1 года обучения химического факультета Уфимского университета науки и технологий, Уфа, Россия

И.Н. Муслимов – магистрант 2 года обучения химического факультета Уфимского университета науки и технологий, Уфа, Россия

И.М. Зиновьев – магистрант 2 года обучения химического факультета Уфимского университета науки и технологий, Уфа, Россия

В.Ю. Гуськов – д.х.н., профессор, заведующий кафедрой аналитической химии химического факультета Уфимского университета науки и технологий, Уфа, Россия

E.V. Belonogov – post-graduate student of 1 year, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: edikbelonogov74@mail.ru

I.M. Muslimov – magistracy student of 2 year, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: muslimovidris1999@gmail.com

I.M. Zinoviev – magistracy student of 2 year, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: ilyaya97@gmail.com

V.Yu. Gus'kov – Head of Chair, Prof., PhD of Chemistry, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: guscov@mail.ru

Статья поступила в редакцию 31.03.2023; одобрена после рецензирования 17.04.2023; принята к публикации 19.04.2023.

The article was submitted 31.03.2023; approved after reviewing 17.04.2023; accepted for publication 19.04.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 533.583.2

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11573

Равновесие сорбции стероидных сапонинов *Tribulus Terrestris* на природном полимерном сорбенте - хитозане

Наталья Владимировна Мироненко¹✉, Владимир Федорович Селеменев¹,
Ульяна Сергеевна Ищенко¹, Ирина Викторовна Шкутина²

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, natashamir@yandex.ru✉

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Стероидные сапонины обладают широким спектром фармакологического действия и поэтому находят весьма широкое применение в фармакологической практике. Хитозан является уникальным в своем роде материалом. Его биосовместимость, биodeградируемость, нетоксичность, а также катионная природа раскрывают потенциал данного биополимера в качестве носителей ЛС для их адресной доставки. Иммунизация биологически активных веществ может осуществляться самыми различными способами – это могут быть как наномицеллы с инкапсулированным препаратом, так и их полиэлектролитные комплексы с олигохитозанами в зависимости от природы активного вещества. В работе проведено исследование сорбционного поглощения сапонинов хитозаном в равновесных условиях. Проведен анализ равновесных кривых сорбции сапонины *Tribulus Terrestris* на хитозане. Выявлено наличие локального минимума на изотерме в области концентраций раствора, соответствующих мицеллообразованию. Установлено, что ход кривых изотермы сорбции сапонины определяется конкурирующими процессами ассоциации в растворе и на поверхности хитозана. pH раствора не изменяется, это свидетельствует об отсутствии ионного взаимодействия с участием протонированной аминогруппы хитозана. Изучено влагосодержание хитозана в процессе поглощения сапонины. Выявлен антибатный характер кривых сорбционного поглощения и влагосодержания хитозана. Проведен анализ изотермы сорбции сапонины с применением адсорбционных теорий Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ. Высокие значения коэффициентов корреляции позволяют применять уравнение Фрейндлиха для количественного описания изотермы на начальном участке, а для анализа всей изотермы использовать теорию БЭТ, учитывая полимолекулярный характер сорбции. Полученные результаты по описанию изотермы сорбции сапонины согласуются с предложенным механизмом его поглощения хитозаном. Методом ИК-спектроскопии установлено, что взаимодействие в системе «сорбент-сорбат» обусловлено возникающими водородными связями между амино-, гидроксильными группами хитозана и гидроксильными группами углеводов сапонины. Полученные результаты, а также литературные данные подтверждают образование полостей в полисахаридах, в которые «внедряется» сапонины. В нашем случае рассматривается наличие полостей, образованных семью мономерными фрагментами хитозана, устойчивость которых фиксируется водородными связями.

Ключевые слова: сапонины, хитозан, сорбция, ассоциация, H-связи, изотерма сорбции.

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: Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф., Ищенко У.С., Шкутина И.В. Равновесие сорбции стероидных сапонинов *Tribulus Terrestris* на природном полимерном сорбенте – хитозане // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 667-680. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11573>

Original article

Equilibrium of sorption of *Tribulus Terrestris* steroid saponins on a natural polymer sorbent – chitosan

Natalia V. Mironenko¹✉, Vladimir F. Selemenev¹,
Ulyana S. Ishchenko¹, Irina V. Shkutina²

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, natashamir@yandex.ru✉

²St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Abstract. Steroidal saponins have a wide spectrum of pharmacological action and therefore are widely used in pharmacological practice. Chitosan is a unique material. Its biocompatibility, biodegradability, non-toxicity, as well as its cationic nature reveal the potential of this biopolymer as a carrier of drugs for their targeted delivery. The immobilization of biologically active substances can be carried out in a variety of ways - nanomicelles with an encapsulated drug or their polyelectrolyte complexes with oligochitosans, depending on the nature of the active substance. The study of the sorption of saponins by chitosan under equilibrium conditions was studied. An analysis of the equilibrium curves of sorption of *Tribulus Terrestris* saponin on chitosan was carried out. The presence of a local minimum on the isotherm in the region of solution concentrations corresponding to micellization was revealed. It has been established that the course of the saponin sorption isotherm is determined by competing association processes in a solution and on the surface of chitosan. The pH of the solution did not change, which indicated the absence of ionic interactions involving the protonated amino group of chitosan. The moisture content of chitosan during the sorption of saponin was studied. The antibatic nature of the absorption curves and moisture content curves of chitosan was revealed. An analysis of the saponin sorption isotherm was carried out using the adsorption theories of Langmuir, Freundlich, and BET. High values of the correlation coefficients allowed us to use the Freundlich equation for a quantitative description of the isotherm in the initial section, and to analyse the entire isotherm using the BET theory, which takes into account the polymolecular nature of sorption. The results obtained for the description of the sorption isotherm of saponin were consistent with the proposed mechanism of its absorption by chitosan.

Using IR spectroscopy, it was established that the interaction in the sorbent-sorbate system was due to the emerging hydrogen bonds between the amino and hydroxyl groups of chitosan and the hydroxyl groups of saponin carbohydrates. The results obtained, as well as literature data, confirm the formation of cavities in polysaccharides into which saponin is “incorporated”. In our case, the presence of cavities formed by seven monomer fragments of chitosan, the stability of which is fixed by hydrogen bonds was discussed.

Keywords: saponin, chitosan, sorption, association, H-bonds, sorption isotherm.

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: Mironenko N.V., Selemenev V.F., Ishchenko U.S., Shkutina I.V. Equilibrium of sorption of *Tribulus Terrestris* steroid saponins on a natural polymer sorbent – chitosan. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 667-680. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11573>

Введение

Лидирующее положение среди природных соединений, обладающих широким спектром терапевтического действия, занимают стероидные сапонины, выделенные из лекарственного растения *Tribulus Terrestris* [1, 2]. Они находят применение в медицине и косметологии, но из-за гемолитической активности и сильного раздражающего действия их исполь-

зуют ограниченно [2]. Снизить порог токсичности вещества при сохранении фармакологического эффекта позволяет инновационное направление в технологии изготовления лекарственных средств - сорбционное связывание с использованием матриц-энтеросорбентов [3].

Биополимеры на основе хитозана являются многообещающим материалом для доставки лекарственных средств различной природы благодаря их биосовместимости, характеристикам разложения и

нетоксичной природе. Причинами его использования являются возможность модификации аминогруппы и способность к образованию большого количества водородных связей, которые позволяют связывать широкий спектр органических водорастворимых веществ, сохраняя полезные характеристики [4].

К настоящему времени опубликован ряд работ [3-6], посвященных исследованию сорбции биологически активных веществ на синтетических и природных сорбентах. Однако представленные в них выводы о характере взаимодействия вещества и сорбента противоречивы. В связи с этим целью данного исследования является установление закономерностей сорбции стероидного сапонины *Tribulus Terrestris* на хитозане в равновесных условиях.

Полученные экспериментальные данные позволят расширить представления о механизме связывания гликозидных соединений с биополимерами, имеющие интерес как для практического использования полученных результатов в области концентрирования и разделения веществ подобной структуры, так и для установления общих теоретических закономерностей их сорбционного поглощения.

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлась суммарная фракция сапонинов, выделенных из лекарственного растения *Tribulus Terrestris*. В результате проведенного ана-

лиза методом ТСХ (подвижная фаза бутанол-уксусная кислота-вода в соотношении 4:5:1, детектирующий реагент – 1% раствор ванилина в серной кислоте 1:1) был идентифицирован основной действующий компонент - протодиосцин (рис.1), физико-химические характеристики и диаграмма состояния которого представлены в таблице 1 и на рисунке 2.

В качестве сорбента выступал хитозан (рис. 3), используемый как биологически активная добавка к пище, производства ООО «Биопрогресс» (г. Санкт-Петербург). В состав молекулы хитозана входит аминогруппа NH_2 , которая способна протонироваться в кислой среде (рис. 4). Основные характеристики образца хитозана приведены в таблице 2.

Сорбционное равновесие в системе «сапонин – хитозан» изучали при температуре 298 ± 2 К в статических условиях методом переменных концентраций. Навески сорбента массой 0.05 ± 0.0002 г в воздушно-сухом состоянии заливали в конических колбах с притертой крышкой растворами сапонины объемом 200 см^3 с концентрациями 0.02 - 20.00 ммоль/дм³. Содержимое колб выдерживали при перемешивании в течение 4 часов до установления равновесия в системе. Время, необходимое для установления равновесия, определяли в предварительных кинетических экспериментах [6]. Затем отбирали аликвоты и анализировали на содержание сапонины спектрофотометрически по методике [7].

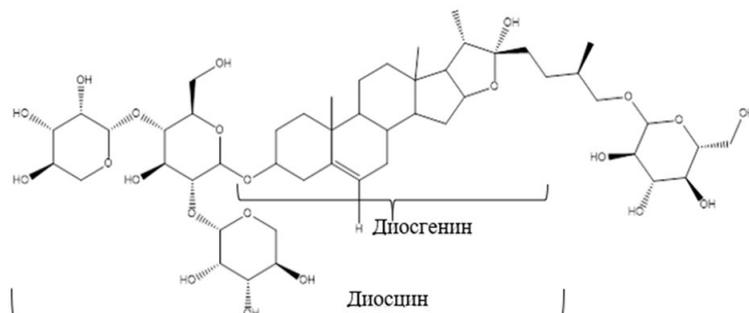


Рис.1. Химическая структура протодиосцина

Fig.1. Chemical structure of protodioscine

Таблица 1. Физико-химические свойства сапонины *Tribulus Terrestris*
 Table 1. Physico-chemical properties of *Tribulus Terrestris* Saponins

Молекулярная масса, г/моль	1020
Температура кипения, К	825.6
Плотность, г/см ³	1.015-1.020
Растворимость, мг/см ³	22
pK _a	12.788; 17.435; 20.692; 13.081; 14.972; 14.967; 12.899; 19.154; 13.296; 17.212; 19.347; 17.245; 13.270
pH 0.01%	5.1±0.1
Критическая концентрация мицеллообразования, мг/см ³	0.60-0.80

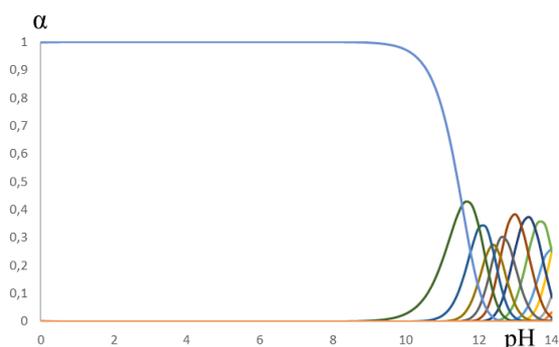


Рис. 2. Диаграмма состояния протодиосцина

Fig. 2. Phase diagram of protodioscin

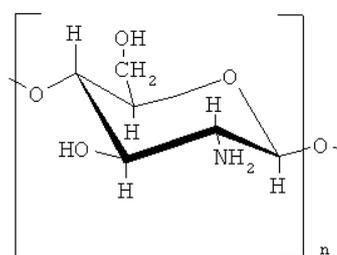


Рис. 3. Структурная формула звена хитозана

Fig. 3. The structural formula of the chitosan link

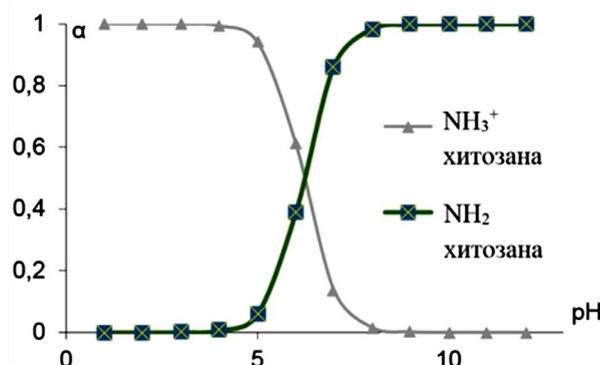


Рис. 4. Диаграмма распределения молекулярной и ионной форм хитозана

Fig. 4. Distribution diagram of the molecular and ionic forms of chitosan

Образцы сорбента до и после сорбции сапонинов исследовали методом ИК-спектроскопии. Для получения спектров образцы высушивали до воздушно-сухого состояния при 105°C, измельчали до размеров частиц менее 0.5 мкм и прессовали с бромидом калия в соотношении 1:100. ИК-спектры снимали на приборе «Bruker Vertex 70» в интервале частот 4000-400 см⁻¹, полученные спектро-

граммы обрабатывали с помощью программы Omnic. Интерпретацию спектров проводили, используя литературу [8,9].

Для определения размеров (гидродинамических радиусов) агрегатов ПАВ использовали метод динамического рассеяния света. В работе использовался прибор Photocor-Complex (Россия) с источником света – гелий-неоновым лазером (λ=632.7 нм) мощностью 10 мВт, позволяющий проводить измерения размера

Таблица 2. Физико-химические характеристики хитозана [24]

Table 2. Physico-chemical characteristics of chitosan [24]

Средняя молекулярная масса, кДа	250-300
Удельная поверхность, м ² /г	9
Диаметр пор, нм	10-50
Размер зерна, мкм	10-30
Степень деацетилирования	89.6%
Влажность	8.7%

частиц в диапазоне от 1 нм до 6 мкм типичная погрешность измерения $\pm 1\%$.

Для определения массы воды в сорбенте после сорбции использовали гравиметрическую методику [10]. pH растворов сапонина до и после сорбции на хитозане измеряли с помощью иономера И-500. Результаты исследований методами ИК-спектроскопии получены на оборудовании ЦКП НО ВГУ.

Обсуждение результатов

Структура адсорбционного слоя поверхностно-активных веществ на твердых сорбентах является функцией химической природы сорбата и сорбента и косвенно выражается в форме изотермы сорбции, вид которой приведен на рис. 5(аб).

При низких концентрациях равновесного раствора ($C=0.02-0.29$ ммоль/дм³) изотерма линейна. В области, соответствующей процессам мицеллообразования

в растворе ($0.3-0.6$ ммоль/дм³), на кривой наблюдается локальный минимум (рис. 5а), затем сорбционный параметр возрастает. Для изотерм типа L5 по классификации Гильса характерно наличие минимума, отражающего состояние вещества в растворе. Поэтому такие изотермы получают при изучении адсорбции растворов ПАВ [11, 12]. В частности, подобные локальные изменения на изотерме наблюдались при сорбции тритерпеновых сапонинов [11], обладающих поверхностной активностью. Можно полагать, что резкое уменьшение величины поглощения обусловлено возникновением конкурирующего процесса ассоциации в растворе и в фазе сорбента.

Из рис. 5 видно, что показатель кислотности раствора не изменяется, это свидетельствует об отсутствии ионного взаимодействия с участием протонированной аминогруппы хитозана. Следует

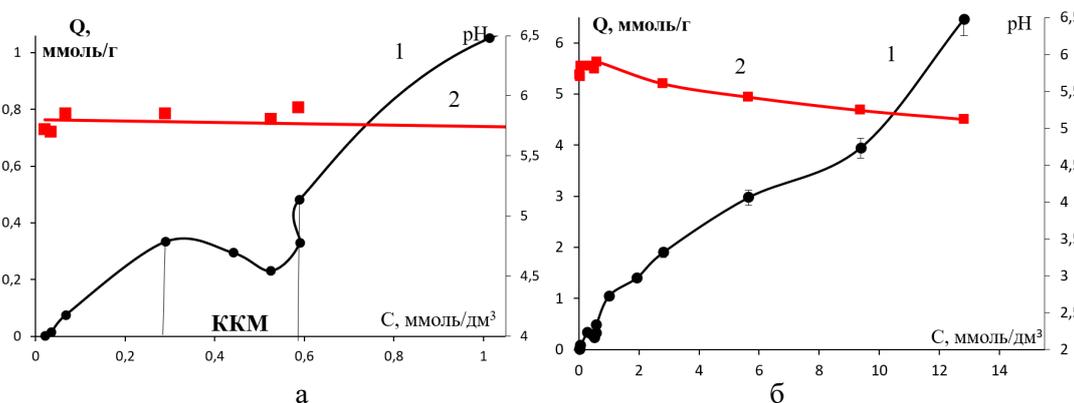


Рис. 5. а – 1 – изотерма сорбции сапонина, 2 – изменение pH в ходе сорбции сапонина хитозаном ($C=0.02-1$ ммоль/дм³); б – 1 – изотерма сорбции сапонина, 2 – изменение pH в ходе сорбции сапонина хитозаном ($C=0.02-13$ ммоль/дм³)

Fig. 5. а – 1 – saponin sorption isotherm, 2 – pH change during saponin sorption with chitosan ($C=0.02-1$ mmol/dm³); б – 1 – saponin sorption isotherm, 2 – pH change during saponin sorption with chitosan ($C=0.02-13$ mmol/dm³)

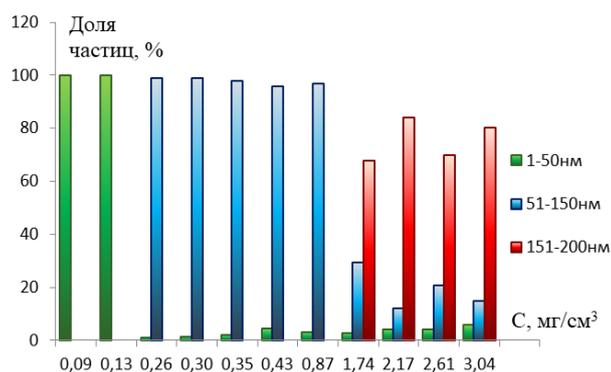


Рис. 6. Гистограмма распределения ассоциатов сапонины по гидродинамическим радиусам в водных растворах с различной концентрацией [13].

Fig 6. Histogram of the distribution of saponin associates by hydrodynamic radii in aqueous solutions with different concentrations [13].

отметить, что при поглощении тритерпеновых сапонинов, имеющих карбоксильную группу в углеводном остатке, возникают ионно-координационные взаимодействия с аминогруппой хитозана [11].

Второй участок изотермы имеет выпуклый вид. Установлено, что увеличение поглощения в данном диапазоне концентраций возможно в результате как адсорбции мицелл, преимущественно существующих в растворе ПАВ при концентрации выше ККМ, так и ассоциации молекул в фазе сорбента [11-16]. Можно полагать, что динамический характер изменения размера и форм ассоциатов сапонинов в растворе [13], а также литературные данные [12], свидетельствует преимущественно о структурной перегруппировке в фазе сорбента с образованием агломератов с аналогичными структурой и свойствами.

Аргументом, подтверждающим возможность образования ассоциатов в фазе раствора и, возможно в фазе сорбента, являются экспериментально полученные результаты исследования водных растворов сапонины методом динамического светорассеивания, представленные на рис. 6. Еще до момента наступления ККМ в растворе присутствуют свободные молекулы и агрегаты с размерами частиц от 1 до 50 нм [13]. Рост концентрации сапонины в растворе приводит к появлению более крупных агломератов, средний

диаметр которых возрастает более чем в 2 раза, что может свидетельствовать о возникновении точки перехода к критической концентрации мицеллообразования и образованию структур подобной архитектуры в фазе хитозана.

Проводилась оценка изменения влагоемкости хитозана в ходе сорбции сапонины из растворов различной концентрации. Очевидно, что ход кривой полученной графической зависимости влагоемкости хитозана от равновесной концентрации сапонины в растворе (рис. 7) связан со структурой адсорбционного слоя. В начальный момент времени сапонин сорбируется хитозаном, что является причиной его дегидратации. В области концентраций, соответствующих процессам ассоциации, на кривой влагосодержания наблюдается локальный максимум, свидетельствующий о поглощении преимущественно воды, а не гликозида. Максимум на кривой дегидратации приходится на область, соответствующую мицеллообразованию в растворе [14-15]. Увеличение сорбционного параметра в области больших концентраций приводит к дегидратации хитозана.

Проведен анализ изотермы сорбции сапонины с применением адсорбционных теорий Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ (рис. 8-11) [17-21]. Константа адсорбционного равновесия Ленгмюра характеризует энергию взаимодействия адсорбата с

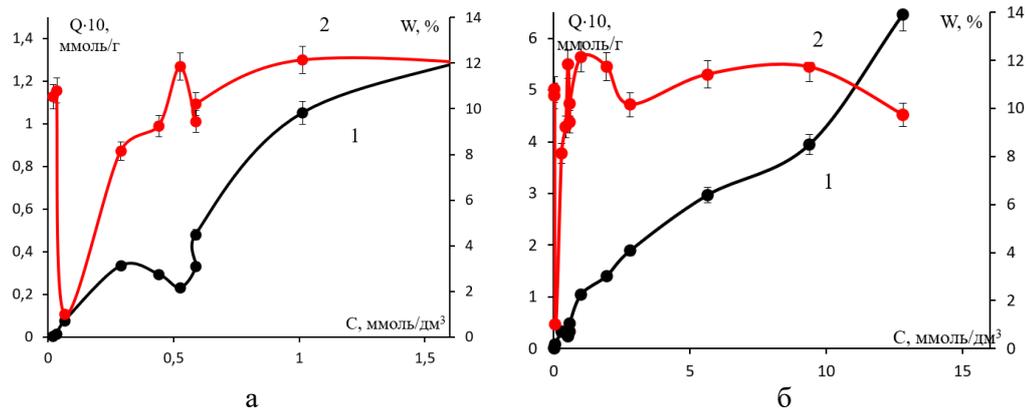


Рис. 7. а – 1 – изотерма сорбции сапонина ($C=0.02-1.00$ ммоль/дм³), 2 – кривая дегидратации хитозана в ходе сорбции сапонина; б – 1 – изотерма сорбции сапонина ($C=0.02-12.82$ ммоль/дм³), 2 – кривая дегидратации хитозана в ходе сорбции сапонина
 Fig. 7. а – 1 – saponin sorption isotherm ($C=0.02-1.00$ mmol/dm³), 2 – chitosan dehydration curve during saponin sorption; б – 1 – saponin sorption isotherm ($C=0.02-12.82$ mmol/dm³), 2 – chitosan dehydration curve during saponin sorption

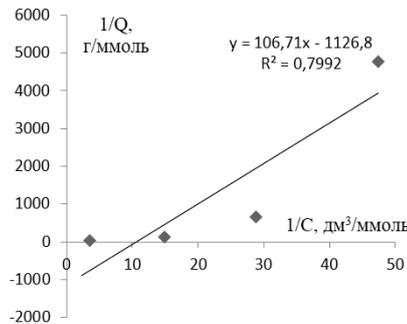


Рис. 8. Изотерма сорбции сапонина на хитозане при 298К ($C=0.02-1.93$ ммоль/дм³) в координатах линейного уравнения Ленгмюра

Fig. 8. Isotherm of saponin sorption on chitosan at 298K ($C=0.02-1.93$ mmol/dm³) in the coordinates of the linear Langmuir equation

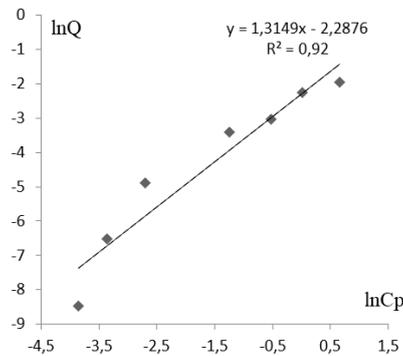


Рис. 9. Логарифмическая зависимость величины сорбции сапонина на хитозане от его равновесной концентрации в растворе

Fig. 9. Logarithmic dependence of the saponin sorption value on chitosan on its equilibrium concentration in solution

адсорбентом. Линейная форма уравнения Ленгмюра имеет вид:

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

где K_L и Q_∞ – константы уравнения Ленгмюра.

Константы уравнения были рассчитаны из наклона и пересечения прямых на графике в соответствующих координатах линейного уравнения $1/Q$ от $1/C_p$ (рис.8) и приведены в табл. 3.

Уравнение изотермы модели Фрейндлиха [22] используется для описания адсорбции на гетерогенной поверхности.

На рис. 9 представлены экспериментальные данные по адсорбции сапонина хитозаном в координатах линейного уравнения Фрейндлиха $\ln a$ от $\ln C_p$:

$$\ln Q = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_p. \quad (2)$$

Модель БЭТ предусматривает полислойное заполнение поверхности адсорбентом, причем активные центры обладают одинаковыми значениями энергии. Параметры уравнения БЭТ (Q_∞ и K_L) находили графически (рис. 10-11), используя уравнение (3) в линейной форме:

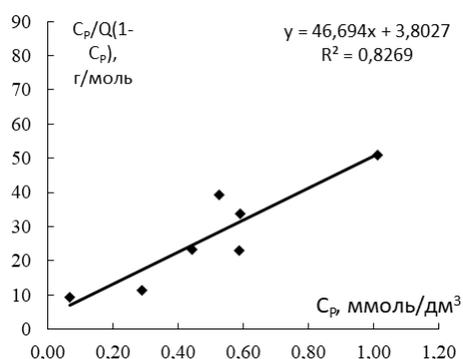


Рис. 10. Изотерма сорбции БЭТ
 (C=0.08-1.05 ммоль/дм³)
 Fig. 10. BET sorption isotherm
 (C=0.08-1.05 mmol/dm³)

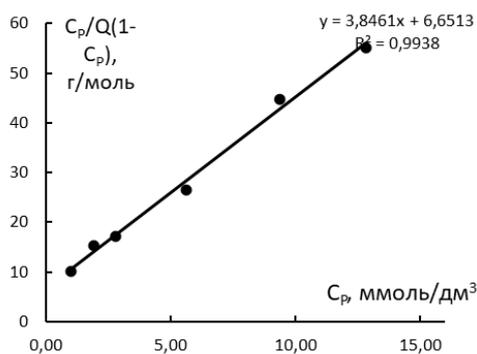


Рис. 11. Изотерма сорбции БЭТ
 (C=1.05-12.82 ммоль/дм³)
 Fig. 11. BET sorption isotherm
 (C= 1.05-12.82 mmol/dm³)

Таблица 3. Значения сорбционных параметров, рассчитанных с использованием уравнений Ленгмюра, Фрейндлиха, БЭТ

Table 3. Values of sorption parameters calculated using Langmuir, Freundlich, BET equations

модель Ленгмюра			
K _L , дм ³ /ммоль		R ²	
10.57		0.80	
модель Фрейндлиха			
K _F , (дм ³) ^{1/n} (ммоль) ^{1-1/n} /г	N		R ²
0.10	0.76		0.92
модель БЭТ			
K _L , дм ³ /ммоль	Q _∞ , ммоль/г	K _S , дм ³ /ммоль	R ²
13.08	0.02	0.80	0.83
0.63	0.24	0.05	0.99

$$\frac{C_p}{Q(1-K_s C_p)} = \frac{1}{Q_\infty \cdot K_L} + \left(\frac{K_L - K_s}{Q_\infty \cdot K_L} \right) C_p. (3)$$

Нанесением на ось ординат величины $C_p/Q(1-K_s C_p)$, а на ось абсцисс – C_p . Тогда величина Q равна $1/(tg\alpha + A)$, где $tg\alpha$ – угловой коэффициент прямой, равный $(K_L - K_s)/Q_\infty \cdot K_L = tg\alpha$ (при этом A – отрезок, отсекаемый на оси ординат, $A=1/Q_\infty \cdot K_L$). Константа равновесия K_L характеризует энергию взаимодействия адсорбата с поверхностью адсорбента. Ее знак (положительный или отрицательный) указывает на применимость или неприменимость данной модели для описания адсорбции в этой системе.

Судя по данным таблицы 3, высокие значения коэффициентов корреляции (R^2) позволяют применять уравнение Фрейндлиха для количественного описания изотермы на начальном участке, а для анализа всей изотермы использовать

теорию БЭТ, учитывающую полимолекулярный характер сорбции. Полученные результаты по описанию изотермы сорбции сапонина согласуются с предложенным механизмом его поглощения хитозаном [11].

Был проведен сравнительный анализ ИК-спектров образцов сапонина и хитозана, а также хитозана в фазе сапонина (рис. 12). Прежде всего следует отметить наличие новых максимумов при 1510 и 1302 см⁻¹, которые относятся к колебаниям, возникающим при взаимодействии карбонильной и протонированной аминогруппы хитозана (в ассоциатах – C=O...⁺H₃N) и которые отсутствуют в ИК спектрах сапонина и хитозана. Наряду с этим, наблюдается смещение максимумов поглощения 3370 см⁻¹ у сапонина к 3362 см⁻¹ для ассоциата «сапонин-хитозан»; 3298 см⁻¹ у хитозана к 3286 см⁻¹ для

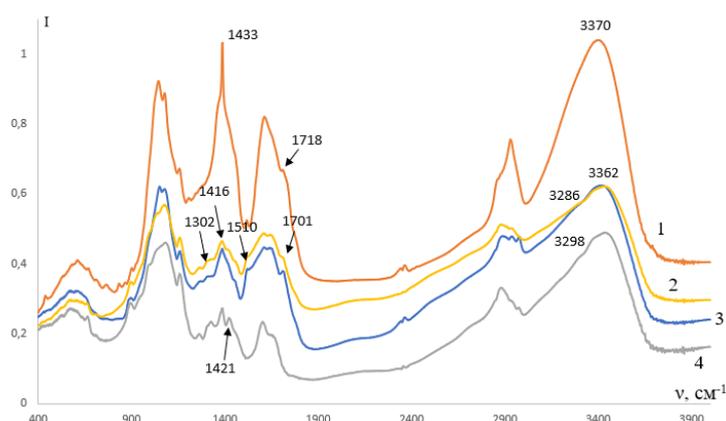


Рис. 12. ИК-спектры поглощения: 1 – сапонина; 2 – хитозана с сапонином $C=5 \text{ мг/см}^3$; 3 – хитозана с сапонином $C=15 \text{ мг/см}^3$; 4 – хитозана
 Fig 12. IR absorption spectra: 1 – saponin; 2 – chitosan with saponin $C=5 \text{ mg/cm}^3$; 3 – chitosan with saponin $C = 15 \text{ mg/cm}^3$; 4 – chitosan

Таблица 4. Отнесение полос в ИК-спектрах хитозана до и после сорбции сапонина
 Table 4. Assignment of bands in the IR spectra of chitosan before and after saponin sorption

Волновое число, $\nu \text{ см}^{-1}$			Отнесение полос
сапонин	хитозан	сапонин+ хитозан	
3394	3436	3430	$\nu \text{ H}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ассоциированные; $\nu \text{ H}_2\text{O} \cdot \text{H}_3\text{O}_2^-$ ассоциированные;
3370	3320 3298	3362 3286	Составные колебания $\nu \text{ OH} \cdot \text{OH}$ в углеводных фрагментах; $\nu \text{ NH} \cdot \text{OH}$ сильно ассоциирован.
2927 2882	2961 2887	2922 2853	ν_{as} и ν_{s} колебания CH и CH_2 -групп
2706		2716	Составные колебания $\nu_{\text{s}} \text{ H}_3\text{O}_2^-$ в воде; $\nu \text{ COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$
2361 2339	2363 2340	2349 2316	Валентные колебания связанной H_3O_2^- ; $\nu \text{ NH}_3^+$ у хитозана
1708		1701	$\nu \text{ C=O}$ в CO -группах
	1643	1654	σ_{s} ножничные H_2O
1609	1600	1600	σ_{s} ножн. H_2O ; колебания циклогексенового (пиранозного) кольца
1516		1510	Колебания $\text{C-O} \cdot \text{H}_3\text{N}$ в ассоциатах
1433 (порог)	1421	1416	$\sigma_{\text{as}} \text{ -OH}$ пиранозы; γ_{w} -верные CH и CH_2
1384	1384	1383	$\sigma_{\text{as}} \text{ H}_2\text{O}$ в ассоциате; σ_{s} и $\gamma_{\text{w}} \text{ CH}$ и CH_2
	1324	1322 1302	$\text{C-O} \cdot \text{H}_3\text{N}$ вициальн.; $\text{NH}_3^+ \cdot \text{OH}$ – боковые пиранозы
1243	1260	1258	γ_{w} -верные CH_2 ; γ_{t} маятниковые CH и CH_2
1154	1157	1157	$\nu_{\text{s}} \text{ H}_3\text{O}_2^-$ в H_2O у $\text{H} \cdot \text{O-H}$; $\gamma_{\text{t}} (\text{CH}_2)$; $\nu_{\text{as}} \text{ C-O-C}$
1075 1043	1079 1026	1074 1033	γ_{t} маятниковые CH и CH_2 ; $\text{H} \cdot \text{O-H}$ иона H_3O_2^- ; $\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$ в пиранозном цикле
900 669	896 662	892 664	$\sigma_{\text{s}} + \gamma_{\text{r}}$ (ножничные+крутильные) CH и CH_2
610	593	572	γ_{t} маятниковые H_2O в поле соседних молекул; γ_{r} крутильные CH и CH_2

ассоциата ($\nu \text{ NH} \cdot \text{OH}$ и $\nu \text{ NH} \cdot \text{OC}$), что свидетельствует о наличии и упрочнении водородных связей между гидроксильными

группами сапонина и хитозана. Данное обстоятельство подтверждается смещением максимума 1718 см^{-1} (ν_{s} в C=O -

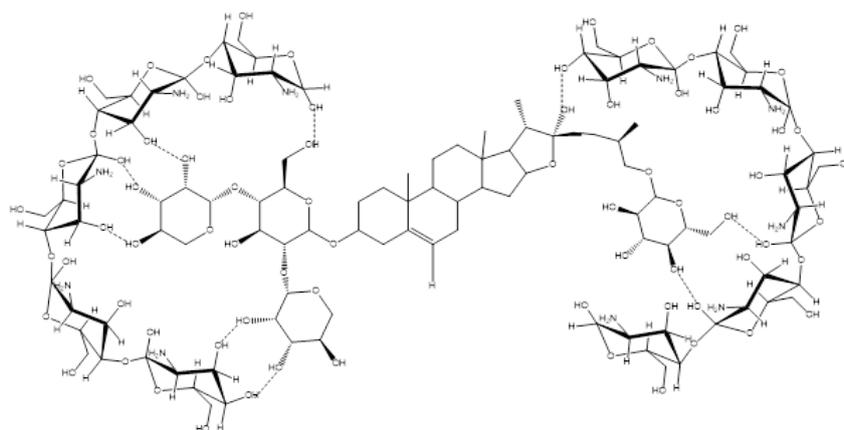


Рис.13. Схематическое изображение структуры «хитозан-сапонин».

Fig.13. Schematic representation of the "chitosan-saponin" structure

группах) у сапонина к 1701см^{-1} для ассоциатов, а также полосы поглощения 1433см^{-1} (сапонин), 1421см^{-1} (хитозан) к 1416см^{-1} для ассоциата [8, 11, 19]. Отношение колебаний в ИК-спектрах сапонина, хитозана и их ассоциатов приведены в табл.4

В работе [23] было проведено компьютерное моделирование олигомера хитозана, состоящего из шести молекул 2-амино-2-дегидрокси- β ,D-глюкопиранозы. Расстояния между соответствующими атомами кислорода и водорода OH, NH₂-групп находятся в диапазоне 1.67-2.88Å, что свидетельствует о формировании внутримолекулярных водородных связей. Аминогруппы, в свою очередь, создают специфическое распределение положительных зарядов, выполняющих роль сшивки и формирующих направление пространственной закрутки молекулы, т.е. ее фибриллярную структуру [17, 18, 23-25]. Поэтому цепочка хитозана носит упорядоченный характер спиралевидного типа. Результаты моделирования взаимодействия тритерпеновых сапонинов аналогичной-бидесмозидной структуры с хитозаном позволили отметить образование водородных связей между углеводными остатками сапонина и гидроксильными группами хитозана таким образом, что указанная часть сапонина «помещается в полость» хитозановой спирали (рис. 13).

Результаты, полученные на основе компьютерного моделирования, подтверждают образование комплекса «хитозан-сапонин», представляющего собой макромолекулу с хитозановыми цепочками различной геометрии и конфигурации, при которой углеводная часть сапонина закреплена посредством образования H-связей. Агликон сапонина выступает исключительно в роли связующего компонента между углеводами и хитозаном, подобно поперечной сшивке в биополимерах (рис. 13).

Заключение

В работе рассмотрены особенности сорбционного поглощения стероидных сапонинов, обладающих поверхностной активностью. Выявлено образование водородных связей между гидроксильными группами хитозана и углеводов сапонина. Установлено влияние поверхностной активности на ход кривых изотерм сорбции. Полученные результаты, а также литературные данные [24-26] подтверждают образование полостей в полисахаридах, в которые «внедряется» сапонин. В нашем случае рассматривается наличие полостей, образованных семью мономерными фрагментами хитозана, устойчивость которых фиксируется водородными связями NH₃..OH (максимумы 3320 , 3298 , 2340 , 1324см^{-1}).



Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые

Список литературы

1. Jiang Yulin, Massiot Georges, Lavaud Catherine, Teulon Jean-Marie, Guechot Christophe, Haag-Berrurier Micheline, Anton Robert Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora* // *Phytochemistry*. 1991. Vol. 30, no 7. P. 2357-2360.

2. Roner M., Sprayberry J., Spinks M., Dhanji S. Antiviral activity obtained from aqueous extracts of the Chilean soapbark tree (*Quillaja saponaria* Molina) // *Journal of General Virology*. 2007. no 88. P. 275-285.

3. Кузнецов В.А. Сливкин А.И., Лапенко В.Л., Болгов А.А. Хитозан и дезоксикрахмал в качестве полимерных матриц для иммобилизации биологически активных компонентов // *Вестник МИТХТ*. 2009. № 3. С. 97-102.

4. Rinaudo M., Kil'deeva N.R., Babak V.G. Surfactant-polyelectrolyte complexes on the basis of chitin // *Russian Journal of General Chemistry*. 2008. Vol. 78. P.2239-2246.

5. Коваленко Г.А., Кузнецова Е.В. Адсорбция антисептиков (фурацилина, хлоргексидина) и витамина Е на углеродсодержащих энтеросорбентах // *Химико-фармацевтический журнал*. 2000. Т. 34, № 6. С. 45-49.

6. Мироненко Н.В., Смусева С.О., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф. Кинетические и равновесные характеристики сорбции сапонины *Quillaja Saponaria Molina* на хитозане // *Журнал физической химии*. 2016. Т. 90, № 12. С. 1870-1875.

7. Мироненко Н.В., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф., Столповская А.А. УФ-спектрофотометрическое определение тритерпеновых сапонинов *Quillaja Saponaria Molina* // *Вестник Воронеж. гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2015. №1. С. 16-21.

могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

8. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений, М.: Мир. 1965. 216 с.

9. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии, М.: Изд-во Моск. ун-та. 1979. 240 с.

10. Селеменев В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю., Чикин Г.А. Практикум по ионному обмену. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1999, 173 с.

11. Смусева С.О., Мироненко Н.В., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф., Гречкина М.В. Сорбция сапонины *Quillaja saponaria Molina* хитозаном в равновесных условиях // *Журнал общей химии*. 2017. Т. 87, вып. 8. С. 1367-1373.

12. Хохлов А.Р., Дормидонтова Е.Е. Самоорганизация в ион-содержащих полимерных системах // *Успехи физических наук*. 1997. Т. 167, №2. С.113-128.

13. Мироненко Н. В., Шкутина И. В., Селеменев В. Ф. Особенности мицеллообразования пентациклических гликозидов в водных растворах // *Известия вузов. Химия и химическая технология*. 2021. Т.64, Вып. 4. С.26-33.

14. Когановский А.М., Клименко Н.А. Физико-химические основы извлечения поверхностно-активных веществ из водных растворов и сточных вод. Киев: Наукова думка, 1978, 174 с.

15. Когановский А.М., Клименко Н.А. Адсорбция органических веществ из воды. Л.: Химия, 1990, 256 с.

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

17. Плиско Е.А., Нульга Л.А., Данилов С.Н. Хитин и его химические превращения // *Успехи химии*. 1997. Т. 46, Вып. 8. С. 1470-1487.

18. Иощенко Ю.П., Кондруцкий Д.А., Каблов В.Ф. Получение и свойства поли-

молекулярных комплексов хитозана с биобразуемыми полимерами // *Вестник МИТХТ*. 2006. № 5. С. 49-53.

19. Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Котова Д.Л., Елисеева Т.В. 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.

20. Свешникова Д.А., Кунжуева К.Г., Атаев Д.Р. Сорбция ионов рубидия из водных растворов активированными углями // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12, №3. С. 270-279.

21. Свешникова Д.А., Хамизов Р.Х., Атаев М.Б., Амиров А.М., Рабаданов К.Ш., Рамазанов А.Ш. Исследование закономерностей электросорбции ионов цезия активированным углем ДАК // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2016. Т. 16, №3. С. 270-280.

22. Freundlich H.M.F. Over the adsorption in solution // *J. Phys. Chem.* 1906. Vol. 57. P. 385-471.

23. Мироненко Н.В., Смусева С.О., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф., Нечаева Л.С. Компьютерное моделирование взаимодействия тритерпеновых гликозидов с природным полимером – хитозаном // *Журнал общей химии*. 2017. Т. 87, вып. 8. С. 1367-1373.

24. Заводинский В.Г., Гниденко А.А., Давыдова В.Н., Ермак И.М. Квантово-механические методы исследования наноразмерных систем // *Бутлеровские сообщения. Подраздел: Квантовая химия. Химия и компьютерное моделирование*. 2003. №2. С. 11-21.

25. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М.: Наука. 2002. 368с.

26. Бочков А.Ф., Афанасьев В.А., Заиков Г.Е. Образование и расщепление гликозидных связей. М.: Наука. 1978. 180 с.

References

1. Jiang Yulin, Massiot Georges, Lavaud Catherine, Teulon Jean-Marie, Guechot Christophe, Haag-Berrurier Micheline, Anton Robert Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*. *Phytochemistry*. 1991; 30(7): 2357-2360. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83648-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83648-5)

2. Roner M., Sprayberry J., Spinks M., Dhanji S. Antiviral activity obtained from aqueous extracts of the Chilean soapbark tree (*Quillaja saponaria* Molina). *Journal of General Virology*. 2007; 88: 275-285. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82321-0>

3. Kuznecov V.A. Slivkin A.I., Lapenko V.L., Bolgov A.A. Hitozan i dezoksikrahmal v kachestve polimernyh matric dlja immobilizacii biologicheski aktivnyh komponentov. *Vestnik MITHT*. 2009; 3: 97-102. (In Russ.)

4. Rinaudo M., Kil' deeva N. R., Babak V. G. Surfactant-polyelectrolyte complexes on the basis of chitin. *Russian Journal of General Chemistry*. 2008; 78: 2239-2246.

5. Kovalenko G.A., Kuznecova E.V. Adsorbicija antiseptikov (furacilina, hlorgeksidina) i vitamina E na uglerod-soderzhashhih jenterosorbentah. *Himikofarmaceuticheskij zhurnal*. 2000; 34(6): 45-49. (In Russ.)

6. Mironenko N.V., Smuseva S.O., Brezhneva T.A., Selemenев V.F. Kineticheskie i ravnovesnye harakteristiki sorbcii saponina *Quillaja Saponaria Molina* na hitozane. *Zhurnal fizicheskoy himii*. 2016; 90(12): 1870-1875. (In Russ.)

7. Mironenko N.V., Brezhneva T.A., Selemenев V.F., Stolpovskaja A.A. UF-spektrofotometricheskoe opredelenie triterpenovyh saponinov *Quillaja Saponaria Molina*. *Vestnik Voronezh. gos. un-ta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija*. 2015; 1: 16-21. (In Russ.)

8. Nakanisi K. Infrakrasnye spektry i stroenie organicheskikh soedinenij, M., Mir, 1965, 216 p. (In Russ.)

9. Kazicyna L.A., Kupletskaja N.B. Primenenie UF-, IK-, JaMR- i mass-spektroskopii v organicheskoy himii, M., Izd-vo Mosk. un-ta, 1979, 240 p. (In Russ.)



10. Selemenev V.F., Slavinskaja G.V., Hohlov V.Ju., Chikin G.A. Praktikum po ionnomu obmenu. Voronezh: Izd-vo Voronezh. un-ta, 1999, 173 p. (In Russ.)
11. Smuseva S.O., Mironenko N.V., Brezhneva T.A., Selemenev V.F., Grechkina M.V. Sorbcija saponina *Quillaja saponaria* Molina hitozanom v ravnovesnyh uslovijah. *Zhurnal obshhej himii*. 2017; 87(8): 1367-1373. (In Russ.)
12. Hohlov A.R., Dormidontova E.E. Samoorganizacija v ion-soderzhashhijh polimernyh sistemah. *Uspehi fizicheskijh nauk*. 1997; 167(2): 113-128. (In Russ.)
13. Mironenko N.V., Shkutina I.V., Selemenev V.F. Osobennosti micelloobrazovanija pentaciklicheskih glikozidov v vodnyh rastvorah. *Izvestija vuzov. Himija i himicheskaja tehnologija*. 2021; 64(4): 26-33. (In Russ.)
14. Koganovskij A.M., Klimenko N.A. Fiziko-himicheskie osnovy izvlechenija poverhnostno-aktivnyh veshhestv iz vodnyh rastvorov i stochnyh vod. Kiev, Naukova dumka, 1978, 174 p. (In Russ.)
15. Koganovskij A.M., Klimenko N.A. Adsorbcija organicheskijh veshhestv iz vody. L., Himija, 1990, 256 p. (In Russ.)
16. Parfit G., Rochester K. Adsorbcija iz rastvorov na poverhnostjah tverdyh tel. M., Mir, 1986, 488 p.
17. Plisko E A., Nul'ga L.A., Danilov S.N. Hitin i ego himicheskie prevrashhenija. *Uspehi himii*. 1997; 46(8): 1470-1487. <https://doi.org/10.1070/RC1977v046n08ABEH002171> (In Russ.)
18. Ioshhenko Ju.P., Kondruckij D.A., Kablov V.F. Poluchenie i svojstva polimolekuljarnyh kompleksov hitozana s biorazlagajemymi polimerami. *Vestnik MITHT*. 2006; 5: 49-53. (In Russ.)
19. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Kotova D.L., Eliseeva T.V. Mezhmolekulyarnye vzaimodejstvija i obrazovanie perysshennyh rastvorov aminokislot v faze vysokoosnovnogo anionite. V kn. «Nasledie M.S. Cveta v trudah voronezhskih himikov». Vol. 1. Voronezh, Nauchnaja kniga, 2021: 89-131. (In Russ.)
20. Sveshnikova D.A., Kunzhueva K.G., Ataev D.R. Sorbcija ionov rubidija iz vodnyh rastvorov aktivirovannymi ugljami. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2012; 12(3): 270-279. (In Russ.)
21. Sveshnikova D.A., Hamizov R.H., Ataev M.B., Amirov A.M., Rabadanov K.Sh., Ramazanov A.Sh. Issledovanie zakonomernostej jelectrosorbicii ionov cezija aktivirovannym ugljem DAK. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2016; 16(3): 270-280. (In Russ.)
22. Freundlich H.M.F. Over the adsorption in solution. *J. Phys. Chem.* 1906; 57: 385-471.
23. Mironenko N.V., Smuseva S.O., Brezhneva T.A., Selemenev V.F., Nechaeva L.S. Komp'juternoe modelirovanie vzaimodejstvija triterpenovyh glikozidov s prirodnyim polimerom – hitozanom. *Zhurnal obshhej himii*. 2017; 87(8): 1367-1373. (In Russ.)
24. Zavodinskij V.G., Gnidenko A.A., Davydova V.N., Ermak I.M. Kvantovo-mehaniicheskie metody issledovanija nanorazmernyh system. *Butlerovskie soobshhenija. Podrazdel: Kvantovaja himija. Himija i komp'juternoe modelirovanie*. 2003; 2: 11-21. (In Russ.)
25. Hitin i hitozan: poluchenie, svojstva i primenenie / Pod red. K.G.Skrjabina, G.A. Vihorevoj, V.P. Varlamova. M., Nauka, 2002, 368 p. (In Russ.)
26. Bochkov A.F., Afanas'ev V.A., Zaiakov G.E. Obrazovanie i rasshheplenie glikozidnyh svjazej, M., Nauka., 1978, 180 p. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Н.В. Мироненко – к.х.н., ассистент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, Россия

N.V. Mironenko – PhD, Assistant of the Department of Analytical Chemistry of Voronezh State University, Voronezh, Russia



В.Ф. Селеменев – д.х.н., профессор-консультант кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, Россия

У.С. Ищенко – магистрант 1 года обучения кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, Россия

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

V.F. Selemenev – Doctor of Chemical Sciences, Professor-Consultant of the Department of Analytical Chemistry of Voronezh State University, Voronezh, Russia

U.S. Ishchenko – a 1-year Master's student of the Department of Analytical Chemistry of Voronezh State University, Voronezh, Russia

I.V. Shkutina – PhD, Associate Professor of the Department of General and Medical Chemistry, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

s

Статья поступила в редакцию 04.07.2023; одобрена после рецензирования 26.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 04.07.2023; approved after reviewing 26.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 451.183

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11575

Влияние температуры на необменную сорбцию ароматических аминокислот анионообменником АВ-17-8

Светлана Александровна Лисицына[✉],

Оксана Николаевна Хохлова, Владимир Юрьевич Хохлов

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, lisitsyna_2000@mail.ru[✉]

Аннотация. Исследовалось равновесие в системах ароматическая аминокислота (триптофан, фенилаланин, тирозин и гистидин) – анионообменник АВ-17-8 (Cl⁻) при различных температурах. Температурный интервал составлял 277-343 К для выявления влияния как повышенной, так и пониженной температуры на сорбционное равновесие. Изотермы сорбции получены при 277, 293 и 343 К. Термодинамическое описание сорбционных систем проводилось с использованием подхода, основанного на представлении о стехиометричности процесса сорбции. Рассчитаны интегральные и дифференциальные энергетические характеристики, компенсационный эффект между энтальпийной и энтропийной составляющими для рассматриваемых сорбционных систем. Изменение температуры приводит к изменению физико-химических свойств исследуемых сорбатов и сорбента. В диапазоне температур 277-243 К содержание растворителя в фазе сорбента практически не изменяется. Экспериментально установлено низкое содержание растворителя при температуре 333 К и увеличение его количества при 343 К. Учитывалось, что при различных температурах происходит изменение констант ионизации функциональных групп и областей существования ионных форм аминокислот, но изменения механизма сорбции не происходит, поскольку не происходит перезарядки аминокислот.

Установлено, что для триптофана и фенилаланина процесс является экзотермическим. С повышением температуры происходит снижение количества сорбированного вещества. Энергия поглощения невелика за счет выраженного компенсационного эффекта энтальпийного и энтропийного факторов, дифференциальная энергия Гиббса практически не зависит от температуры за счет стабилизирующего действия гидрофобных сил в фазе сорбента. Для малорастворимой аминокислоты тирозина при повышении температуры от 277 до 293 К наблюдается незначительное увеличение сорбции, а при дальнейшем повышении – падение до следовых количеств. В интервале температур 277-293 К процесс сорбции характеризуется формированием пересыщенного раствора в фазе сорбента и является эндотермическим. Сорбции гидрофильного гистидина увеличивается при повышении температуры, что коррелирует с содержанием растворителя в фазе сорбента, в том числе с низким содержанием при 333 К. Процесс сорбции гистидина является эндотермическим, характеризуется сильной зависимостью дифференциальной энергии Гиббса от температуры и отсутствием компенсационного эффекта между энтальпийной и энтропийной составляющими.

Ключевые слова: необменная сорбция, температура, ароматические аминокислоты, дифференциальная энергия Гиббса, энтальпия, энтропия.

Для цитирования: Лисицына С.А., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю. Влияние температуры на необменную сорбцию ароматических аминокислот анионообменником АВ-17-8 // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 681-690. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11575>

Original article

Influence of temperature on non-exchange sorption of aromatic amino acids by anion exchanger AV-17-8

Svetlana A. Lisitsyna[✉], Oksana N. Khokhlova, Vladimir Yu. Khokhlov

Voronezh State University, Voronezh, Russia, lisitsyna_2000@mail.ru[✉]

Abstract. The equilibrium in thearomatic amino acid (tryptophan, phenylalanine, tyrosine and histidine) – anion exchanger AV-17-8 (Cl⁻) systems at different temperatures was investigated. In order to identify the influence of both increased and decreased temperatures on the sorption equilibrium the temperature range was 277-343 K was studied. Sorption isotherms were obtained at 277, 293, and 343 K. The thermodynamic description of sorption systems was carried out using an approach based on the idea that the sorption process is stoichiometric. The integral and differential energy characteristics and the compensation effect between the enthalpy and entropy components for the studied sorption systems were calculated.

A change in temperature led to a change in the physicochemical properties of the studied sorbates and sorbent. In the temperature range 277-243 K, the solvent content in the sorbent phase remained unchanged. A low solvent content at a temperature of 333 K and an increase in its amount at 343 K were experimentally established. It should be considered that at different temperatures the ionization constants of functional groups and the regions of existence of ionic forms of amino acids change, but the sorption mechanism does not change, since the recharging of amino acids did not occur.

It was established that the process is exothermic for tryptophan and phenylalanine. With increasing temperature, the amount of sorbed substance decreased. The absorption energy was low due to the significant compensatory effect of enthalpy and entropy factors, the differential Gibbs energy was practically independent of temperature due to the stabilizing effect of hydrophobic forces in the sorbent phase. For the poorly soluble amino acid tyrosine, when the temperature increased from 277 to 293 K, a slight increase in sorption was observed, and with a further increase, a decrease to trace amounts was revealed. In the temperature range of 277-293 K, the sorption process was characterized by the formation of a supersaturated solution in the sorbent phase and was endothermic. The sorption of hydrophilic histidine increased with increasing temperature, which correlates with the solvent content in the sorbent phase, including low content at 333 K. The process of histidine sorption is endothermic, characterized by a strong dependence of the differential Gibbs energy on temperature and the absence of a compensation effect between the enthalpic and entropic components.

Keywords: non-exchange sorption, temperature, aromatic amino acids, differential Gibbs energy, enthalpy, entropy.

For citation: Lisitsyna S.A., Khokhlova O.N., Khokhlov V.Yu. Influence of temperature on non-exchange sorption of aromatic amino acids by anion exchanger AV-17-8. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 681-690. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11575>

Введение

Температура является одним из самых важных факторов, действующих на сорбционное равновесие. Знание результатов этого воздействия позволяет найти энергетические характеристики сорбции, оптимальные условия разделения веществ и организовать безреагентное двухтемпературное разделение. Поэтому исследование действия температуры на поглощение веществ сорбентами различной природы является актуальной задачей химии сорбционных процессов. Целью работы являлось исследование влияния температуры на необменную сорбцию ароматических аминокислот триптофана, фенилаланина, тирозина и гистидина анионообменником АВ-17-8 в Cl⁻ форме.

Экспериментальная часть

Сорбцию проводили в статических условиях методом переменных концентраций. Содержание аминокислот в рас-

творе контролировали спектрофотометрически при длине волны 211 нм для гистидина, 257 нм для фенилаланина, 275 нм для тирозина и 279 нм для триптофана. Содержание цвиттерлитов в фазе сорбента находили как разность концентраций в растворе до и после сорбции с учетом объема и массы контактирующих фаз.

Исследуемые аминокислоты являются моноаминомонокарбоновыми, имеющими ароматический боковой радикал. В водном растворе, за исключением гистидина, аминокислоты находятся в виде биполярного иона, что в совокупности с использованием солевой Cl⁻ формы анионообменника обуславливает протекание необменной сорбции.

Температурный интервал составлял 277-343 К для выявления влияния как повышенной, так и пониженной температуры на сорбционное равновесие. Для термодинамического описания получены изотермы сорбции при 277, 293 и 343 К.

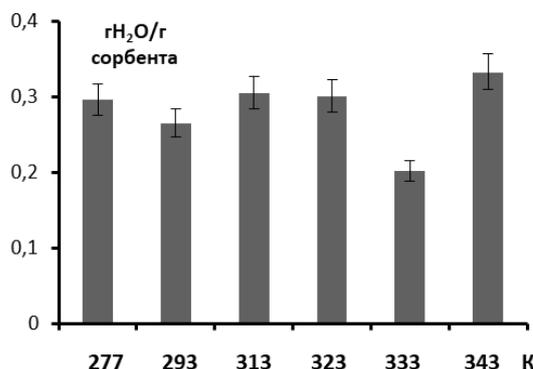


Рис. 1. Содержание растворителя в анионообменнике АВ-17-8 при различной температуре

Fig. 1. Solvent content in the AV-17-8 anion exchanger at different temperatures

Обсуждение результатов

Аминокислоты при необменной сорбции закрепляются в сорбенте преимущественно за счет образования водородных связей между гидратными оболочками противоиона анионообменника и гидратными оболочками функциональных групп аминокислоты, а также за счет ион-дипольных взаимодействий между противоионами сорбента и аминокислотой, и гидрофобных взаимодействий радикалов с матрицей сорбента [1, 2].

Температура действует на всех участников сорбционной системы и взаимодействия между ними, а, в первую очередь, на состояние растворителя. Анионит АВ-17-8 является гелевым, т.е. вода в фазе сорбента входит в состав гидратных оболочек функциональных групп и противоионов, достаточно сильно удерживается ион-дипольными взаимодействиями, и считается, что «свободной» воды в сорбенте практически нет [3]. Это приводит к тому, что как при повышении, так и при понижении температуры количество воды в сорбенте остается практически постоянным (рис.1). Изменение конфигурации полимерных цепей сорбента с изменением температуры незначительно, поскольку они достаточно сильно сшиты дивинилбензолом. Незначительный рост

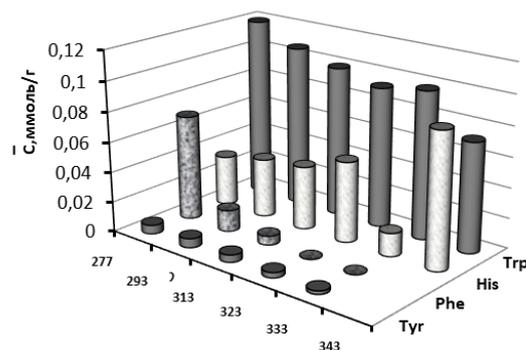


Рис. 2. Содержание аминокислот в сорбенте при различной температуре при $C_R=0.02$ моль/дм³ (0.0015 моль/дм³ для тирозина)

Fig. 2. Content of amino acids in the sorbent at different temperatures at $C_R=0.02$ mol/dm³ (0.0015 mol/dm³ for tyrosine)

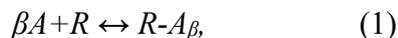
содержания растворителя, связанный с этим фактором, наблюдается при 343 К. Пониженное содержание растворителя в фазе сорбента обнаружено при 333 К. Эти данные воспроизводятся и совпадают с литературными [4].

Влияние температуры на состояние аминокислот заключается в изменении констант ионизации функциональных групп. При этом изменяется область рН существования ионных форм, в частности, цвиттерионов, но механизм сорбции остается прежним, поскольку перестройка аминокислот не происходит [5].

Сорбция триптофана, фенилаланина и гистидина при концентрации раствора 0.02 моль/дм³ и тирозина при 0.0015 моль/дм³ при различных температурах представлена на рисунке 2. Для гидрофобных аминокислот поглощение падает с повышением температуры, а для гидрофильного гистидина растет. Эта зависимость коррелирует с содержанием воды в фазе сорбента. Однако, для каждой аминокислоты имеются свои особенности. Это целесообразно рассматривать совместно с анализом изменения термодинамических характеристик сорбции при различных температурах.

Термодинамическое описание рассматриваемых систем проводилось с при-

менением подхода, основанного на представлениях о стехиометричности процесса сорбции, и подробно описанного в работах [6, 7]. Процесс сорбции вещества A представляют как



сорбционными центрами R являются функциональные группы с противоионами, коэффициент стехиометрии β в рассматриваемых системах равен единице. Представляет интерес нахождение дифференциальных энергетических характеристик, относящихся к фазе сорбента определенного состава, из активностей сорбируемого вещества в фазе равновесного раствора по формулам:

$$\Delta G_n = RT \ln a_A^{\beta}, \quad (2)$$

$$\Delta H_{\bar{n}} = \frac{RT_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{a_{A, T_1, \bar{n}}^{\beta}}{a_{A, T_2, \bar{n}}^{\beta}}. \quad (3)$$

Сорбция самого гидрофобного триптофана наименее зависит от действия температуры (рис. 2), поскольку для него характерно стабилизирующее гидрофобное взаимодействие радикала с матрицей сорбента. Дифференциальная энергия Гиббса в процессе сорбции этой аминокислоты уменьшается в диапазоне 7-15 кДж/моль. Необходимо отметить, что эти величины практически не отличаются при различных температурах (рис. 3 б), что вероятно, связано с компенсацией противоположно направленных эффектов разрыхления водородных связей [8] и усиления гидрофобного взаимодействия

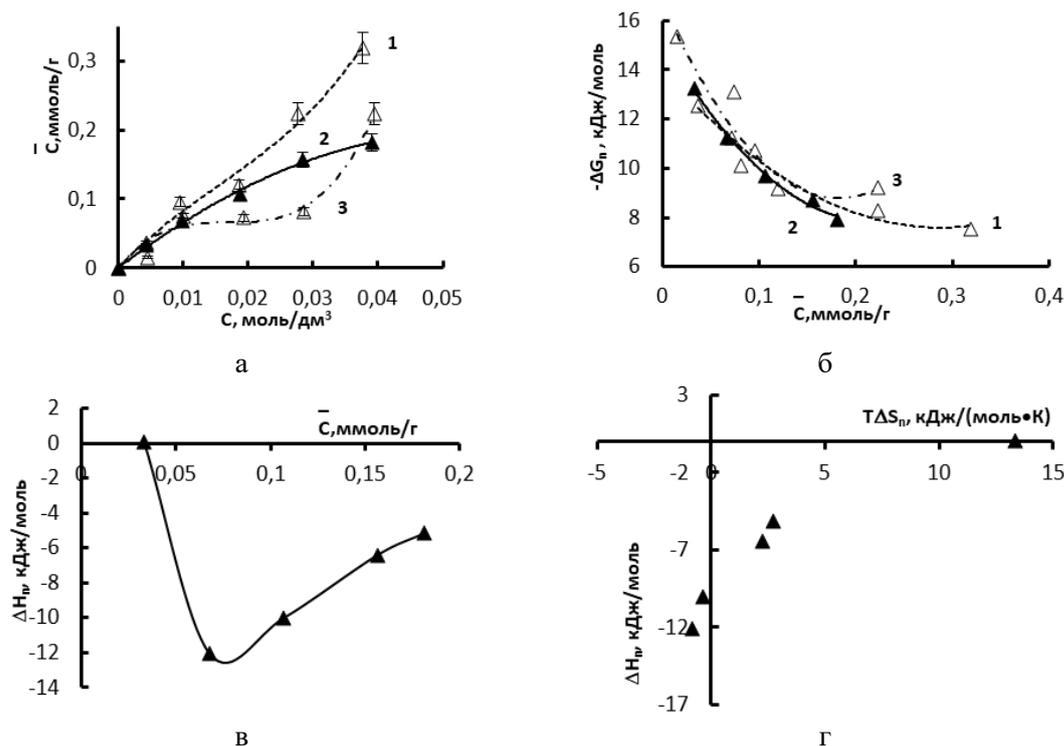


Рис. 3. Закономерности изменения характеристик необменной сорбции триптофана на анионообменнике АВ-17-8 (Cl) при различных температурах (1 – 277 К, 2 – 293 К, 3-343 К). а – изотермы сорбции, б – изменение дифференциальных энергий Гиббса, в – изменение дифференциальной энтальпии, г – компенсационный эффект между энтальпийным и энтропийным фактором

Fig. 3. Patterns of changes in the characteristics of non-exchange sorption of tryptophan on an AV-17-8 (Cl) anion exchanger at different temperatures (1 – 277 K, 2 – 293 K, 3-343 K). а – sorption isotherms, б – change in differential Gibbs energies, в – change in differential enthalpy, г – compensation effect between enthalpy and entropy factors

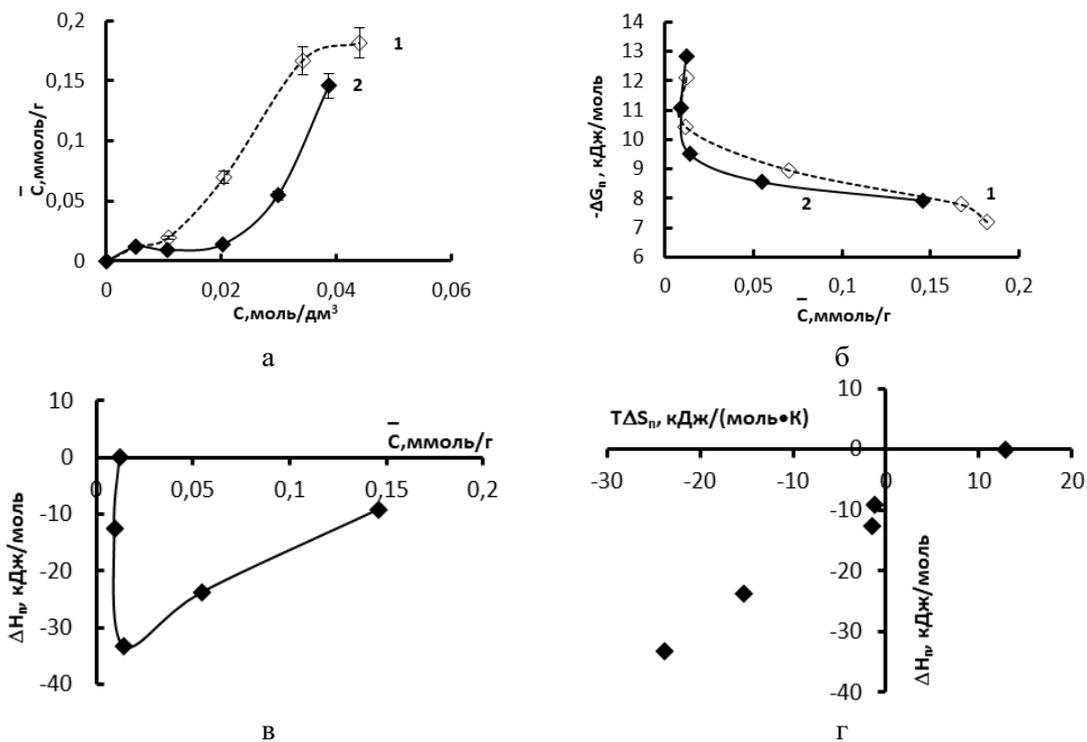


Рис. 4. Закономерности изменения характеристик необменной сорбции фенилаланина на анионообменнике АВ-17-8 (Cl) при различных температурах (1 – 277 К, 2 – 293 К). а – изотермы сорбции, б – изменение дифференциальных энергий Гиббса, в – изменение дифференциальной энтальпии, г – компенсационный эффект между энтальпийным и энтропийным фактором

Fig. 4. Patterns of changes in the characteristics of non-exchange sorption of phenylalanine on an AV-17-8 anion exchanger (Cl) at different temperatures (1 – 277 K, 2 – 293 K). a – sorption isotherms, b – change in differential Gibbs energies, c – change in differential enthalpy, d – compensation effect between enthalpy and entropy factors

[9, 10] при повышении температуры. Такое явление характерно и для других гидрофобных аминокислот.

Энтальпия необменной сорбции триптофана имеет отрицательные значения и проходит через минимум. Внедрение малых количества вещества в сорбент не приводит к значимым тепловым эффектам, при повышении концентрации экзотермичность нарастает, а затем уменьшается (рис. 3 в). Это, по-видимому, обусловливается сочетанием ряда факторов таких как регидратация сорбата, изменение структуры раствора в фазе сорбента, связывание с сорбционными центрами и дополнительное взаимодействие с матрицей. Выделение тепла компенсируется уменьшением энтропии за счет

связывания аминокислоты в фазе анионообменника и упорядочивания системы при этом (рис. 3 г).

Для мицеллообразующего фенилаланина [11, 12] сорбция резко падает при возрастании температуры и выше 323 К не протекает (рис. 2). Это связано с тем, что для нейтральных поверхностно-активных веществ, каким и является фенилаланин, характерно смешение ККМ в область меньших концентраций [13], следовательно, мицеллообразование в растворе при повышенных температурах в системах с фенилаланином преобладает над распределением в фазу сорбента. Поэтому при термодинамическом описании рассматривается интервал температур от 277 до 293 К.

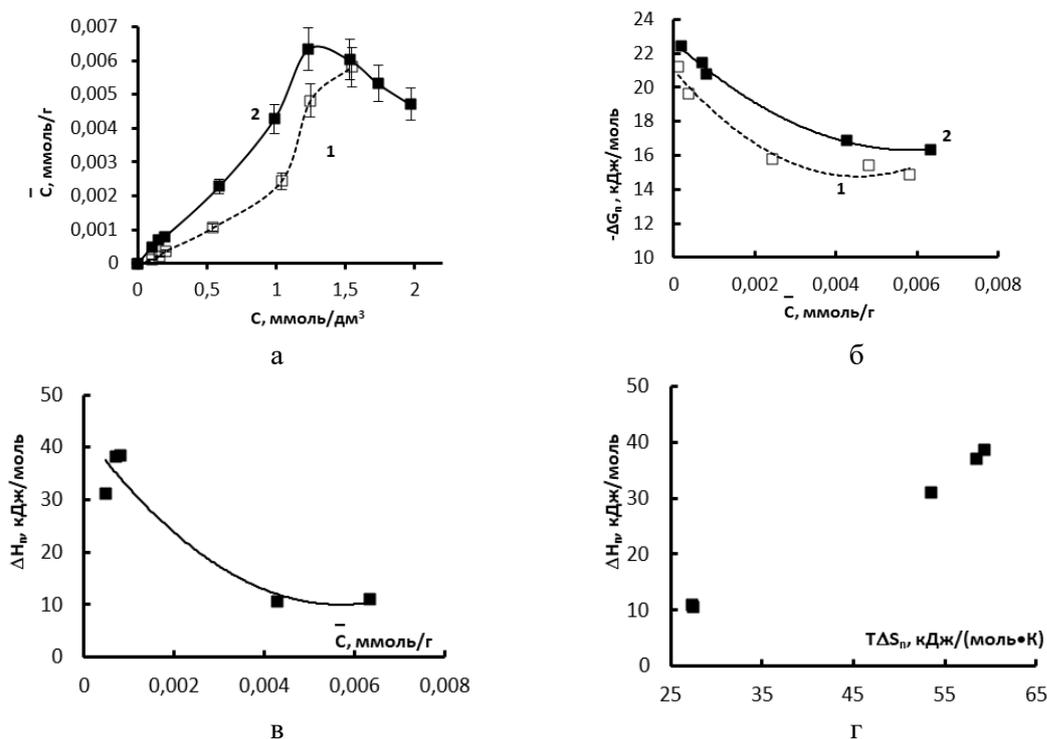


Рис. 5. Закономерности изменения характеристик необменной сорбции тирозина на анионообменнике АВ-17-8 (Cl) при различных температурах (1 – 277 К, 2 – 293 К). а – изотермы сорбции, б – изменение дифференциальных энергий Гиббса, в – изменение дифференциальной энтальпии, г – компенсационный эффект между энтальпийным и энтропийным фактором

Fig. 5. Patterns of changes in the characteristics of non-exchange sorption of tyrosine on an AV-17-8 anion exchanger (Cl) at different temperatures (1 – 277 K, 2 – 293 K). а – sorption isotherms, б – change in differential Gibbs energies, с – change in differential enthalpy, д – compensation effect between enthalpy and entropy factors

В целом, изменение дифференциальной энергии Гиббса, энтальпии и компенсационный эффект между энтальпийным и энтропийным фактором аналогичны закономерностям, полученным в системе с триптофаном.

Тирозин является самой малорастворимой из рассматриваемых аминокислот. Для него характерно повышение сорбции от 277 до 293 К (рис. 5), а затем при росте температуры падение до следовых количеств (рис. 2). Поэтому при термодинамическом описании рассматривается интервал температур 277-293 К. В этом температурном и концентрационном интервале процесс является эндотермическим, ход изменения дифференциальной энтальпии имеет обратный характер по сравнению с

предыдущими аминокислотами, а величины дифференциальных энергий Гиббса имеют большие значения и зависят от температуры. Это объясняется формированием пересыщенного раствора в фазе сорбента и уменьшением стабилизирующего влияния гидрофобных взаимодействий.

Гистидин является самой гидрофильной из рассматриваемых аминокислот. Кроме того, в водном растворе он находится в виде однозарядного катиона, поэтому его поведение отличается от гидрофобных аминокислот, а именно, характерен рост сорбции с повышением температуры, что коррелирует с содержанием растворителя в фазе сорбента, в том числе с аномальным содержанием при

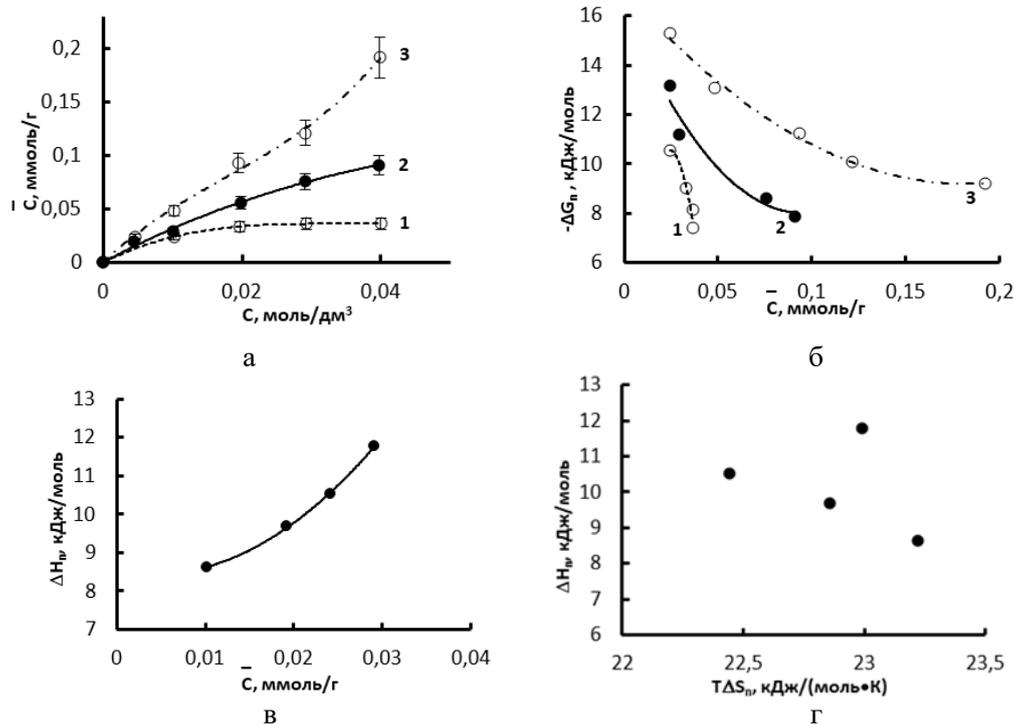


Рис. 6. Закономерности изменения характеристик необменной сорбции гистидина на анионообменнике АВ-17-8 (Cl) при различных температурах (1 – 277 К, 2 – 293 К, 3-343 К). а – изотермы сорбции, б – изменение дифференциальных энергий Гиббса, в – изменение дифференциальной энтальпии, г – компенсационный эффект между энтальпийным и энтропийным фактором

Fig. 6. Patterns of changes in the characteristics of non-exchange sorption of histidine on an AV-17-8 (Cl) anion exchanger at different temperatures (1 – 277 K, 2 – 293 K, 3-343 K). a – sorption isotherms, b – change in differential Gibbs energies, c – change in differential enthalpy, d – compensation effect between enthalpy and entropy factors

Таблица. Интегральные характеристики сорбции аминокислот анионообменником АВ-17-8
 Table. Integral characteristics of amino acid sorption by an AV-17-8 anion exchanger

	T, K	K _A	ΔG, Дж/моль	ΔH, кДж/моль	TΔS, кДж/моль
Триптофан	277	1.31	-613	-1.51	-0.90
	293	1.13	-304		-1.21
	343	1.12	-323		-1.19
Фенилаланин	277	1.06	-137	-2.15	-2.02
	293	1.01	-20.1		-2.13
Тирозин	277	1.00	-0.41	0.98	0.09
	293	1.01	-6.12		0.10
Гистидин	277	0.97	71.9	1.17	1.10
	293	1.03	-73.8		1.25
	343	1.08	-215		1.39

333 К. Процесс является эндотермическим, характеризуется отсутствием компенсационного эффекта между энтальпийным и энтропийным фактором и сильной зависимостью энергии Гиббса от температуры (рис. 5). Это связано, вероятно, с потерей части воды гидратных

оболочек при переходе из фазы раствора в фазу сорбента и отсутствием стабилизирующего эффекта гидрофобных взаимодействий.

Интегральные энергетические характеристики сорбции аминокислот в исследуемом



двух температурных интервалах анионообменником АВ-17-8 приведены в таблице.

Как видно из таблицы сорбция аминокислот протекает самопроизвольно, но энергия поглощения невелика в силу рассмотренного компенсационного эффекта между энтальпийным и энтропийным фактором; наблюдается переход от экзотермического к эндотермическому процессу по мере нарастания гидрофильности аминокислоты.

Заключение

Таким образом, рассмотрено влияние температуры на поглощение ароматических аминокислот (триптофан, фенилаланин, тирозин, гистидин) анионообменником АВ-17-8, рассчитаны энергии Гиббса, энтальпии и энтропии необменной

Список литературы

1. Трунаева Е.С., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю. Компьютерное моделирование межчастичных взаимодействий в фазе анионообменника при необменной сорбции аминокислот // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2018. Т. 18, № 2. С. 142-149.
2. Хохлова О.Н., Каширцева Е.Р., Трунаева Е.С. Хохлов В.Ю. Квантово-химическое моделирование необменной сорбции аминокислот анионообменником АВ-17 // *Журнал физической химии*. 2021. Т. 95, № 4. С. 581-587.
3. Практикум по ионному обмену : учеб. пособие / В.Ф. Селеменев, Г.В. Славинская, В.Ю. Хохлов. Воронеж. гос. ун-т, 2004. 160 с.
4. Рудакова Л.В., Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Кудухова И.Г., Никитина С.Ю. Влияние температуры на характер равновесного набухания полимерных гранул в воде и этаноле // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013. Т. 13, Вып. 5. С. 676-686.
5. Хохлов В.Ю., Селеменев В.Ф., Хохлова О.Н., Загородний А.А. Ионные равновесия в растворах аминокислот при

сорбции. Установлено, что для гидрофобных аминокислот поглощение падает с повышением температуры и характеризуется наличием компенсационного эффекта между энтальпийным и энтропийным фактором; для гидрофильного гистидина сорбция растет, а компенсационный эффект отсутствует. Показано, что по мере нарастания гидрофильности аминокислоты наблюдается переход от экзотермического к эндотермическому процессу сорбции.

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.

различных температурах // *Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация*. 2003. № 1. С. 18-22.

6. Хохлова О.Н. Термодинамическое описание сверхэквивалентной сорбции ионообменниками. Теоретические основы // *Журнал физической химии*. 2014. Т. 88, № 7-8. С. 1243-1246.

7. Трунаева Е.С., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю. Термодинамическое описание необменной сорбции веществ ионообменниками // *Журнал физической химии*. 2018. Т. 92, № 12. С. 1920-1924.

8. Dougherty R.C. Temperature and pressure dependence of hydrogen bond strength: A perturbation molecular orbital approach // *J. Chem. Phys.* 1998. Vol. 109. P. 7372-7378.

9. Wen-Yih Chen, Hsiang-Ming Huang, Chien-Chen Lin, Fu-Yung Lin, Yu-Chia Chan. Effect of temperature on hydrophobic interaction between proteins and hydrophobic adsorbents: studies by isothermal titration calorimetry and the Van't Hoff equation // *Langmuir*. 2003. Vol. 19, no 22. P. 9395-9403.



10. Schellman J.A. Temperature, stability, and the hydrophobic interaction // *Biophys J.* 1997. Vol. 73(6). P. 2960-2964.

11. Хохлова О.Н., Селеменев В.Ф., Кузнецова Л.В., Хохлов В.Ю. Необменная сорбция фенилаланина низкоосновными анионитами // *Журнал физической химии.* 2001. Т. 75, № 11. С. 2011-2015.

12. Трунаева Е.С., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю. Квантово-химическое моделирование гидратации и ассоциации фенилаланина в растворе // *Журнал структурной химии.* 2015. Т. 56, № 6. С. 1111-1115.

13. Буканова Е.Ф. Коллоидная химия ПАВ. Часть 1. Мицеллообразование в растворах ПАВ : учеб. пособие / Е.Ф. Буканова. М. : МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2006. 81 с.

References

1. Trynaeva E.S., Khokhlova O.N., Khokhlov V.Yu. Komp'yuternoe modelirovanie mezhchastichnyh vzaimodeystvij v faze anionoobmennika pri neobmennoj sorbcii aminokislot. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2018; 18(2): 142-149. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2018.18/493> (In Russ.)

2. Khokhlova O.N., Kashirtseva E.R., Khokhlov V.Yu., Trynaeva E.S. Kvantovo-himicheskoe modelirovanie neobmennoj sorbcii aminokislot anionoobmennikom AV-17. *ZHurnal fizicheskoy himii.* 2021; 95(4): 762-768. <https://doi.org/10.31857/S0044453721040130> (In Russ.)

3. Praktikum po ionnomu obmenu / Selemenev V.F., Slavinskaya G.V., Khokhlov V.Yu. Voronezh, VGU, 2004, 180 p. (In Russ.)

4. Rudakova L.V., Selemenev V.F., Rudakov O.B., Kudukhova I.G., Nikitina S.Yu. Vliyaniye temperatury na harakter ravnovesnogo nabuhaniya polimernykh granul v vode i etanole. *Sorbtionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2013; 13(5): 676-686. (In Russ.)

5. Khokhlov V.Yu., Selemenev V.F., Khokhlova O.N., Zagorodny A.A. Ionnyye ravnovesiya v rastvorakh aminokislot pri

razlichnykh temperaturah. *Vestnik VGU. Seriya : Khimiya, Biologiya, Pharmatsiya.* 2003; 1: 18-22. (In Russ.)

6. Khokhlova O.N. Termodinamicheskoye opisanie sverhekivalentnoy sorbcii ionoobmennikami. Teoreticheskiye osnovy. *ZHurnal fizicheskoy himii.* 2014; 88(7-8): 1243-1246. <https://doi.org/10.7868/S0044453714080135> (In Russ.)

7. Trunaeva E.S., Khokhlova O.N., Khokhlov V.Yu. Termodinamicheskoye opisanie neobmennoj sorbcii veshchestv ionoobmennikami. *ZHurnal fizicheskoy himii.* 2018; 92(12): 1920-1924. <https://doi.org/10.1134/S0044453718120440> (In Russ.)

8. Dougherty R.C. Temperature and pressure dependence of hydrogen bond strength: A perturbation molecular orbital approach. *J. Chem. Phys.* 1998; 109: 7372-7378. <https://doi.org/10.1063/1.477343>

9. Wen-Yih Chen, Hsiang-Ming Huang, Chien-Chen Lin, Fu-Yung Lin, Yu-Chia Chan. Effect of temperature on hydrophobic interaction between proteins and hydrophobic adsorbents: studies by isothermal titration calorimetry and the Van't Hoff equation. *Langmuir.* 2003; 19(22): 9395-9403. <https://doi.org/10.1021/la034783o>

10. Schellman J. A. Temperature, stability, and the hydrophobic interaction. *Biophys J.* 1997; 73(6): 2960-2964. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(97\)78324-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(97)78324-3)

11. Khokhlova O.N., Selemenev V.F., Khokhlov V.Yu., Kuznetsova L.V. Neobmennaya sorbciya feniilalanina nizkoosnovnymi anionitami. *ZHurnal fizicheskoy himii.* 2001; 75(11): 2011-2015. (In Russ.)

12. Trynaeva E.S., Khokhlova O.N., Khokhlov V.Yu. Kvantovo-himicheskoye modelirovanie gidratatsii i assotsiatsii feniilalanina v rastvore. *ZHurnal strukturnoy himii.* 2015; 56(6): 1111-1115. <https://doi.org/10.15372/JSC20150605> (In Russ.)

13. Bukanova E.F. Kolloidnaya khimiya PAV. Mitselloobrazovanie v rastvorakh PAV., MITKHT im. Lomonosova, 2006, 81h. (In Russ.)



Информация об авторах / Information about the authors

С.А. Лисицына – студент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, Россия

О.Н. Хохлова – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии, химический факультет, Воронежский Государственный Университет, Воронеж, Россия

В.Ю. Хохлов – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, химический факультет, Воронежский Государственный Университет, Воронеж, Россия

S.A. Lisitsyna – student, department of analytical chemistry, chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: lisitsyna_2000@mail.ru

O.N. Khokhlova – associate professor, department of analytical chemistry, chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: okxox@yandex.ru, ORCID: 0009-0006-9314-7870

V.Yu. Khokhlov – professor, department of analytical chemistry, faculty of chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: vladkh70@mail.ru, ORCID: 0009-0001-0655-1546

Статья поступила в редакцию 13.06.2023; одобрена после рецензирования 26.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 13.06.2023; approved after reviewing 26.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11576

Применение цеолитов в высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Виктория Дмитриевна Лузанова, Нина Борисовна Рожманова,
Сергей Николаевич Ланин, Павел Николаевич Нестеренко**[✉]

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,
p.nesterenko@phys.chem.msu.ru[✉]

Аннотация. Неорганические цеолиты или микропористые кристаллические алюмосиликаты обладают высокой пористостью, развитой удельной поверхностью, однородными по размеру порами и ионообменными свойствами, что определяет их молекулярно-ситовые и адсорбционные свойства. Широко известно применение цеолитов в качестве катализаторов, осушителей растворителей и газов, селективных сорбентов для разделения низкомолекулярных соединений. Достаточно широко цеолиты используются в качестве наполнителей хроматографических колонок в газо-адсорбционной хроматографии. Мало известно о применении цеолитов в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), и о механизме удерживания сорбатов на этих сорбентах. В зависимости от свойств сорбатов, удерживание определяется совокупностью ионообменных, адсорбционных, молекулярно-ситовым эффектом, а также кинетической селективностью. Из-за сольватации поверхности сорбента в ВЭЖХ изменяются термодинамические параметры взаимодействия сорбатов с цеолитом, уменьшается эффективный размер пор и затрудняется диффузия разделяемых соединений в поры сорбента.

Тем не менее, цеолиты являются перспективными адсорбентами, поскольку строго определенный размер ($d_{\text{пор}}$) и геометрия пор цеолитов, а также возможность выбора цеолитов с определенной полярностью обуславливает высокую селективность разделения низкомолекулярных соединений. Наибольший интерес для ВЭЖХ представляют широкопористые цеолиты, $d_{\text{пор}}$ (0.6-0.8 нм) с 8, 10, 12 и 14- членными кольцевыми каналами.

В данном обзоре приведены краткие сведения о классификации, составе, структуре цеолитов и их влиянии на их адсорбционные свойства, а также систематизированы данные по применению цеолитов в ВЭЖХ.

Ключевые слова: цеолиты, адсорбция, ионный обмен, эксклюзия, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 20-03-00584а).

Для цитирования: Лузанова В.Д., Рожманова Н.Б., Ланин С.Н., Нестеренко П.Н. Применение цеолитов в высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 691-704. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11576>

Original article

Application of zeolites in high-performance liquid chromatography

Viktoria D. Luzanova, Nina B. Rozhmanova, Sergey N. Lanin, Pavel N. Nesterenko[✉]

Lomonov Moscow State University, Moscow, Russia, p.nesterenko@phys.chem.msu.ru[✉]

Abstract. Inorganic zeolites or microporous crystalline aluminosilicates have high porosity, developed specific surface area, uniform pore size and ion exchange properties, which determines their molecular sieve and adsorption properties. The use of zeolites as catalysts, dryers of solvents and gases, and selective sorbents for the separation of low molecular weight compounds is widely known. Zeolites are widely used as fillers for chromatographic columns in gas adsorption chromatography.



Little is known about the use of zeolites in high-performance liquid chromatography (HPLC) and the mechanism of sorbate retention on these sorbents. Depending on the properties of sorbates, retention is determined by a combination of ion exchange, adsorption, molecular sieve effect, as well as kinetic selectivity. Due to solvation of the sorbent surface in HPLC, the thermodynamic parameters of the interaction of sorbates with zeolite change, the effective pore size decreases, and the diffusion of separated compounds into the pores of the sorbent becomes more difficult.

Nevertheless, zeolites are promising adsorbents, since specific size (d_{pore}) and the pore geometry of zeolites, as well as the possibility of selecting zeolites with a certain polarity, determines the high selectivity of the separation of low molecular weight compounds. Wide-pore zeolites with d_{pore} (0.6-0.8 nm) with 8, 10, 12, and 14-membered ring channels are of greatest interest for HPLC.

This review provides brief information about the classification, composition, structure of zeolites and their effect on their adsorption properties, as well as systematizes data on the use of zeolites in HPLC.

Keywords: zeolites, adsorption, ion exchange, exclusion, high performance liquid chromatography

Acknowledgments: the study was carried was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 20-03-00584a).

For citation: Luzanova V.D., Rozhmanova N.B., Lanin S.N., Nesterenko P.N. Application of zeolites in high-performance liquid chromatography. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 691-704. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11576>

Введение

Обычно, цеолиты представляют собой микропористые природные и синтетические кристаллические алюмосиликаты, реже алюмофосфаты, и галлофосфаты. Из-за наличия высокоупорядоченной структуры в последнее время к классическим неорганическим цеолитам часто относят гибридные микропористые сорбенты типа металлорганических каркасов (metal-organic frameworks, MOF) и координационных органических каркасов (covalent organic frameworks, COF) [1]. Неорганические цеолиты отличает высокая пористость, развитая поверхность, и наличие однородных по размеру и геометрии микропор, размер которых соизмерим с размерами молекул соединений с М.м. < 200-300 у.е. Это обуславливает их способность эффективно и селективно извлекать низкомолекулярные компоненты, включая фенолы [2], фармацевтические препараты [2, 3], добавки к топливу (метил-трет-бутиловый эфир, МТВЕ), нитрозамины [3], токсичные металлы [4] и ряда других соединений, из сложных по составу жидких образцов, таких как природные и сточные воды.

Несмотря на широкое применение цеолитов для адсорбционного извлечения различных соединений из жидких растворов, возможность их применения в

жидкостной хроматографии мало изучена, в отличие от родственных им MOF [5] и COF [6]. Целью настоящего обзора является анализ имеющихся работ по применению цеолитов в качестве неподвижной фазы (НФ) в различных вариантах высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Свойства цеолитов

Общие сведения о цеолитах. Структура классических цеолитов образована тетраэдрами $[\text{SiO}_4]^{4-}$ и $[\text{AlO}_4]^{5-}$ (TO_4), объединенными общими вершинами в трехмерный каркас, пронизанный полостями и каналами, в которых локализованы протоны, катионы щелочных, щелочноземельных и редкоземельных металлов, аммония, алкиламмония, компенсирующие отрицательный заряд $[\text{AlO}_4]^{5-}$ [7]. Химическая формула цеолита с катионом М может быть представлена как $\text{M}_y^{z+}[\text{Si}_x\text{Al}_x\text{O}_2]^{x-}$, где $x=yz$, при этом в согласно правилу Левенштейна, запрещающему связи Al-O-Al, для большинства цеолитов, значение x варьируется в пределах от 0 до 0.5, что соответствует $\text{Si}/\text{Al} \geq 1$ [8].

В настоящее время известно около 600 цеолитов, 52 из них относится к природным. Первоначально тип структуры синтетического цеолита обозначался латинскими буквами: А и Х, а также Y ($\text{Si}/\text{Al} > 1.5$), который изоструктурен Х ($1 \leq \text{Si}/\text{Al}$

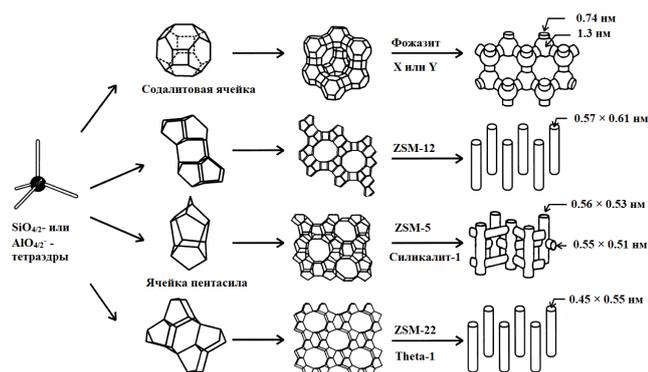


Рис.1. Структура цеолитов, образованных из ячеек содалита и пентасила [9].

Fig. 1. Structure of zeolites formed from sodalite and pentasil cells [9].

≤ 1.5), но содержит меньше алюминия [9]. Перед буквой, обозначающей тип структуры, указывают либо символ катиона металла, входящего в состав цеолита, либо максимальный размер полости (в ангстремах), цеолита. Так, фожазит может обозначаться как NaX, NaY и 13X. Согласно номенклатуре Международной цеолитной ассоциации (IZA) для обозначения цеолитов используют трехбуквенный код, определяющий топологию каркаса материала природного аналога [10]: FAU (фожазит), MOR (морденит), FER (ферририт) и т.д. Однако чаще всего для обозначения конкретных цеолитов используют акронимы: ZSM-5, ZK4, EU-1, FU-1, Nu-1, ITQ-37 и др.

Структура цеолитов. Тетраэдры TO_4 рассматривают как первичные строительные блоки (ПСБ) цеолитового каркаса. ПСБ соединяются через атомы кислорода, образуя вторичные строительные блоки (ВСБ) или более сложные составные строительные блоки (ССБ) [11]. Простейшими примерами ВСБ являются кольца. В общем случае кольцо, содержащее n тетраэдров, называется n -членным кольцом или порой. Наиболее распространенные кольца образованы 4, 5, 6, 8, 10, или 12 тетраэдрами. Соединяя кольца разных размеров в многогранники, можно получить разные ячейки и полости. Грани ячеек состоят менее чем из 6 тетраэдров и не пропускают молекулы, превышающие по размеру молекулу

воды. Если хотя бы одна грань каркасного многогранника цеолита имеет более 6 тетраэдров, то такие структурные элементы называют полостями. ВСБ соединяются между собой, образуя систему одно-, двух- и трехмерных каналов. Канал можно представить как бесконечную, по крайней мере в одном измерении, пору с минимальным размером отверстия ($n > 6$), достаточным для проникновения и диффузии сорбатов. В 1-мерной системе каналов возможно движение молекул только по параллельным, не связанным друг с другом каналам. В 2-мерной системе молекулы и ионы продвигаются в плоскости из соединенных друг с другом параллельных и поперечных каналов. В 3-мерной системе все каналы связаны между собой, создавая разветвленную сеть, что позволяет соединениям проникать в любую точку кристалла.

Если 24 тетраэдра соединить вместе, получится усеченный октаэдр, также называемый содалитовой ячейкой или β -ячейкой (рис. 1). Соединение содалитовых ячеек через гексагональные призмы с образованием суперполости, доступной через 3-мерную систему каналов, образуемую 12-членными кольцами, приводит к созданию структуры фожазита (FAU). Цеолит ZSM-5 (MFI) и его цельнокремнеземный аналог силикалит-1 ($Si/Al = \infty$) изготовлены из пентасильных ССБ, состоящих из восьми 5-членных колец, сформированных, в основном, из тетраэдров

SiO₄. Из-за низкого содержания Al в каркасе формируется 2-мерная система каналов: прямых эллиптических, сечение которых представляет собой десятичленное кольцо, и зигзагообразных. Примером цеолита с одномерными 12-членными эллиптическими каналами является цеолит ZSM-12 (рис. 1).

К числу уникальных свойств цеолитов является наличие строго определенного размера пор ($d_{\text{пор}}$), соизмеримого с размерами низкомолекулярных соединений. Цеолиты представляют собой микропористые сорбенты ($d_{\text{пор}} \leq 2$ нм). По минимальному размеру окон для наибольших пор цеолиты дополнительно подразделяют на [11]:

- узкопористые с минимальным размером пор в интервале от 0.3 до 0.5 нм, что соответствует кольцам, состоящим из 6-8 TO₄;

- среднепористые с минимальным размером пор от 0.5 до 0.6 нм, что соответствует кольцам, состоящим из 10 TO₄;

- широкопористые с минимальным размером пор от 0.6 до 0.75 нм, что соответствует кольцам, состоящим из 12 TO₄;

- ультраширокопористые с минимальным размером пор более 0.75 нм, что соответствует кольцам, состоящим из более чем 12 TO₄.

Свободный диаметр ($d_{\text{пор}}$) или эффективная ширина каналов, определяющая максимальный размер сорбатов, которые могут проникать в микропоры с внешней стороны кристалла цеолита, оценивают вычитанием 0.27 нм (диаметр иона O²⁻) из кристаллографического расстояния между атомами кислорода на противоположных сторонах поры. Молекулы адсорбатов, перемещаясь внутри цеолитных каналов и полостей, в основном находятся в ван-дер-ваальсовом контакте с O²⁻ группами каркаса, стерически экранирующими T-атомы каркаса. Адсорбаты также могут взаимодействовать с катионами, координированными O²⁻ группами каркаса.

В литературе описано применение в ВЭЖХ цеолитов с одно-, дву- и трехмерной системами каналов, образованными 8-, 10- или 12-членными кольцами с диаметром от 0.40 до 0.77 нм (табл. 1), но отсутствует информация о применении ультраширокопористых цеолитов. Более широко в ВЭЖХ используются похожие на цеолиты алюмосиликаты, например MCM-41, с высокоупорядоченной мезопористой структурой, но имеющие диаметр пор от 3.5 до 4.1 в зависимости от природы темплата [12, 13]

Следует отметить, что значения $d_{\text{пор}}$ дают лишь приблизительную оценку проницаемости пор. Точные $d_{\text{пор}}$ варьируются в зависимости от конкретной структуры и состава рассматриваемого цеолита: катионы часто координируются в окнах канала, уменьшая эффективный размер пор, и в некоторых случаях могут блокировать диффузию молекул в кристалл и из него.

Химический состав и свойства цеолитов. Соотношение Si/Al определяет полярность алюмосиликатного цеолита, среди которых выделяют высокополярные ($1 < \text{Si}/\text{Al} < 2$), среднеполярные ($2 < \text{Si}/\text{Al} < 5$), и малополярные с высоким содержанием кремния ($\text{Si}/\text{Al} > 5$) [14]. Содержание каркасного алюминия определяет плотность отрицательных зарядов каркаса и кислотных центров Бренстеда, ионообменную способность, прочность, термостабильность, химическую устойчивость, гидрофильность поверхности и размеры элементарной ячейки [9].

Высококремнеземные цеолиты являются гидрофобными, что позволяет их использование в обращенно-фазовой ВЭЖХ. Структура, содержащая только тетраэдры [SiO₄]⁴⁻, нейтральна, поскольку заряд 4⁺ на атоме кремния компенсируется четырьмя ионами O²⁻, одновременно принадлежащих двум тетраэдрам. По мере увеличения содержания алюминия в каркасе возрастает полярность и гидрофильность цеолита. Замена



Таблица 1. Свойства цеолитов, использованных в качестве НФ для ВЭЖХ.

Table 1. Properties of zeolites used as SP for HPLC.

Тип и пористая структура, нм ^a	Цеолит	Si/Al	Обменный катион	D, мкм	Литература
8-членные окна					
LTA (***) , поры 0.4 (Na ⁺) и 0.5 (Ca ²⁺), полости 1.1;	5A	1	Ca/Na		[18]
10-членные окна					
MFI (***) , каналы прямые: 0.56×0.53; синусоидальные: 0.54±0.02	Силикалит	400	Na	10	[35-38]
		∞	отсутствует	5-20	[27, 29]
	ZSM-5	13, 40, 137	Na		[27]
		150	Na	10	[35-38]
		55	Na	1-5	[24]
EUO (*), каналы 0.57×0.41; карманы 0.58×0.68	EU-1	104.8, 99.4	H, Li, Na, K, Rb, Cs, Mg, Ca, Sr, Ba, Ni, Zn	30 ^b	[31]
TON (*), каналы 0.46×0.57	NU-10	186.6, 198.8	H, Li, Na, K, Rb, Cs, Mg, Ca, Sr, Ba, Ni, Zn		[31]
	ZSM-22	30	Na		[27]
12-членные окна					
BEA (***) , каналы: прямые: 0.55×0.57, синусоидальные: 0.66×0.77; полости: 0.76	CP814E	12.5		1	[37]
	Beta	55.8, 67.2	H, Li, Na, K, Rb, Cs, Mg, Ca, Sr, Ba, Ni, Zn	30 ^b	[31]
		12.5	H	1	[27]
FAU (***) , полости 1.12-1.23, окна 0.735	Y	2.4	Na, K, Ca, Sr	20	[32]
	DAY	130	Na	20	[32, 33]
	CBV-780	40	Na	0.5	[35-38]
	10X	1.5	Ca	30-44	[18]
	13X	1.13	Na	5	[25, 26]
	Na-USY	30	Na		[27]
MOR (**), каналы 0.65×0.70	Морденит		H	74-88	[19]
		8.84	H	30-44	[18]
		7.5, 14, 73.5	Na	20	[32]

^aколичество * в скобках означает размерность системы каналов в цеолите; ^bсорбенты получены с использованием связующего материала Ludox AS-40.

одного атома Si на Al приводит к появлению в тетраэдре заряда 1⁻, нейтрализованного протоном или катионом металла. Протоны всегда координированы с одним из каркасных атомов кислорода, образующего кислотные центры Бренстеда. Эти протоны ответственны за кислотные и ионообменные свойства цеолита. Каркасные атомы кислорода являются довольно основными и служат акцепторами водородных связей для молекул воды и

других соединений. С увеличением содержания алюминия термическая и химическая устойчивость цеолитов снижается, а ионообменная способность растет [9, 14]. Для большинства цеолитов погружение в воду не приводит к разрушению структуры, которая также стабильна в разбавленных щелочных растворах. Кристаллический алюмосиликатный каркас разрушается под воздействием сильных кислот.

Адсорбционные центры в цеолитах. Многие из ключевых свойств цеолитов существенным образом зависят от расположения и природы катионов в каркасе цеолита. Каркас изменяется в зависимости от размера катионов и количества катионов на элементарную ячейку, число которых зависит от соотношения Si/Al. Положение катионов зависит от природы и заряда катиона, степени гидратации цеолита и может изменяться в процессе адсорбции. Например, при переходе от NaA к CaA количество катионов в ячейках уменьшается, а $d_{\text{пор}}$ увеличивается приблизительно с 0.4 нм до 0.5 нм, что значительно влияет на молекулярно-ситовой эффект [15].

Кислотность. Свойства цеолитов зависят от наличия в сорбентах кислотных центров Бренстеда и Льюиса. Центр Бренстеда представляет протон, связанный с каркасными атомами кислорода, а центр Льюиса - тетраэдрически координированный атом Al, несущий отрицательный заряд, который компенсируется катионами, влияющими на размер пор в структуре и ионообменные свойства цеолита [7]. С ростом содержания Si кислотность алюмосиликатных цеолитов падает и, наоборот, с увеличением Al – возрастает [9].

Ионообменные свойства. Ионообменные свойства цеолитов давно известны и хорошо изучены. В подробных обзорах [16, 17] рассмотрены изотермы ионного обмена катионов металлов и приведены данные по ионообменной селективности природных и синтетических цеолитов, имеющих структуру LTA, FAU, MOR, MFI и многих других. В целом, можно выделить следующие закономерности ионного обмена в цеолитах:

- Цеолиты с высоким содержанием кремния обладают повышенным сродством к крупным однозарядным катионам с низкой плотностью заряда, тогда как цеолиты с низким содержанием крем-

ния предпочитают небольшие многозарядные катионы с высокой плотностью заряда.

- Отмечены замедленная кинетика ионного обмена для катионов с высокими значениями теплот гидратации, например, Li^+ or Mg^{2+} .

- Катионы переходных металлов имеют более низкое сродство по сравнению с катионами щелочных и щелочноземельных металлов.

В работе [18] отмечена возможность разделения катионов аммония, натрия и калия на пелликулярных сорбентах Pellisieve при использовании 0.5 M LiCl в качестве элюента при 75° C. Колонка с морденитом была использована для разделения и определения нитрит и нитрат ионов в воде методом ион-эксклюзионной хроматографии с использованием 10 mM серной кислоты в качестве элюента [19].

Закономерности удерживания на цеолитах

Согласно рассмотренным выше характеристикам цеолитов, их адсорбционные свойства могут быть реализованы в жидкостной хроматографии по трем условным механизмам:

а) Стандартный механизм, в основе которого лежит термодинамика равновесных адсорбционных и ионообменных взаимодействий в хроматографической системе, а разделение определяется разницей в энергии взаимодействий сорбата-сорбент. Следует учитывать разницу в энергиях взаимодействия сорбата с внешней поверхностью и внутриворончатой поверхностью цеолитов.

б) Неравновесный механизм, где кинетическая селективность, связана с различиями в скорости диффузии сорбата в НФ [20, 21].

в) Молекулярно-ситовой механизм, проявляющийся в дискриминации сорбата по форме и размеру молекул при диффузии в поры цеолита. В определенных

Таблица 2. Характеристики сорбатов с различной полярностью по Снайдеру (P')
 Table 2. Characteristics of sorbates with different polarities according to Snyder (P')

Вещество	P' [40]	n_{d20}	d_k , нм
изооктан	0.1	1.392	–
<i>n</i> -гексан	0.1	1.376	0.58
<i>n</i> -пентан	0.2	1.358	0.51
<i>n</i> -гептан	0.2	1.388	–
толуол	2.4	1.497	0.585
<i>n</i> -ксилол	2.5	1.496	0.585
бензол	2.7	1.501	0.585
хлористый метилен	3.1	1.424	0.33
<i>n</i> -гексанол	3.4-3.5	1.418	0.5
2-пентанол	3.5	1.406	–
<i>n</i> -пентанол	–	1.410	0.5
трет-бутанол	3.6	1.388	0.6
2-бутанол	–	1.397	0.5
<i>n</i> -бутанол	3.9	1.399	0.5
2-пропанол	3.9	1.377	0.47
<i>n</i> -пропанол	4.0	1.386	0.47
этанол	4.3	1.361	0.43
метилэтилкетон	4.7	–	0.52
диоксан	4.8	1.422	–
ацетон	5.1	1.359	0.47
метанол	5.1	1.328	0.38
ацетонитрил	5.8	1.341	0.34
нитрометан	6.0	1.382	–
ДМФА	6.4	1.427	–
ДМСО	7.2	1.477	0.5
вода	10.2	1.333	0.27

случаях может совпадать с эффектами кинетической селективности.

В ВЭЖХ известны единичные случаи применения цеолитов в качестве НФ. В большинстве работ механизм удерживания сорбатов на цеолитах не обсуждается. В общем случае в ВЭЖХ нужно учитывать совокупность межмолекулярных взаимодействий сорбатов с НФ и подвижной фазой (ПФ), а также взаимодействия сорбат-сорбат [22]. С точки зрения термодинамики, механизм удерживания и разделительная способность определяются гидрофобностью сорбента, полярностью элюента, а также температурой колонки. К кинетическим параметрам относят соотношением $d_{пор}$ сорбента и d_k сорбата, влияющие на скорость диффузии сорбатов, структура сорбента, а также скорость ПФ.

Молекулярно-ситовой эффект. Для цеолитов вклад молекулярно-ситового эффекта в удерживание сорбатов селективность разделения зависит не только от соотношения $d_{пор}$ цеолита и размера молекулы сорбата, но и от пространственной конфигурации молекулы, что отчасти учитывается соответствующим значением кинетического диаметра (d_k) (табл. 2). В отличие от обычной эксклюзионной хроматографии, только полное соответствие геометрии пор цеолитов (поперечного сечения каналов) и минимальных размеров молекулы сорбата по двум координатам обеспечивает диффузию в поры и максимальное удерживание сорбатов. Движение сорбатов в цеолите описывается конфигурационной диффузией [23], учитывающей столкновение молекул со стенками узких пор, при этом

найден, что адсорбция и диффузия сорбатов зависят от размеров молекул растворителя [24].

Показано [25, 26], соединения с $d_k < d_{\text{пор}}$ сорбента могут проникать в поры цеолита 13X в Na^+ форме (табл. 1, 2). В работе [27] проведено сравнение удерживания и селективность разделения *n*-алканов (C5-C16) для на колонках, заполненных цеолитами Na-USY (FAU), силикалитом и ZSM-5 (MFI), Beta (BEA) и ZSM-22 (TON), при использовании метанола в качестве ПФ. Найден, что слишком маленькие поры ZSM-22 (0.45×0.55 нм) ограничивают диффузию алканов в поры, что приводит к отсутствию их удерживания на колонке. Для других сорбентов наблюдали удерживание алканов, при этом максимальное взаимодействие с изученными *n*-алканами ($d_k \geq 0.43$ нм) получено для цеолитов с топологией MFI (0.56×0.53 нм), а не для более крупнопористых цеолитов FAU и BEA. Показано, что в зависимости от размеров пор цеолита адсорбция линейных и изомерных алканов может происходить, как внутри пор, так и с внешней стороны на окнах пор [28]

Удерживание фенолов на гидрофобном силикалите возрастает с увеличением гидрофобности или количества заместителей в молекуле: 2-хлорфенол ($\log P$ 2.15) < 2,3-дихлорфенол ($\log P$ 2.84) < 2,3,5-трихлорфенол ($\log P$ 3.84). Однако, слишком крупные молекулы пентахлорфенола ($\log P$ 5.12) проникнуть в поры не могут и удерживаются слабее менее гидрофобного 2-хлорфенола [29]. В работе [30] показана возможность использования данного сорбента в варианте ограниченного доступа внутрипористого пространства сорбента (Restricted Access Area) для прямого определения лекарственных препаратов в биологических жидкостях (плазма, моча) без удаления белков из пробы (рис. 2,А).

Результаты по разделению спиртов на пелликулярных сорбентах Pellisieve 5A, 8A, 8АН с размером частиц 30-44 мкм и

удельной поверхностью 5-15 м²/г, полученных нанесением соответственно цеолитов 5A, 10X, Norton Zeolon 100H (MOR) в виде пленок толщиной 2-4 мкм на стеклянные шарики, также отражает влияние $d_{\text{пор}}$ сорбентов на удерживание. На сорбенте с узкопористым цеолитом 5A были разделены только метанол и этанол; а на сорбенте со среднепористым цеолитом 8A разделяются метанол, этанол и 2-пропанол; и на сорбенте 8АН удалось разделить смесь нормальных (C1, C2, C4, C5) и изомерных (*трет*-бутанол, изопропанол) спиртов (рис. 2,Б) [18]. Следует отметить, что порядок элюирования пентанол < бутанол < этанол < метанол, полученный для нормальных спиртов, соответствует механизму эксклюзионной хроматографии.

Как известно, на $d_{\text{пор}}$ сильно зависит от катионной формы цеолите. Порядки удерживания диметил-, диэтил- и дихлорбензолов на цеолитах *BEA и EUO близки для различных классов сорбатов в силу схожести свойств заместителей. Практически для всех одновалентных форм *BEA и EUO получены одинаковые порядки элюирования изомера, соответственно, *мета* < *орто* < *пара* и *мета* < *пара* < *орто*. Данный эффект можно объяснить наименьшими d_k для *n*-изомеров, наиболее коррелирующим с $d_{\text{пор}}$ цеолита *BEA, и способностью молекул *о*-изомеров легче адсорбироваться в боковых карманах каналов EUO. Для двухвалентных катионных форм порядок элюирования несколько менялся, что авторы объясняли стерическим эффектом, создаваемым катионами в высококремнеземных цеолитах, когда катионы занимают только мостиковые участки, контролируемые распределением атомов алюминия в каркасе цеолита [31].

При хроматографии углеводов на гидрофильном Y-цеолита в K^+ или Ca^{2+} форме или гидрофобном MOR найден, что дисахариды не могут проникнуть в поры цеолитов из-за стерических препят

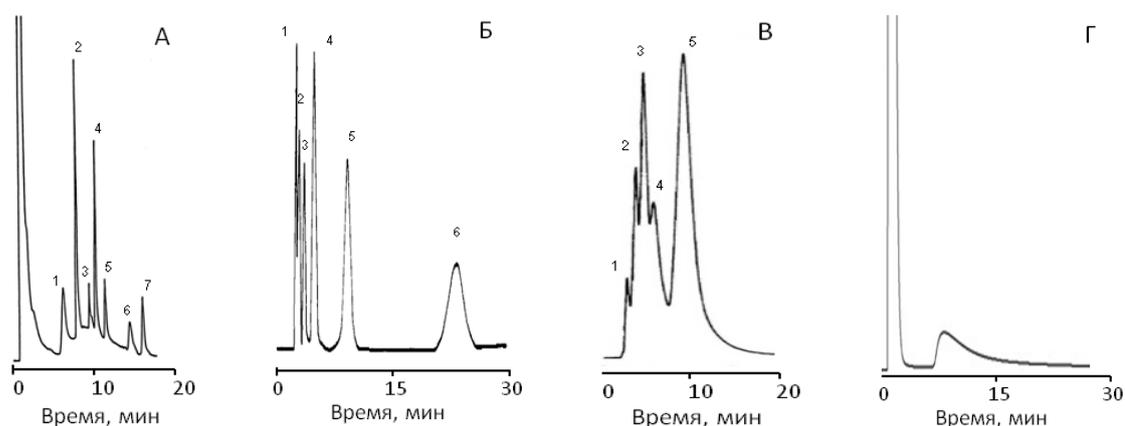


Рис. 2. Хроматограммы: А: плазмы крови с добавками (1) ацетаминофена, (2) барбитала, (3) примидона, (4) фенобарбитала, (5) фенитоина, (6) сульфаридина, (7) карбамазепина на колонке 100x4.6 мм с силикалитом (5-8 мкм), элюент: 20 мМ фосфатный буфер (pH 6.9) с градиентом ацетонитрила, 1 см³/мин [30]; Б: смеси спиртов: (1) *n*-пентанола, (2) *n*-бутанола, (3) *tert*-бутанола, (4) изопропанола, (5) этанола и (6) метанола на колонке 1000 x 2.1 мм с сорбентом Pellisieve 8АН (30-44 мкм), элюент: 50:45:5 бензол:циклогексан:этилацетат; 0.5 см³/мин [18]; В: смеси полисахаридов (1), глюкозы (2), фруктозы (3), изомальтулозы (4), трегалулозы (5), сахарозы (6) на колонке 125x4 мм с цеолитом DAY; элюент: вода, 0.5 см³/мин; 80°C [32]; Г: воды в ацетонитриле, на колонке 50x4.6 мм с цеолитом 13Х (5 мкм), элюент: метанол, 0.5 см³/мин; 35°C [25].

Fig. 2. Chromatograms: A: blood plasma supplemented with (1) acetaminophen, (2) barbital, (3) primidone, (4) phenobarbital, (5) phenytoin, (6) sulpharidine, (7) carbamazepine on a 100x4.6 mm column with silicalite (5-8 μm), eluent: 20 mM phosphate buffer (pH 6.9) with acetonitrile gradient, 1 cm³/min [30]; B: mixtures of alcohols: (1) *n*-pentanol, (2) *n*-butanol, (3) *tert*-butanol, (4) isopropanol, (5) ethanol and (6) methanol on a 1000 x 2.1 mm column with Pellisieve 8AN sorbent (30-44 μm), eluent: 50:45:5 benzene:cyclohexane:ethyl acetate; 0.5 cm³/min [18]; C: mixtures of polysaccharides (1), glucose (2), fructose (3), isomaltulose (4), trehalulose (5), sucrose (6) on column 125x4 mm with DAY zeolite; eluent: water, 0.5 cm³/min; 80°C [32]; D: water in acetonitrile, on a 50x4.6 mm column with 13X zeolite (5 μm), eluent: methanol, 0.5 cm³/min; 35°C [25].

ствий, поэтому разделения были получены только для моносахаридов [32]. Для гидрофобного цеолита DAY найдены более высокое сродство и селективность к дисахаридам по сравнению с моносахаридами, что может быть связано, в том числе, с некоторым увеличением размеров пор в отсутствие катионов металлов (рис. 2, В) [32]. Результаты данного исследования использованы в препаративной жидкостной колоночной хроматографии [33, 34].

В соответствии с гидродинамическими объемами макромолекулы полиэтилена (ПЭ) и полипропилена (ПП) не могут проникать в поры цеолитов из-за стерических затруднений [35-38]. Однако линейные размеры поперечного сечения макромолекул полимеров близки к $d_{\text{пор}}$

сорбентов, что способствовало частичному проникновению концевых участков полимерных цепей в узкие поры цеолитов. Адсорбция внутри пор требует серьезных изменений в конформации ПЭ: из клубков в практически линейную структуру. Более короткие полимерные цепочки с меньшими молекулярными массами легче изменяют свою конформацию. Авторы предположили, что при изменении конформации макромолекулы сворачиваются в спираль, частично проходят в поры и адсорбируются в «цветкообразной конформации». В этом случае часть макромолекулы, входящая в узкую пору, выглядит как стебель, в то время как остальная часть спирали, локализованная вокруг входа в пору, напоминает

корону цветка. Отмечена заметная разница в удерживании ПЭ и ПП и показана возможность их разделения.

Соотношение Si/Al. Адсорбция веществ внутри пор зависит от соотношения Si/Al. Высокое содержание Si придает гидрофобность, высокое содержание Al способствует гидрофильному взаимодействию, а различные взаимозаменяемые противоионы могут благоприятствовать образованию специфических связей.

На поверхности полярного сорбента 13X (табл. 1) могут удерживаться только соединения с близкой к нему или более высокой полярностью (*P*) (табл. 2), способные к образованию специфических связей [25, 26]. Удерживание *n*-алканов на цеолите ZSM-5 и силикалите растет с увеличением соотношения Si/Al в сорбенте и длины цепи *n*-алкана [27]. Удерживание алкилметилкетонов и замещенных фенолов на силикалите увеличивалось с ростом длины цепи алкильного заместителя или количества заместителей [29], что может быть обусловлено более сильным взаимодействием алкильных заместителей с гидрофобными поверхностями цеолитов. Цеолит TON с наименьшим содержанием Al в структуре изученных сорбентов [31] проявил разделяющую способность к ксилолам только для K^+ , Rb^+ , Sr^{2+} катионных форм, что связано с возможным нахождением этих катионов в узлах решетки цеолита. В работе [32], отмечено, что ионы металлов, компенсирующие отрицательный заряд каркаса цеолита, могут вызывать комплексобразование, в то время как в случае dealюминированных цеолитов преобладает гидрофобное взаимодействие.

На MOR проводили разделение нормальных спиртов вплоть до *n*-амилового спирта, тогда как на более полярном 10X было получено только разделение метанола, этанола и 2-пропанола [18]. Цеолит MOR наиболее полярный среди всех цеолитов, изученных в работах [35-38], поэтому для него не наблюдали адсорбции

неполярных полимеров ПЭ и ПП ни в одном из изученных элюентов (табл. 3). ПЭ и ПП имеют повышенное сродство к неполярным фазам ZSM-5, силикалиту и Beta. Авторы предполагали, что ПЭ и ПП цепочки частично проникают в поры и удерживаются благодаря дисперсионным взаимодействиям со стенками цеолита. Однако соотношение Si/Al не определяет адсорбцию полимеров, большую роль играет полярность элюента.

Влияние состава подвижной фазы на удерживание. ПЭ лучше адсорбируется из декалина на более полярном цеолите ZSM-5, чем на силикалите. Однако с увеличением полярности элюента адсорбция ПЭ на ZSM-5 уменьшается [35-38]. Удерживание *n*-алканов на ZSM-5 возрастает с увеличением полярности ПФ: *n*-гексан < ацетон < ацетонитрил < пропанол < этанол < метанол, что связано с падением сродства неполярных адсорбатов к полярной ПФ [27]. При использовании смеси бензола, циклогексана и этилацетата в качестве элюентов на MOR проводили селективное разделение смеси спиртов [18].

Высокая полярность метанола способствовала его сильной элюирующей способности по отношению к цеолиту 13X и возможности элюирования воды [25, 26] (рис. 2,Г). Соответственно, менее полярные по сравнению с метанолом соединения (табл. 2) не удерживались на сорбенте. Полярные апротонные ацетонитрил, *N,N*-диметилформамид (ДМФА), диметилсульфоксид (ДМСО), нитрометан не способны образовывать межмолекулярные водородные или ионные связи также слабо удерживаются на цеолите 13X (табл. 2). Сильная адсорбция воды и высокая элюирующая способность метанола объясняются образованием ионных или водородных связей между ОН-группами и катионами в цеолитах. Энергия водородной связи составляет 20-160 кДж/моль, а энергия ионной связи ~ 300-

Таблица 3. Применение цеолитов в ВЭЖХ
 Table 3. Application of zeolites in HPLC

Сорбаты	Сорбент	Подвижная фаза	Лит-ра
Алканы (C ₅ -C ₇), ксилолы, бензол, ацетонитрил, вода, нитрометан, 1,4-диоксан, ДМСО, ДМФА, хлористый метилен, спирты (C ₂ , C ₃), кетоны (C ₃ , C ₄)	13X	Метанол	[25, 26]
<i>n</i> -алканы	Na-USY, ZSM-5, силикалит, Beta, ZSM-22	ацетонитрил, ацетон, гексан, изооктан, спирты (C ₁ -C ₃)	[27]
<i>орто</i> - и <i>пара</i> -ксилолы	ZSM-5	декалин	[24]
Хлоралкены, алкилфенолы, фенолы, хлорфенолы, кетоны, непредельные спирты, нитрилы,	силикалит	Ацетонитрил-вода, метанол – вода (95:5)	[29]
Алкилбензолы, динитробензальдегиды, ди-хлор- и динитробензолы; динитро-, хлор- и гидрокситолуолы; хлор- и нитрофенолы, хлор- и нитроанилины	EUO, TON, BEA	Гептан-этанол	[31]
Моно-, ди- и трисахариды; изомальтит, сорбит, ангидриды сахаридов, диангидриды дисахаридов	13X, 10X, Y, MOR, DAY	Вода	[32]
ПЭ, ПП изотактический	ZSM-5, силикалит, CP814E, CBV-780	Спирты; алкилбензолы; хлорбензолы; сложные эфиры уксусной к-ты; циклические кетоны; циклоалканы; хлор-алканы и алкены; дифениловый эфир; декалин; тетралин	[35-38]
Ацетофенон, алканола (C ₁ -C ₅), анилин, фенол, ди- и тринитробензойная к-ты	5A, 10X, MOR	ТГФ, гексан, бензол, циклогексан, этилацетат	[18]
NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , Cl ⁻	MOR	10 mM H ₂ SO ₄	[19]
Лекарственные препараты в биологических жидкостях	силикалит	0.02 M NaH ₂ PO ₄ (pH 6.9) с градиентом ацетонитрила	[30]

700 кДж/моль, поэтому образование ионных связей является предпочтительным [39].

Влияние температуры. Температура колонки часто используется для повышения эффективности и изменения селективности разделения. Так, повышение температуры привело к улучшению разделения сахаров на цеолитах DAY и MOR при уменьшении времен удерживания. Оптимальное разделение получено при 80°C (рис. 2,В). Ускорение диффузии в микропорах приводит к увеличению эффективности колонок. Однако, срок

службы хроматографических колонок при высоких температурах ограничен термической стабильностью цеолитов в горячей воде [32]. Увеличение температуры колонки от комнатной до 60°C для фожазита 13X не влияет на удерживание воды в метаноле [25, 26]. Разделение ПЭ и ПП проводили при повышенной температуре 135-145°C из-за низкой растворимости ПЭ и ПП в большинстве используемых растворителей [35-38].

Эффективность. Для цеолитов характерны невысокие значения эффективности из-за медленной диффузии в НФ. Так,

число теоретических тарелок (ЧТТ) для 10 см колонки, заполненной силикалитом с размером частиц 5-20 мкм, не превышает 1000 теоретических тарелок (10000 тт/м) [29]. Для цеолита 13X значение ЧТТ для бензола в изооктане составило 3200 тт/м, а для воды значительно ниже – 1500 тт/м (рис. 2,Д). Авторы связывают низкие значения эффективности с медленной диффузией кнудсеновского типа для небольших молекул внутрь пор цеолита [25, 26].

Для описанных выше пелликулярных сорбентов Pellisieve скорость массообмена выше, поскольку толщина пористого слоя цеолита составляет 2-4 мкм, что приводит к пологому наклону кривой ван Де-Эмтера при высоких скоростях потока ПФ и обеспечивает быстрое разделение при относительно небольшом снижении эффективности колонны (рис. 2,Б). Минимальное значение ВЭТТ составляет 0.2 мм при скорости ПФ 0.2 см/сек, что соответствует 5000 тт/м для сорбентов размером 30-44 мкм [18].

Заключение

В обзоре рассмотрены адсорбционные свойства и применение цеолитов в ВЭЖХ. Соотношение Si/Al оказывает влияние на полярность цеолита, катионный состав влияет на эффективный размер пор и адсорбционные свойства, размер пор позволяет использовать молекулярно-ситовой эффект. Изменив один или несколько параметров, можно подобрать сорбент, чувствительный к определенному классу сорбатов, что имеет

огромное практическое значение. Однако свойства, которые делают цеолиты чрезвычайно полезными в ВЭЖХ, использованы не в полной мере. Ограниченность применения цеолитов в ВЭЖХ связана со сложным характером взаимодействия молекул адсорбатов и адсорбентов между собой и друг с другом. В жидкой фазе возникает конкурентная сорбция, при этом изменяются термодинамические параметры взаимодействия веществ с цеолитом. В такой ситуации молекулы растворителя также могут адсорбироваться на поверхности, из-за чего возникает конкуренция между адсорбатами и растворителем за адсорбционные центры цеолита. Сольватация растворителем адсорбента также влияет на эффективный размер пор сорбента и затрудняет диффузию разделяемых соединений в поры сорбента. В целом, цеолиты являются перспективными сорбентами и представляют отличную альтернативу металлоорганическим каркасам и ковалентным органическим каркасам для использования в ВЭЖХ, однако необходимы дальнейшее изучение механизма адсорбции соединений на современных цеолитах. Отсутствуют работы в области изучения и использования кинетической селективности цеолитов в жидкостной хроматографии [41].

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. Blay V., Bobadilla L.F., Cabrera-Garcia A. *Zeolites and Metal-Organic Frameworks*. University Press, Amsterdam, 2018, 342 p.
2. Jiang N., Shang R., Heijman S.G.J., Rietveld L.C. Adsorption of triclosan, trichlorophenol and phenol by high-silica zeolites: Adsorption efficiencies and mechanisms. *Sep. Purif. Technol.* 2020; 235: 116152-116195.

3. Jiang N., Shang R., Heijman S.G.J., Rietveld L.C. High-silica zeolites for adsorption of organic micro-pollutants in water treatment: A review. *Water Res.* 2018; 144: 145-161.

4. Velarde L., Nabavi M. S., Escalera E., Anti M.-L., Akhtar F. Adsorption of heavy metals on natural zeolites: A review. *Chemosphere.* 2023; 328: 138508-123523.

5. Shaikhutdinov I.K., Ryazanova T.K., Limareva L.V., Sokolov A.V. Application of Metal-Organic Frameworks to High-



- Performance Liquid Chromatography. *J. Anal. Chem.* 2023; 78: 1-17.
6. Wang Z., Zhang S., Chen Y., Zhang Z., Ma S. Covalent organic frameworks for separation applications. *Chem. Soc. Rev.* 2020; 49: 708-735.
7. Pérez-Botella E., Valencia S., Rey F. Zeolites in Adsorption Processes: State of the Art and Future Prospects. *Chem. Rev.* 2022; 122: 17647-17695.
8. Loewenstein W., Lowenstein M., São P. The distribution of aluminum in the tetrahedra of silicates and aluminates. *Am. Mineral.* 1954; 39: 92-96.
9. Weitkamp J. Zeolites and catalysis. *Solid State Ion.* 2000; 131: 175-188.
10. Baerlocher C., McCusker L. Database of Zeolite Structures. Available at: <http://www.iza-structure.org/databases/> (accessed 09 May 2023).
11. Moshoeshe M., Nadiye-Tabbiruka M.S., Obuseng V. A Review of the Chemistry, Structure, Properties and Applications of Zeolites. *Am. J. Sci.* 2017; 7: 196-221.
12. Grün M., Kurganov A.A., Schacht S., Schüth F., Unger K.K. Comparison of an ordered mesoporous aluminosilicate, silica, alumina, titania and zirconia in normal-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1996; 740: 1-9.
13. Karpov S.I., Roessner F., Selemenev V.F., Gul'bin S.S., Belanova N.A., Borodina E.V., Korabel'nikova E.O., Krizhanovskaya O.O., Nedosekina I.V. Perspektivy sinteza i ispol'zovaniya uporyadochennykh mezoporistykh materialov pri sorbtsionno-hromatograficheskom analize, razdelenii i koncentrirovanii fiziologicheskii aktivnykh veshchestv (obzor). *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy.* 2013; 13(2): 125-140. (In Russ.)
14. Flanigen E.M., Broach R.W., Wilson S.T., Kulprathipanja S. *Zeolites in Industrial Separation and Catalysis.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2010: 1-26.
15. Traa Y., Sealy S., Weitkamp J. Characterization of the pore size of molecular sieves using molecular probes, Characterization II. Molecular Sieves. Springer Berlin, Heidelberg, 2006; 5: 103-154.
16. Townsend R.P., Coker E.N. Chapter 11 Ion exchange in zeolites. *Stud. Surf. Sci. Catal.* Elsevier, 2001; 137: 467-524.
17. Dyer A. Chapter 16 Ion-exchange properties of zeolites and related materials. *Stud. Surf. Sci. Catal.* Elsevier, 2007; 168: 525-553.
18. McNair H.M., Chandler C.D. Molecular Sieves as Pellicular Films for Liquid Chromatography. *Anal. Chem.* 1973; 45: 1117-1120.
19. Glöd B. K., Perez G., Tomlinson A.A.G. Use of mordenite columns in ion-exclusion chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1997; 760: 292-294.
20. Peristy A., Nesterenko P.N., Das A., D'Alessandro D.M., Hilder E.F., Arrua R.D. Flow-dependent separation selectivity for organic molecules on metal-organic frameworks containing adsorbents. *ChemComm.* 2016; 52: 5301-5304.
21. Arrua R. D., Peristy A., Nesterenko P.N., Das A., D'Alessandro D.M., Hilder E.F. UiO-66@ SiO₂ core-shell microparticles as stationary phases for the separation of small organic molecules. *Analyst.* 2017; 142: 517-524.
22. Lanin S. N., Ledenkova M.Y., Nikitin Yu.S. Influence of the concentration of adsorbate and modifier in the mobile phase on retention in high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1998; 797: 3-9.
23. Roque-Malherbe R.M.A. *Adsorption and Diffusion in Nanoporous Materials.* 2nd edition. CRC Press, Boca Raton, 2018, 318 p.
24. Kurganov A., Marme St., Unger K. Effect of size of solvent molecule on the adsorption of p- and o-xylene on ZSM-5 type zeolites and mechanism of adsorption. *Stud. Surf. Sci. Catal.* 1994; 84: 1299-1306.
25. Luzanova V. D., Rozhmanova N.B., Volgin Y.V., Nesterenko P.N. The use of zeolite 13X as a stationary phase for direct determination of water in organic solvents by high-performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta.* 2023; 1239: 340697-340705.
26. Luzanova V.D., Rozhmanova N.B., Nesterenko P.N. Primenenie ul'tramikroporistykh sorbentov v vysokoeffektivnoy zhidkostnoy hromatografii. «Sovremen-nye aspekty himii», Sbornik materialov IX molodezhnoy konferencii, 2-4 iyunya, 2022 g., Perm', 67-71. (In Russ.)
27. Denayer J. F.M., van der Beken S., De Meyer K.M.A., Martens J.A, Baron G.V. Chromatographic liquid phase separation of n-alkane mixtures using zeolites. *Stud. Surf. Sci. Catal.* Elsevier, 2004; 154: 1944-1949.



28. Denayer J.F., Ocaoglu A.R., Huybrechts W., Martens J.A., Thybaut J.W., Marin G.B., Baron G.V. Pore mouth versus intracrystalline adsorption of isoalkanes on ZSM-22 and ZSM-23 zeolites under vapour and liquid phase conditions. *ChemComm*. 2003; 3: 1880-1881.
29. Dumont P.J., Fritz J.S. Silicalite as a Stationary Phase for HPLC. *J. High Resol. Chromatogr.* 1996; 19: 691-695.
30. Ambrose D. L., Fritz J.S. High-performance liquid chromatographic determination of drugs and metabolites in human serum and urine using direct injection and a unique molecular sieve. *J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.* 1998; 709: 89-96.
31. Dyer A., Emms T.I. Liquid phase separations of organic isomers on high silica zeolites. *Microporous Mesoporous Mater.* 2007; 104: 137-144.
32. Wach W., Fornefett I., Buttersack C., Buchholz K. Adsorption and HPLC of carbohydrates and related hydroxy compounds on zeolites. *Anal. Methods*. 2018; 10: 1817-1832.
33. Wach W., Buttersack C., Buchholz K. Chromatography of mono- and disaccharides on granulated pellets of hydrophobic zeolites. *J. Chromatogr. A* 2018; 1576: 101-112.
34. Wach W., Fornefett I., Buttersack C., Buchholz K. Chromatographic separation of saccharide mixtures on zeolites. *Food Bioprod. Process.* 2019; 114: 286-297.
35. Macko T., Pasch H., Denayer J.F. Adsorption of polyethylene standards from decalin on liquid chromatography column packings. *J. Chromatogr. A*. 2003; 1002: 55-62.
36. Macko T., Denayer J.F., Pasch H., Baron G.V. Adsorption of polyethylene from thermodynamically good solvents on a zeolite stationary phase. *J. Sep. Sci.* 2003; 26: 1569-1574.
37. Macko T., Denayer J.F., Pasch H., Pan L., Li J., Raphael A. Adsorption of Polypropylene and Polyethylene on Liquid Chromatographic Column Packings. *Chromatographia*. 2004; 59: 461-467.
38. Macko T., Pasch H., Denayer J.F. Adsorption of polypropylene from dilute solutions on a zeolite column packing. *J. Sep. Sci.* 2005; 28: 59-64.
39. Geodakyan K.T., Kiselev A.V., Lygin V.I. Infekrasnye spektry metanola i acetona, adsorbiruyemykh na kationirovannykh i dekatationirovannykh ceolitah. *ZHurn. fiz. himii*. 1967; 41(2): 457-464. (In Russ.)
40. Snyder L.R., Kirkland J.J. Introduction to Modern Liquid Chromatography. 2-d edition. John Wiley & Sons Inc., New York, 1979, 863 p.
41. Nestepenko P.N. Kineticheski selektivnaya hromatografiya. *Laboratoriya i proizvodstvo*. 2022; 1-2: 92-100.

Информация об авторах / Information about the authors

В.Д. Лузанова – студент, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Н.Б. Рожманова – к.х.н., химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

С.Н. Ланин – д.х.н., профессор, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

П.Н. Нестеренко – д.х.н., профессор, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

V.D. Luzanova – student, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: viktorialuzanova.1998@gmail.com

N.B. Rozhmanova – PhD in Chemistry, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: nb.rozhmanova@mail.ru

S.N. Lanin – prof., grand PhD in Chemistry, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: silica2012@gmail.com

P.N. Nesterenko – prof., grand PhD in Chemistry, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: p.nesterenko@phys.chem.msu.ru

Статья поступила в редакцию 10.05.2023; одобрена после рецензирования 24.07.2023; принята к публикации 02.08.2023.

The article was submitted 10.05.2023; approved after reviewing 24.07.2023; accepted for publication 02.08.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 547.831.3:543.51:543.54

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11577

Получение индивидуальных производных в ряду 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов методом колоночной хроматографии и их масс-спектрометрическое исследование

Светлана Михайловна Медведева¹✉,

Алексей Владимирович Мовчан¹, Ксения Алексеевна Бондаренко¹,

Ксения Джамильевна Шихалиева², Хидмет Сафарович Шихалиев¹

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, SMMedvedeva@rambler.ru ✉

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Аннотация. Среди трициклических гидрохинолинов известны сотни высокоэффективных соединений, обладающих комплексом практически полезных свойств. В связи с этим является актуальным получение в этом ряду новых соединений высокой степени чистоты и выявление особенностей их поведения под действием электронного удара для установления их структур.

Ранее нами были синтезированы 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолин-1,3-дионы и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионы, но характер масс-спектрального распада при установлении их структур не обсуждался. В данной работе с помощью тонкослойной хроматографии показано, что в процессе синтеза этих соединений могут образовываться побочные продукты, для очистки от которых методом колоночной хроматографии подобраны условия.

Были обнаружены принципиальные различия в устойчивости исследуемых изомерных соединений под действием электронного удара и характере фрагментации их молекулярных ионов. К действию электронного удара более устойчивы 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолины, интенсивности пиков их молекулярных ион-радикалов ($[M]^+$) намного выше, чем пиков 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов, при этом гидрохинолиновый фрагмент намного устойчивее и 1,3-оксазинового и 1,4-оксазинового циклов. Присутствие кратной связи в гидропиридиновом цикле соединений понижает интенсивность пика $[M]^+$. Для соединений содержащих *гем*-диметильные группы при α -углеродном (относительно атома азота) атоме интенсивность пика $[M]^+$ минимальна, что обусловлено лёгкостью отщепления от него метильного радикала, особенно если это приводит к ароматизации хинолинового фрагмента. Дефрагментация оксазинового цикла 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов начинается с элиминирования молекулы диоксида углерода, а 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов – с отщепления молекулы монооксида углерода.

Обнаруженные закономерности распада (ЭУ) можно использовать для идентификации аналогичных производных конденсированных 1,3- и 1,4-оксазинов и трициклических гидрохинолинов аннелированных по связям *i* и *j*.

Ключевые слова: колоночная хроматография, трициклический гидрохинолин, 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолин-1,3-дион, 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дион, масс-спектрометрия, электронный удар, дефрагментация.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2022-2024 годы, проект № FZGU-2022-0003.

Для цитирования: Медведева С.М., Мовчан А.В., Бондаренко К.А., Шихалиева К.Д., Шихалиев Х.С. Получение индивидуальных производных в ряду 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов методом колоночной хроматографии и их масс-спектрометрическое исследование // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 705-715. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11577>



Original article

Preparation of individual derivatives in 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines series by column chromatography and their mass spectrometric study

Svetlana M. Medvedeva¹✉, Alexey V. Movchan¹, Ksenia A. Bondarenko¹,
Ksenia Dz. Shikhalieva², Khidmet S. Shikhaliev¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, SMMedvedeva@rambler.ru✉

²Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

Abstract. Hundreds of highly effective compounds that have a complex of practically useful properties are known among tricyclic hydroquinolines. Therefore, the production of new compounds of high purity in this series and identification of the features of their behaviour under the influence of electron impact for the determination of their structures is important.

Previously, we synthesized 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinoline-1,3-diones and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3-diones, but the nature of the mass spectral decay for the determination of their structures was not discussed. In this study, using thin-layer chromatography, it was shown that during the synthesis of these compounds by-products can be formed, for which conditions for purification using column chromatography were selected.

Fundamental differences were discovered in the stability of the studied isomeric compounds under the influence of electron impact and in the nature of fragmentation of their molecular ions. 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines were more resistant to electronic impact, the peak intensities of their molecular radical ions ($[M]^+\bullet$) were much higher than those of 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines, while the hydroquinoline fragment was much more stable than both the 1,3-oxazine and 1,4-oxazine rings. The presence of a multiple bond in the hydroxyridine ring of the compounds reduced the intensity of the $[M]^+\bullet$ peak. For compounds containing *heme*-dimethyl groups at the α -carbon (relative to the nitrogen atom) atom, the intensity of the $[M]^+\bullet$ peak was minimal due to the ease of elimination of the methyl radical from it, especially if this led to aromatization of the quinoline fragment. Defragmentation of the oxazine cycle of 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines starts with the elimination of a carbon dioxide molecule, and defragmentation of 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines starts from elimination carbon monoxide molecules.

The discovered patterns of decomposition (EI) can be used to identify similar derivatives of condensed 1,3- and 1,4-oxazines and tricyclic hydroquinolines annealed at the *i* and *j* bonds.

Keywords: column chromatography, tricyclic hydroquinoline, 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinoline-1,3-dione, 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3-dione, mass spectrometry, electron impact, defragmentation.

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 2022-2024, project No. FZGU-2022-0003.

For citation: Medvedeva S.M., Movchan A.V., Bondarenko K.A., Shikhalieva K.D., Shikhaliev Kh.S. Preparation of individual derivatives in 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines series by column chromatography and their mass spectrometric study. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 705-715. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11577>

Введение

Структуры трициклических хинолинов, в которых фрагмент частично гидрированного хинолина аннелирован по различным положениям с пяти- или шестичленными кислородсодержащими гетероциклами лежат в основе многих природных соединений, относящихся к ряду хинолиновых алкалоидов, большинство

из которых обладают биологической активностью [1, 2]. Среди синтетических трициклических гидрохинолинов также известны сотни высокоэффективных биологически активных соединений, как лекарственных препаратов для борьбы с различными патологическими состояниями человека, так и пестицидов [1, 2] и постоянно ведется поиск новых [3-11]. В частности, особый интерес представляют соединения, в которых гидрохиноли-

новый фрагмент аннелирован по связям i и j с циклом оксазина [12-19]. При этом различные виды биологической активности проявляют частично гидрированные 1,3- и 1,4-оксазинохинолины. Замещенные 1,4-оксазино[2,3,4- ij]хинолины используются в медицине как эффективные бактерицидные агенты (офлоксацин и его аналоги) [14-16]. Некоторые производные этих соединений можно использовать для снижения воспалительной активности и невропатических болей [17]. 1,3-Оксазино[5,4,3- ij]хинолины также проявляют антибактериальную активность [18,19]. Следует также отметить, что некоторые полиазагетероциклы применяются в качестве добавок в процессах электрохимического меднения [20,21]. В связи с этим является актуальным получение новых полигетероциклических соединений высокой степени чистоты, в которых гидрохинолиновый фрагмент аннелирован с циклом 1,3-оксазина или его изомера – 1,4-оксазина, и установление структуры полученных соединений современными физико-химическими методами анализа.

Целью данной работы является получение различных 1,3-оксазино[5,4,3- ij]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4- ij]хинолинов высокой степени чистоты и исследование масс-спектрометрического (ЭУ) поведения этих структур.

Теоретическая часть

Известно, что при окислении замещенных изатинов **1** *m*-хлорнадбензойной кислотой (МСРВА) могут быть получены 1,3-оксазин-2,4-дионы (изатовые ангидриды) **2** [22-24], а при наличии в ароматическом цикле изатина электронодонорных заместителей – 1,4-оксазин-2,3-дионы **3** [25,26] (Схема 1). Ранее нами [27] в результате окислительной трансформации трициклического аналога изатина – 5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1- ij]хинолин-1,2-диона **4** под действием надкислот были

синтезированы 6,7-дигидро-1*H*,5*H*-[1,3]оксазино[5,4,3- ij]хинолин-1,3-дион **5** и его изомер – 6,7-дигидро-1*H*,5*H*-[1,4]оксазино[2,3,4- ij]хинолин-2,3-дион **6** (Схема 1). Структуры полученных продуктов были установлены с помощью совокупности данных ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C спектроскопии и масс-спектрометрии, причем, именно принципиальные различия в характере фрагментации молекулярных ионов исследуемых изомерных соединений позволили однозначно приписать им структуры **5** и **6**.

Недавно нами [28] было проведено окисление 4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1- ij]хинолин-1,2-дионон **7a-e** и их гидрированных аналогов 4,4,6-триметил-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1- ij]хинолин-1,2-дионон **8a-f** *m*-хлорнадбензойной кислотой (Схема 2). Окисление всех пирролохинолиндионон **7** и **8**, не взирая на присутствие и электронную природу заместителя в ароматической части, наличие кратной связи или объемной фенильной группы в гетероциклическом фрагменте, привело к 5,5,7-триметил-1*H*,5*H*-[1,3]оксазино[5,4,3- ij]хинолин-1,3-дионам **9a-e** и 5,5,7-триметил-6,7-дигидро-1*H*,5*H*-[1,3]оксазино[5,4,3- ij]хинолин-1,3-дионам **10a-f**, соответственно. Получить 1,4-оксазино[2,3,4- ij]хинолин-2,3-дионы **11** и **12** окислением надкислотами не удалось. Аннелирование 1,4-оксазинового фрагмента к системе гидрохинолина было осуществлено нами ранее при реакции 8-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина **7f** и 8-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2,3,4-тетрагидрохинолина **8g** с оксалилхлоридом при кипячении в абсолютном толуоле [29]. В результате были получены 5,5,7-триметил-5*H*-[1,4]оксазино[2,3,4- ij]хинолин-2,3-дион **11a** и 5,5,7-триметил-6,7-дигидро-5*H*-[1,4]оксазино[2,3,4- ij]хинолин-2,3-дион **12a**, соответственно (Схема 2).

При этом для решения проблемы доказательств структуры продуктов реакции, помимо спектров ЯМР нами приводились некоторые данные масс-спектральных

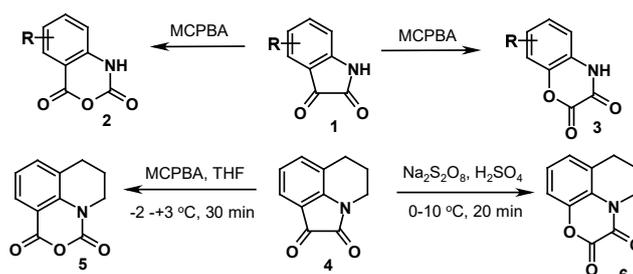
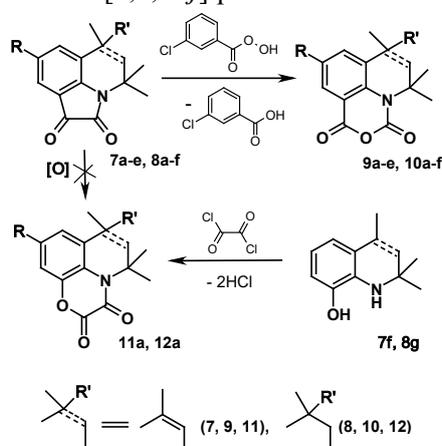


Схема 1. Окисление замещенных изатинов **1** до 1,3-оксазинов **2** и 1,4-оксазинов **3** и пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона **4** - до 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **6**.

Scheme 1. Oxidation of substituted isatins **1** into 1,3-oxazines **2** and 1,4-oxazines **3** and pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-dione **4** into 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines **5** and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines **6**.



7-12 R'=H: R=H(a), Me(b), MeO(c), Et(d), F(e);
 8, 10, 12 R'=Ph, R=Me(f)

Схема 2. Синтез замещенных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **9a-e**, **10a-f** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **11a**, **12a**.

Scheme 2. Synthesis of substituted 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines **9a-e**, **10a-f** and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines **11a**, **12a**.

характеристик. Поскольку наши исследования имели чисто синтетическую направленность, характер масс-спектрального распада не обсуждался. В тоже время, для точного установления структуры полученных изомерных соединений, наиболее информативным является использование масс-спектрометрического метода. В данной работе проведена очистка синтезированных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5**, **9a-e**, **10a-f** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **6**, **11a**, **12a**, методом колоночной хроматографии и выявлены основные отличительные особенности в их поведении под дей-

ствием электронного удара и возможности использования масс-спектрометрии при установлении их строения.

Экспериментальная часть

Синтез 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5**, **9**, **10** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **6**, **11a**, **12a**, был проведен по ранее разработанным нами методикам [25-27]. Контроль за индивидуальностью и чистотой полученных веществ осуществлялся методом тонкослойной хроматографии (далее ТСХ) на пластинках Merck TLC Silica gel 60 F254 (254 – subscript). В качестве элюента использовалась смесь хлороформ-этилацетат в соотношении 10:1, детектирование – облучение УФ лучами



с длиной волны 240 нм. Для проведения колоночной хроматографии использовали колонку длиной 40 см, диаметром – 1.5 см, заполнение колонки влажным способом (сорбент – силикагель 60, 40-63 мкм (Panreac)).

Навеску 2 г сырых 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5**, **9a-e**, **10a-f** растворяли при нагревании в 10 мл хлороформа, охлаждали, вводили полученный раствор в колонку и элюировали четыреххлористым углеродом. Элюат собирали фракциями по 20 мл, с помощью ТСХ, определяли присутствие и индивидуальность веществ. Фракции с №7 по №13 включительно объединяли, концентрировали с помощью роторного испарителя, выпавшие после охлаждения осадки отфильтровывали с использованием водоструйного вакуумного насоса (15 мм.рт.ст.) и фильтрующей воронки ВФ-1-20 с пористостью 40.

Очистку сырых 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **6**, **11a**, **12a** проводили аналогично, только в качестве элюента использовали хлороформ, объединяли фракции с №5 по №10. Массы соединений **5**, **9a-e**, **10a-f**, **6**, **11a**, **12a** после очистки их 2 г навесок приведены в таблице 1.

Масс-спектры регистрировали на приборе Finnigan MAT Incos 50 при непосредственном введении образца в источник ионов при 100-150 °С, ионизации ЭУ и ускоряющем напряжении 70 эВ.

Обсуждение результатов

По данным тонкослойной хроматографии установлено, что полученные сырые 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолины **5**, **9a-e**, **10a-f** содержат примеси побочно образующейся в процессе окисления *m*-хлорбензойной кислоты, а 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолины **6**, **11a**, **12a** – нерастворимые смолы, образующиеся в результате разложения цикла гидрохинолина в кислой среде. При этом все соединения проявлялись в виде неокрашенных пятен с близкими значениями R_f (для соединений **5**, **9**,

10 - $R_f=0.45-0.58$ и для соединений **6**, **11a**, **12a** - $R_f=0.44-0.53$, Таблица 1), что не позволяет их идентифицировать.

Установлено, что методом колоночной хроматографии очистку соединений **5**, **9**, **10** от *m*-хлорбензойной кислоты эффективно проводить, используя в качестве элюента четыреххлористый углерод, пропуская его со скоростью 2 см³/мин, оптимальным элюентом для выделения индивидуальных соединений **6**, **11a**, **12a** является хлороформ, скорость пропускания 2 см³/мин.

Структуры продуктов **5**, **9a-e**, **10a-f** и их изомеров **6**, **11a**, **12a** однозначно доказываются с помощью метода масс-спектрометрии под действием электронного удара. Поскольку первичные катион-радикалы в момент своего возникновения сохраняют структуру исходной молекулы, то она и предопределяет устойчивость молекулярных ионов и интенсивности соответствующих им пиков в масс-спектрах (таблица 1). Обнаружены принципиальные различия в устойчивости исследуемых соединений **5**, **9a-e**, **10a-f** и **6**, **11a**, **12a** под действием электронного удара и характере фрагментации их молекулярных ионов.

Масс-спектрометрическое исследование этих соединений показало, что гидрохинолиновый фрагмент намного устойчивее и 1,3-оксазинового и 1,4-оксазинового циклов. При этом более устойчивую структуру имеет 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин **6**, интенсивность пика молекулярного иона которого (82%) намного выше интенсивности 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолина **5** (27%). Распад последнего (схема 3) начинается с элиминирования молекулы диоксида углерода и образования основного (интенсивность 100%) катион-радикала азето[3,2,1-*ij*]хинолин-1-она **5'**, который далее теряет формильный радикал и превращается в достаточно устойчивый катион азирено[2,3,1-*ij*]хинолина **5''**, фрагментация которого нами уже описывалась ранее [30]. Из изомера **6** (схема 3) основной катион-радикал 1,3-

Таблица 1. Характеристики соединений **5**, **6**, **9a-e**, **10a-f**, **11a**, **12a**
 Table 1. Characteristics of compounds **5**, **6**, **9a-e**, **10a-f**, **11a**, **12a**

№	R _f	Масса, г.	m/z (%)
5	0.48	1.23	203 ([M] ⁺⁺ (27)), 159 ([M-CO ₂] (100)), 130 ([M-CO ₂ -HCO] (28))
6	0.42	1.86	203 ([M] ⁺⁺ (82), 175 ([M-CO] (100), 147 ([M-CO-CO] (10), 130 ([M-CO-CO-OH] (36))
10a	0.51	1.44	245 ([M] ⁺⁺ (19)), 201 ([M-CO ₂] (50)), 186 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 158 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (13))
10b	0.54	1.62	259 ([M] ⁺⁺ (19)), 215 ([M-CO ₂] (50)), 200 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 172 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (10))
10c	0.45	1.59	275 ([M] ⁺⁺ (21)), 231 ([M-CO ₂] (17)), 216 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 188 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (8))
10d	0.52	1.56	273 ([M] ⁺⁺ (15)), 229 ([M-CO ₂] (15)), 214 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 186 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (8))
10e	0.55	1.65	263 ([M] ⁺⁺ (15)), 219 ([M-CO ₂] (16)), 204 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 176 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (11))
10f	0.50	1.54	321 ([M] ⁺⁺ (18)), 277 ([M-CO ₂] (8)), 262 ([M-CO ₂ -CH ₃] (100)), 234 ([M-CO ₂ -CH ₃ -CO] (5))
9a	0.55	1.51	243 ([M] ⁺⁺ (10)), 228 ([M-CH ₃] (5)), 184 ([M-CH ₃ -CO ₂] (100)), 156 ([M-CH ₃ -CO ₂ -CO] (9))
9b	0.58	1.68	257 ([M] ⁺⁺ (5)), 242 ([M-CH ₃] (4)), 198 ([M-CH ₃ -CO ₂] (100)), 154 ([M-CH ₃ -CO ₂ -CO] (5))
9c	0.51	1.73	273 ([M] ⁺⁺ (11)), 229 ([M-CH ₃] (14)), 214 ([M-CH ₃ -CO ₂] (100)), 186 ([M-CH ₃ -CO ₂ -CO] (10))
9d	0.56	1.62	271 ([M] ⁺⁺ (10)), 227 ([M-CH ₃] (34)), 212 ([M-CH ₃ -CO ₂] (100)), 184 ([M-CH ₃ -CO ₂ -CO] (6))
9f	0.53	1.70	261 ([M] ⁺⁺ (5)), 246 ([M-CH ₃] (5)), 202 ([M-CH ₃ -CO ₂] (100)), 174 ([M-CH ₃ -CO ₂ -CO] (7))
11a	0.44	1.83	243 ([M] ⁺⁺ (33), 228 [M-CH ₃] (82), 200 ([M-CH ₃ -CO] (100)), 156 ([M-CO ₂] (84))
12a	0.53	1.78	245 ([M] ⁺⁺ (64)), 217 ([M-CO] (34)), 202 ([M-CO-CH ₃] (100)), 190 ([M-CO-CH ₃ -C] (13)), 162 ([M-CO-CH ₃ -C-CO] (64)), 144 ([M-CO-CH ₃ -C-CO-H ₂ O] (24))

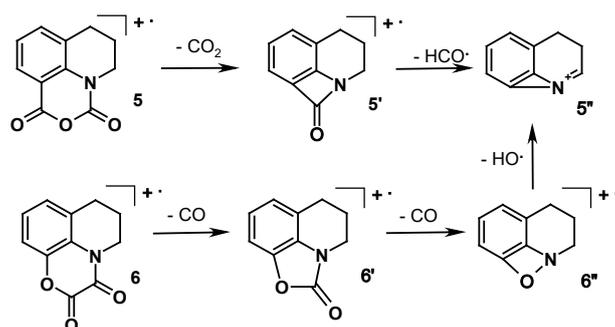


Схема 3. Распад 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолина **5** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолина **6**.
 Scheme 3. Decomposition of 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinoline **5** and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline **6**.

оксазоло[5,4,3-*ij*]хинолин-2-он **6'** получается за счет потери молекулы монооксида углерода, за которой следует элиминирование его второй молекулы и образование неустойчивого ион-радикала **6''**, последующее отщепление гидроксильного радикала приводит к катиону **5''**.

Сравнивая интенсивности пиков ион-радикалов молекулярных ионов в масс-спектрах незамещенного и замещенных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5** и **9a-e**, **10a-f**, соответственно, можно сделать вывод, что наличие и электронная природа заместителей в ароматическом цикле не

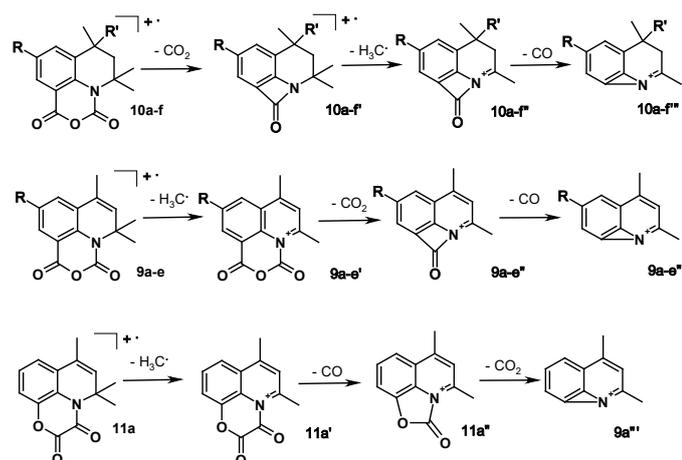


Схема 4. Распад замещенных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **10a-f**, **9a-e** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолина **11a**.

Scheme 4. Decomposition of substituted 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines **10a-f**, **9a-e** and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline **11a**.

влияют на устойчивость молекулярного ион-радикала, метильные и фенильная группы в гидропиридиновом цикле оказывают незначительное влияние, а наличие в нем кратной связи оказывает более сильное влияние (таблица 1). На первой стадии фрагментации замещенных 1,3-оксазинов с тетрагидрохинолиновым фрагментом **10a-f** (интенсивность пика $[M]^+\bullet$ 15-21%), также как и для незамещенного производного **5**, происходит отрыв молекулы диоксида углерода с образованием катион-радикалов **10a-f'**, стабильность которых уменьшается при наличии электроноакцепторных заместителей (атома фтора или фенильной группы) в положениях 9 и 7, соответственно (схема 4). Затем, в отличие от фрагментации соединения **5**, идет элиминирование метильного радикала из положения 2 и образование основных осколочных ионов **10a-f''** (интенсивность пика 100%). Отщепление последнего характерно для распада молекулярных ионов производных гидрохинолина с *gem*-диметильными группами во втором положении [31]. Только после этого отщепляется молекула монооксида углерода с образованием азиренохинолиновых ионов **10a-f'''** (с низкой интенсивностью), фрагментация которых протекает

по обычной для гидрохинолинов схеме [30,31].

Для 1,3-оксазинов с дигидрохинолиновым фрагментом **9a-e** интенсивность пика молекулярных ион-радикалов минимальна (5–11 %), что обусловлено лёгкостью отщепления метильного радикала на первой стадии фрагментации (схема 4) и образованием ароматических ионов **9a-e'** [31]. Дальнейший распад происходит с последовательной потерей молекулы диоксида углерода (основные осколочные ионы **9a-e''**, интенсивность пиков 100%) и монооксида углерода (ионы **9a-e'''**).

Аналогичным образом, с потери метильного радикала начинается распад 1,4-оксазина с дигидрохинолиновым фрагментом **11a** и завершается образованием катиона азиренохинолиния **9a'''** (схема 4). При этом следует отметить, что изомер **11a** более устойчив к действию электронного удара (интенсивность пика $[M]^+\bullet$ 33 %), основной осколочный ион **11a''** (интенсивность 100%) образуется при отщеплении от молекулярного ион-радикала метильного радикала и молекулы монооксида углерода.

Совершенно по-другому пути происходит образование азиренового иона **12a'''** из 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолина **12a** (схема 5). Основным направлением

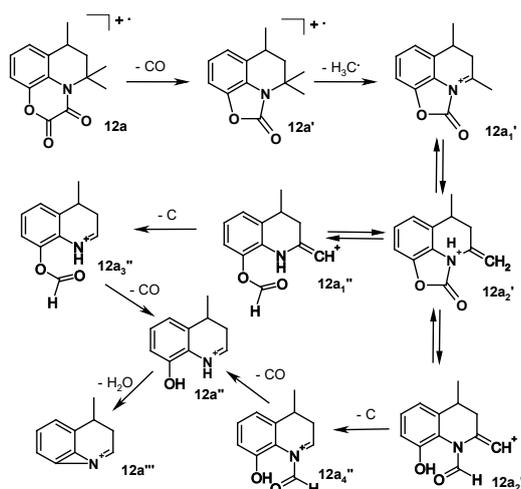


Схема 5. Распад замещенного 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолина **12a**.
 Scheme 5. Decomposition of substituted 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline **12a**.

диссоциативной ионизации является последовательное элиминирование от молекулярного ион-радикала молекулы монооксида углерода и метильного радикала с образованием основного иона **12a1'**. Дальнейший распад которого определяет образование осколочных ионов на шкале массовых чисел, отвечающих потере одного атома углерода. Очевидно, происходят изомеризация основного иона в катион **12a2'**, прототропный сдвиг с разрывом *C-N*- или *C-O*-связи и отщепление атома углерода катионом **12a1''** или **12a2''**. Затем от полученного катиона формил-производного **12a3''** или **12a4''** происходит элиминирование молекулы монооксида углерода с образованием гидрокси-замещенного катиона **12a''**, который теряет молекулу воды (схема 5).

Таким образом, к действию электронного удара более устойчивы 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолины **6**, **11a**, **12a**, интенсивности пиков их молекулярных ионов ($[M]^+\bullet$) намного выше, чем пиков $[M]^+\bullet$ 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **5**, **9a-e**, **10a-f**. Дефрагментация последних происходит с выбросом молекулы диоксида углерода и образованием осколочных ионов со структурой азето[3,2,1-*ij*]хинолин-1-она, распад 1,4-оксазинохинолинов происходит через образование осколочных ионов (имеющих структуру 1,3-

оксазоло[5,4,3-*ij*]хинолин-2-она) в результате отщепления молекулы монооксида углерода. Присутствие кратной связи в гидропиридиновом цикле в молекулах соединений **9**, **11a** понижает интенсивность пиков $[M]^+\bullet$. Для соединений **9-12** содержащих *гем*-диметильные группы при α -углеродном атоме интенсивность пика $[M]^+\bullet$ минимальна, что обусловлено лёгкостью отщепления метильного радикала от молекулярных ион-радикалов, особенно если это приводит к ароматизации хинолинового фрагмента.

Заключение

В настоящей работе подобраны условия для очистки полученных изомерных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов от (обнаруженных с помощью ТСХ) побочных примесей и нерастворимых смол методом колоночной хроматографии и выявлены основные закономерности их фрагментации под действием электронного удара. Из приведенных данных по масс-спектрам этих соединений, можно судить об их строении и устойчивости: 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолины более устойчивы, чем изомерные 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолины. Предположены основные схемы распада молекулярных ионов, по кото-



рым можно строго отличить 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолины (распад происходит с элиминированием молекулы диоксида углерода) и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолины (отщепляется молекула монооксида углерода). Обнаруженные закономерности распада этих соединений, можно использовать для идентификации аналогичных производных конденсиро-

ванных 1,3- и 1,4-оксазинов и трициклических гидрохинолинов аннелированных по связям *i* и *j*.

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. Karcev V.G. Hinoliny: himiya i biologicheskaya aktivnost'. M., ICSPF Press, 2007; 6: 744 p. (In Russ.)
 2. Sridharan V., Padmakar A., Suryavanshi P.A., Menendez J.C. Advances in the Chemistry of Tetrahydroquinolines. *Chem. Rev.* 2011; 111(9): 7157-7259.
 3. Kym, P.R., Kort, M.E., Coghlan, M.J., Moore, J.L., Tang, R., Ratajczyk, J.D., Larson, D.P., Elmore, S.W., Pratt, J.K., Stashko, M.A., Falls H.D., Lin, C.W., Nakane, M., Miller L., Tyree, C.M., Miner J.N., Jacobson P.B., Wilcox D.M., Nguyen P., Lane B.C. Nonsteroidal Selective Glucocorticoid Modulators: The Effect of C-10 Substitution on Receptor Selectivity and Functional Potency of 5-Allyl-2,5-dihydro-2,2,4-trimethyl-1H-[1]benzopyrano[3,4-*f*]quinolines. *J. Med. Chem.* 2003; 46(6): 1016-1030.
 4. Coghlan M.J., Kym P.R., Elmore S.W., Wang A.X., Luly J.R., Wilcox D., Stashko M., Lin Chun-Wei, Miner J., Tyree C., Nakane M., Jacobson P., Lane B.C. Synthesis and Characterization of Non-Steroidal Ligands for the Glucocorticoid Receptor: Selective Quinoline Derivatives with Prednisolone-Equivalent Functional Activity. *J. Med. Chem.* 2001; 44: 2879-2885.
 5. Edwards J.P., Zhi L., Pooley C.L.F., Tegley C.M., West S.J., Wang Ming-Wei, Gotardis M.M., Pathirana C., Schrader W.T., Jones T.K. Preparation, Resolution, and Biological Evaluation of 5-Aryl-1,2-dihydro-5H-chromeno[3,4-*f*]quinolines: Potent, Orally Active, Nonsteroidal Progesterone Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* 1998; 41(15): 2779-2785.
 6. Elmore S.W., Coghlan M.J., Anderson D.D., Pratt J.K., Green B.E., Wang A.X., Stashko M.A., Lin C.W., Tyree C.M., Miner J.N., Jacobson P.B., Wilcox D.M., Lane B.C. Nonsteroidal Selective Glucocorticoid Modulators: the Effect of C-5 Alkyl Substitution on the
- Transcriptional Activation/Repression Profile of 2,5-Dihydro-10-methoxy-2,2,4-trimethyl-1H-[1]benzopyrano[3,4-*f*]quinolines. *J. Med. Chem.* 2001; 44(25): 4481-4491.
7. Medvedeva S.M., Shikhaliev K.S. Synthesis of 4,5-Dihydro-1H-[1,2]dithiolo[3,4-*c*]quinoline-1-thione Derivatives and Their Application as Protein Kinase Inhibitors. *Molecules.* 2022; 27: 4033-4051.
 8. Kartsev V., Shikhaliev K.S., Geronikaki A., Medvedeva S.M., Ledenyova I.V., Krysin M.Y., Petrou A., Ciric A., Glamoclija J., Sokovic M. Appendix A. dithioloquinolinethiones as new potential multitargeted antibacterial and antifungal agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. *Eur. J. Med. Chem.* 2019; 175: 201-214.
 9. Medvedeva S.M., Shikhaliev K.S., Geronikaki A.A., Savosina P.I., Druzhilovskiy D.S., Poroikov V. V. Computer-aided discovery of pleiotropic effects: Anti-inflammatory action of dithioloquinolinethiones as a case study. *SAR QSAR Environ Res.* 2022; 33(4): 273-287.
 10. Tashchilova A., Podoplelova N., Sulimov A., Kutov D., Ilin I., Panteleev M., Shikhaliev K., Medvedeva S., Novichikhina N., Potapov A., Sulimov V. New Blood Coagulation Factor XIIa Inhibitors: Molecular Modeling, Synthesis, and Experimental Confirmation. *Molecules.* 2022; 27(4): 1234-1252.
 11. Sulimov A., Ilin I., Kutov D., Shikhaliev K., Shcherbakov D., Pyankov O., Stolpovskaya N., Medvedeva S., Sulimov V. New Chemicals Suppressing SARS-CoV-2 Replication in Cell Culture. *Molecules.* 2022; 27(17): 5732-5754.
 12. Heier R.F., Dolak L.A., Duncan J.N., Hyslop D.K., Lipton M.F., Martin I.J.; Mauragis M.A., Piercey M.F., Nichols N.F., Schreur P.J.K.D., Smith M.W., Moon M.W. Synthesis and Biological Activities of (R)-5,6-Dihydro-N,N-dimethyl-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-5-



- amine and Its Metabolites. *J. Med. Chem.* 1997; 40(5): 639-646.
13. Tsotinis A., Panoussopoulou M., Eleutheriades A., Davidson K., Sugden D. Design, synthesis and melatonergic activity of new unsubstituted and β , β' -difunctionalised 2,3-dihydro-1H-pyrrolo [3, 2, 1-ij]quinolin-6-alkanamides. *Eur. J. Med. Chem.* 2007; 42(7): 1004-1013.
14. Appelbaum P.C., Hunter P.A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2000; 16(1): 5-15.
15. Guruswamy B., Arul R., Chaitanya M.V.S.R.K., Praveen Kumar Darsi S.S. Design, Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Novel Tricyclic Benzoxazine Fluoroquinolones under Conventional and Microwave Methods. *J. Heterocyclic Chem.* 2014; 53(2): 532-538.
16. Jeyanthi M., Venkatraman B. R. A microwave assisted synthesis of few 7-mercaptobenzimidazolyl fluoroquinolones. *Der Pharma Chemica.* 2014; 6(1): 440-442.
17. Baraldi P.G., Saponaro G., Moorman A.R., Romagnoli R., Preti D., Baraldi S., Ruggiero E., Varani K., Targa M., Vincenzi F., Borea P.A., Tabrizi M.A. 7-Oxo-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxamides as Selective CB₂ Cannabinoid Receptor Ligands: Structural Investigations around a Novel Class of Full Agonists. *J. Med. Chem.* 201; 55(14): 6608-6623.
18. Bremm K.D., Endermann R., Hallenbach W., Himmler T., Jaetsch T., Mielke B., Pirro F., Stegemann M., Wetzstein H.G. PCT Int. Anm. WO 96/01829, 1996.
19. Amano H., Wakunaga S., Inoue S., Yakazaki A., Eur. Pat. Appl. EP0373531, 1990.
20. Zhou J. Li, G., Hong Y., Wang C., He W., Wang S., Chen Y., Wen Z., Wang Q. Copolymer of pyrrole and 1, 4-butanediol diglycidyl as an efficient additive leveler for through-hole copper electroplating. *ACS Omega.* 2020; 5(10): 4868-4874.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03691>
21. Yang S., Thacker Z., Allison E., Bennett M., Cole N., Pinhero P. Electrodeposition of copper for three-dimensional metamaterial fabrication. *ACS Applied Materials Interfaces.* 2017; 9(46): 40921-40929.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03691>
22. Bogdanov A.V., Sadykov T.I., Musin L.I., Hamatgalimov A.R., Krivolapov D.B., Dobrynin A.B., Mironov V.F. Hemoselektivnost' okisleniya 1-alkenilizatinov m-hlorperbenzoinoj kislotoj. Sintez novyh proizvodnyh izatovogo anhidrida. *ZHurnal obshchej himii.* 2015; 85(9): 2030-2036. (In Russ.)
23. Kurkin A.V., Bernovskaya A.A., Yurovskaya M.A. Synthesis of N-alkylanthranilamides with a chiral substituent at the nitrogen atom. *Tetrahedron: Asymmetry.* 2010; 21: 2100-2107.
24. Dierynck I., Goeman J.L., Van Acker K.L.A., Van Der Eycken J.T.A., PCT Int. Appl. WO2004/58787, 2004.
25. Coppola G.M., Schuster H.F. The Chemistry of 2H-3,1-Benzoxazine-2,4(1H)-dione (Isatoic Anhydride). A Midl Process For The Preparation of 10-Alkyl-9-acridanones And It's Application To The Syntesis of Acridone Alkaloids. *J. Heterocycl. Chem.* 1989; 26(4): 957-964.
26. Sahu A., Chatterjee A. New Synthesis of Blepharin, the Naturally Occurring β -D-Glucoside of 2-Hydroxy-(2H,4H)-1,4-benzoxazin-3-one. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem.* 1990; 29(42): 603-605.
27. Medvedeva S.M., SHihaliev H.S. Effektivnye puti sinteza pirrolo[3,2,1-ij]hinolin-1,2-diona i produktov ego okislitel'nyh transformacij. *Butlerovskie soobshcheniya.* 2015; 42(4): 86-90. (In Russ.)
28. Medvedeva S.M., Movchan A.V., Sidorenko O.E., Shestakov A.S., Ledenyova I.V., Zavarzin I.V., Shikhaliev Kh.S. Synthesis of substituted 1,3-oxazino[5,4,3-ij]quinolin-1,3-diones by the oxidation of various pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones with m-chloroperbenzoic acid. *Arkivoc.* 2022; Pt. II: 215-226.
29. Medvedeva S.M., Kurbatov R.M., SHihaliev H.S. Sintez novyh potencial'no fiziologicheski aktivnyh zameshchennyh 1,4-oksazino[2,3,4-IJ]hinolin-2,3-dionov. «Puti i formy sovershenstvovaniya farmacevticheskogo obrazovaniya. Sozdanie novyh fiziologicheski aktivnyh veshchestv», materialy 6 Mezhdunarodnoj nauchno-metodicheskoy konferencii «Farmobrazovanie-2016», 21-23 aprelya 2016 g., Voronezh, 2016: 398-401.
30. Medvedeva S.M., SHihaliev H.S., Kryl'skij D.V., Sinyaeva L.A. Poluchenie i mass-spektrometricheskij analiz 5,6-digidro-4H-pirrolo[3,2,1-ij]hinolin-1,2-diona i 1,1'-(1,2-dioksoetan-1,2-diil)bis-1,2,3,4-tetragidrohinalina. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2014; 14(6): 970-976.



31. SHihaliev H.S., Selemenev V.F., Medvedeva S.M., Ponomareva L.F., Kopteva N.I. Mass-spektrometricheskij analiz 1-acil-2,2,5-trimetil-4,4-dihlorciklopropan[s]hino-*linov. Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy.* 2014; 14(2): 332-337.

Информация об авторах / Information about the authors

С.М. Медведева – доцент кафедры органической химии, к.х.н., доцент, Воронежский государственный университет; Воронеж, Россия

А.В. Мовчан – аспирант кафедры органической химии химического факультета, Воронежский государственный университет; Воронеж, Россия

К.А. Бондаренко – студент специалитета химического факультета, Воронежский государственный университет; Воронеж, Россия

К.Д. Шихалиева – к.б.н., доцент кафедры микробиологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н.Бурденко; Воронеж, Россия

Х.С. Шихалиев – д.х.н., проф., заведующий кафедрой органической химии ВГУ; Воронеж, Россия

S.M. Medvedeva – Ph.D (chemistry), associate prof. of the department of Organic Chemistry, Voronezh State University; Voronezh, Russia, e-mail: smmedvedeva@rambler.ru

A.V. Movchan – Postgraduate Student, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Voronezh State University; Voronezh., Russia, e-mail: ximik_130995@mail.ru

K.A. Bondarenko – a student of the specialty of the Department Chemistry, Voronezh State University; Voronezh, Russia, e-mail: ksenia-bondarenko@mail.ru

K.Dz. Shikhalieva – PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko; Voronezh, Russia, e-mail: k.shikhalieva@vsmaburdenko.ru

Kh.S. Shikhaliev – prof., grand PhD (chemistry), head of Department of Organic Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: shikh1961@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 10.05.2023; одобрена после рецензирования 04.09.2023; принята к публикации 06.09.2023.

The article was submitted 10.05.2023; approved after reviewing 04.09.2023; accepted for publication 06.09.2023.



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья
УДК 577.152.4
doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11578

Выделение и очистка изоцитратлиазы хроматографическими методами из печени крыс в условиях аллоксан-индуцированного диабета

Наталья Владимировна Селиванова,
Михаил Михайлович Винокуров, Александр Трофимович Епринцев 
Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru 

Аннотация. С использованием хроматографических методов был получен гомогенный препарат, обладающий изоцитратлиазной активностью из пероксисомальной фракции гепатоцитов крыс. В качестве объекта исследования использовались самцы лабораторных крыс (*Rattus norvegicus*) линии Вистар. Экспериментальный диабет индуцировали однократной инъекцией 5% раствора аллоксана. Контроль за развитием диабета осуществляли по измерению уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра (СателлитПлюс ПКГ-02.4). Забор крови осуществлялся в утренние часы из хвостовой вены. На 10 день эксперимента лабораторные животные были подвержены декапитации, предварительно усыпленные эфирным наркозом, для получения образцов печеночной ткани. Для выделения гомогенного препарата изоцитратлиазы (ИЦЛ, КФ 4.1.3.1.) были использованы хроматографические методы. Очистка включала несколько стадий: фракционирование гомогената сульфатом аммония, гель-фильтрацию на колонках, заполненных сефадексом G-25 и ионообменную хроматографию, являющуюся определяющей стадией. В качестве сорбента использовался анионообменник ДЭАЭ-Sephacel. Это позволило достичь степень очистки для первой изоформы ИЦЛ 12.12 и 24.24 – для второй. Удельная активность для первого препарата составила 0.04 Е/мг белка, а выход – 26.3%. Значение удельной активности для второй формы ИЦЛ было 0.08 Е/мг белка, а выход – 47.4%. Для элюции с колонки, заполненной ДЭАЭ-Sephacel использовался ступенчатый градиент градиент КС1 (60 мМ – 200 мМ). Идентификацию полученных препаратов осуществляли спектрофотометрически, за счет увеличения оптической плотности, по методу Корнберга (λ -324 нм). Наличие изоформ определяли путем специфического окрашивания геля после электрофореза в ПААГ. В результате четырехстадийной очистки было получено две изоформы с отличной от ИЦЛ (КФ 4.1.3.1) из других источников электрофоретической подвижностью.

Ключевые слова: изоцитратлиаза, глиоксилатный цикл, экспериментальный диабет, ионообменная хроматография, аллоксан.

Для цитирования: Селиванова Н.В., Винокуров М.М., Епринцев А.Т. Выделение и очистка изоцитратлиазы хроматографическими методами из печени крыс в условиях аллоксан-индуцированного диабета // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 716-722. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11578>

Original article

Isolation and purification of isocitrate lyase by chromatographic methods from the liver of rats under conditions of alloxan-induced diabetes

Natalia V. Selivanova, Mikhail M. Vinokurov, Alexander T. Eprintsev 
Voronezh State University, Voronezh, Russia, bc366@bio.vsu.ru 

Abstract. The homogeneous preparation with isocitrate lyase activity was obtained from the peroxisomal fraction of rat hepatocytes using chromatographic methods. Male white inbred laboratory Wistar rats (*Rattus*



norvegicus) were used as the object of the study. Experimental diabetes was induced by a single injection of a 5% alloxan solution. The development of diabetes was monitored by measuring blood glucose levels using a glucometer (SatellitePlus PKG-02.4). Blood sampling was carried out in the morning from the tail vein. On the 10th day of the experiment, laboratory animals were subjected to decapitation, previously euthanized with ether anaesthesia, to obtain liver tissue samples. For the isolation of a homogeneous preparation of isocitrate lyase (ICL, EC 4.1.3.1.), chromatographic methods were used. Purification included several stages: fractionation of the homogenate with ammonium sulphate, gel filtration on columns filled with Sephadex G-25 and ion exchange chromatography, which was the determining stage. The anion exchanger DEAE-Sephacel was used as a sorbent. This allowed to achieve a degree of purification of 12.12 for the first ICL isoform and 24.24 for the second ICL isoform. The specific activity for the first sample was 0.04 U/mg protein, and the yield was 26.3%. The specific activity value for the second form of ICL was 0.08 U/mg protein, and the yield was 47.4%. For elution from a column filled with DEAE-Sephacel was performed using step KCl gradient (60 mM – 200 mM). Identification of the resulting preparations was carried out spectrophotometrically, following the increase in the optical density, according to the Kornberg method (λ -324 nm). The presence of isoforms was determined by specific staining of the gel after PAGE electrophoresis. As a result of four-step purification, two isoforms with different from ICL (EC 4.1.3.1) from other sources electrophoretic mobility were obtained.

Keywords: isocitrate lyase, glyoxylate cycle, experimental diabetes, ion exchange chromatography, alloxan

For citation: Selivanova N.V., Vinokurov M.M., Eprintsev A.T. Isolation and purification of isocitrate lyase by chromatographic methods from the liver of rats under conditions of alloxan-induced diabetes. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 716-722. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11578>

Введение

Гомеостаз является одним из важнейших свойств организма, характеризующийся относительным постоянством внутренней среды вне зависимости от внешних воздействий. При различных стрессовых ситуациях происходят сдвиги в метаболизме, что позволяет компенсировать нарушенные функции органов и тканей. Одним и наиболее интересным из таких механизмов является активация глюконеогенеза у млекопитающих в период длительного голодания или различных патологиях, так как именно глюкоза является наиболее востребованным источником энергии [1]. В качестве субстратов глюконеогенеза используются такие неуглеводные вещества, как лактат, глицерол и некоторые аминокислоты [2]. Но для длительного поддержания гликемии на физиологическом уровне в стрессовых условиях этого может быть недостаточно. В связи с этим были высказаны предположения о том, что в процесс глюконеогенеза могут вовлекаться и жирные кислоты [3]. Однако для этого необходимо наличие глиоксилатного пути, позволяющего преобразовать жирные кислоты в активный ацетат с последующим

его вовлечением в процесс глюконеогенеза [3, 4].

Ключевыми энзимами глиоксилатного цикла являются изоцитратлиаза (КФ 4.1.3.1) и малатсинтаза (КФ 2.3.3.9). Их строение и функционирование изучалось на растениях, микроорганизмах, низших животных [4]. Однако возможность их экспрессии и функционирования у млекопитающих вызывает много споров среди специалистов [5-7]. Также были проведены исследования, которые показали, что глиоксилат, являющийся промежуточным метаболитом в данном пути может быть использован в качестве ранней диагностики сахарного диабета [8]. Таким образом целью данной работы было получения с помощью хроматографических методов гомогенного препарата с изоцитратлиазной активностью и исследование изоферментного состава фермента у млекопитающих.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовались самцы лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* L.) линии Вистар (n=8), массой примерно 180-200 г. Для создания модели экспериментального диабета применялся 5% раствор аллоксана в 0.9%-ном растворе цитрате натрия (время

предварительной инкубации составляло 15 минут при температуре 37°C). Инъекции осуществлялись однократно, внутрибрюшинно, контрольным крысам вместо аллоксана вводили физ.раствор. Все крысы выращивались в одинаковых условиях при идентичном пищевом режиме. Развитие экспериментального диабета наблюдали по изменению уровня гликемии в крови. Для этого использовали глюкометр «Сателлит Плюс ПКГ-02.4» (Россия). Забор крови осуществлялся в утренние часы из хвостовой вены.

Изоцитратлиазную активность измеряли фотометрически, за счет роста оптической плотности при λ -324 нм. Среда спектрофотометрирования содержала 50 мМ TrisHCl (pH 7.5); 5 мМ MgCl₂; 5 мМ изоцитрат Na; 4 мМ фенилгидрозин солянокислый; 4 мМ ДТТ [4]. Реакцию запускали добавлением ферментного препарата.

Содержание белка на каждой стадии определяли методом Лоури [9]. Все стадии очистки проводились при температуре не выше 4°C.

Гомогенизация. Печень гомогенизировали на льду в соотношении 1:5. Среда выделения включала: 50 мМ Tris-HCl (pH 7.5); 4 мМ MgCl₂; 3 мМ ДТТ; 3 мМ ЭДТА. Последующее центрифугирование проводилось при 5000 об/мин 7 мин. После отбирали супернатант для дальнейшей очистки.

Фракционирование (NH₄)₂SO₄. К супернатанту добавляли кристаллический сульфат аммония до 30% насыщения, с последующим центрифугированием 30 мин при 11000 об/мин. Затем супернатант фракционировали до 90% насыщения и центрифугировали 30 мин при 11000 об/мин. Осадок ресуспендировали в среде выделения.

Гель-фильтрация. Полученный препарат наносили на колонку, заполненную сефадексом G25, для очистки от низкомолекулярных примесей и солей. Элюировали 50 мМ Tris-HCl буфером (pH 7.5), содержащим 1 мМ MgCl₂ и 1 мМ ДТТ.

Скорость элюирования составляла 1 см³ – 1 минута. Ионообменная хроматография на ДЭАЭ-сефацел. Ферментный препарат наносили на колонку, предварительно уравновешенную 50 мМ Tris-HCl (pH 7.5). Для десорбции применяли ступенчатый градиент KCl от 50 мМ до 200 мМ в 20 мМ Tris-HCl (pH 7.8). Скорость элюирования составляла 2 см³ – 5 минут.

Электрофоретическое исследование. Электрофорез проводили в 8% полиакриламидном геле [10]. Для изучения изоферментного состава использовали специфическое окрашивание. Среда проявления содержала: 50 мМ Tris-HCl (pH 7.5), 3 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭДТА, 3 мМ ДТТ, 10 мМ изоцитрат калия и реактив Шиффа [4]. Время инкубации составляло 12 часов при температуре 37°C.

Все опыты проводились в четырехкратной биологической и трехкратной аналитической повторностях. Для оценки достоверности полученных результатов использовали программу Статтех (<https://stattech.ru/>).

Обсуждения результатов

Перед индукцией экспериментального диабета все крысы (n = 8) были произвольно разделены на две группы: «Контроль» – здоровые крысы; и «Диабет» – животные с аллоксановым диабетом. Изначально концентрация сахара в крови у всех крыс находилась в пределах нормы и составляла 5.1±0.23 ммоль/дм³. На 2 день после инъекции аллоксана у крыс группы «Диабет» уровень глюкозы резко повысился до 9.8±0.15 ммоль/дм³ и на протяжении всего эксперимента находился в пределах 14-18 ммоль/дм³ (рис. 1). Это свидетельствует о токсичном воздействии экзогенного аллоксана, посредством которого происходила постепенная деструкция β-клеток островков Лангерганса, с последовательно развивающейся гипергликемией [11]. У контрольной группы животных на протяжении всего

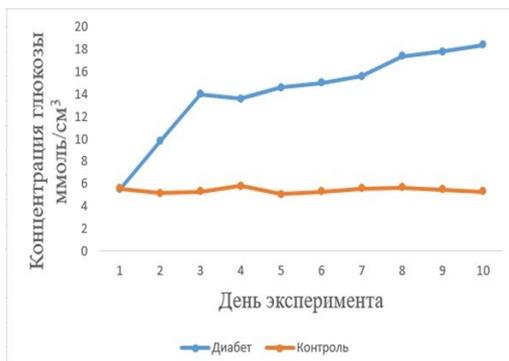


Рис. 1. Динамика концентрации глюкозы в плазме крови

Fig. 1. Dynamics of glucose concentration in blood plasma



Рис. 2. Электрофореграмма ПААГ со специфическим проявлением полученных препаратов из печени крыс с экспериментальным диабетом. P1, P2 – белковые полосы, F – фронт красителя.

Fig. 2. Electrophoregram PAAG with a specific manifestation of the preparations obtained from the liver of rats with experimental diabetes. P1, P2 are protein bands, F is the front of the dye.

Таблица. Очистка ИЦЛ из гепатоцитов крыс, подвергшихся инъекции аллоксаном ($p \leq 0.001$)
 Table. Purification of ICL from hepatocytes of rats injected with alloxan ($p \leq 0.01$)

Стадия очистки	Объем, см ³	Общий белок, мг	Общая активность, Е	Удельная активность, Е/мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	3.7	57.45	0.19	0.0033	100	1
Высаливание сульфатом аммония	2.0	19.6	0.062	0.0032	32.6	0.97
Гель-фильтрация на G-25	1.8	17.2	0.245	0.006	128.9	4.48
Ионообменная хроматография на ДЭАЭ-сефацел	2.0	1.23	0.05	0.04	26.3	12.12

времени эксперимента данный показатель колебался в пределах 4.8-5.5 ммоль/дм³.

Для получения ткани печени лабораторные животные подвергались декапитации с последующей аутопсии под эфирным наркозом [12]. Для получения высокоочищенного препарата, обладающего изоцитратлиазной активностью, была проведена четырехстадийная очистка фермента. В опытных пробах после элюции фермента с ДЭАЭ-Sephacel ступенчатым градиентом KCl (50-200

мМ) были получены два ферментных препарата, обладающих изоцитратлиазной активностью. В первой опытной пробе удельная активность составила 0.04 Е/мг белка, вместе с тем степень очистки составила 12.12 раз, а выход 26.3%. Для второй пробы удельная активность составила 0.08 Е/мг белка, а степень очистки и выход 24.24 раза и 47.4% соответственно. В печени крыс группы «Контроль» активность изоцитратлиазы не обнаружена (таблица 1). Применение

ступенчатого градиента во время десорбции ферментных препаратов позволило выявить небольшое различие в степени сорбции двух препаратов на ДЭАЭ-Sephacel. Это обусловлено различиями в изоэлектрической точке (pI). Колонка с ДЭАЭ-Sephacel была уравновешена буфером с рН 7.8, что выше pI исследуемого энзима. В результате это способствовало формированию отрицательного заряда и элюции двух изоформ.

С помощью диск-электрофореза в ПААГ со специфическим окрашиванием было продемонстрировано наличие 1 полосы в каждом из двух ферментных препаратов. Электрофоретическая подвижность обоих препаратов существенно отличается от ИЦЛ, полученной из других источников. Полученный препарат ИЦЛ может быть использован для более детального исследования структурных особенностей и кинетических характеристик.

Заключение

Несмотря на то, что в качестве субстратов, глюконеогенез может использовать различные вещества (пируват, лактат, глицерол, гликогенные аминокислоты), ни одно из них не было идентифицировано как доминирующее. Помимо этого, они не способны обеспечить длительную работу глюконеогенеза в стрессовых условиях. В связи с этим, должен существовать неизвестный источник, способный поддерживать длительную гипергликемию [7]. Так же было продемонстрировано, что повышение уровня сво-

Список литературы

1. Кулебякин К.Ю., Акопян Ж.А., Кочегура Т.Н., Пеньков Д.Н. Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени // *Сахарный диабет*. 2016. Т. 19, № 3. С. 190-198.
2. Hanson R.W., Owen O.E., Gluconeogenesis // *Encyclopedia of Biological Chemistry*. 2013. P. 381-386.
3. Lazarow P.B., Peroxisomes // *Encyclopedia of cell Biology*. 2016. Vol. 2. P. 48-272.

бодных жирных кислот в плазме оказывает стимулирующее действие на глюконеогенез [13].

В ряде исследований была продемонстрирована тесная связь между активацией процессов β -, ω -окисления и глиоксилатным путем [7]. За счет повышенной активности β - и ω -окисления, обусловленных голоданием или притоком жира, происходит выработка свободного ацетата, который является мощным индуктором глиоксилатного пути. Для активного функционирования данного цикла необходимы два ключевых фермента – изоцитратлиаза и малатсинтаза.

Благодаря использованию хроматографических методов были получены два ферментных препарата обладающих изоцитратлиазной активностью [14]. Появление активности ИЦЛ в печени крыс с экспериментальным диабетом связано с появлением двух изоформ, имеющих разную электрофоретическую подвижность от ИЦЛ, выделенной ранее [4]. Мы предполагаем, что это может быть связано с наличием у млекопитающего другого энзима, способного в стрессовых условиях катализировать реакцию превращения изоцитрата в глиоксилат и сукцинат.

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. Епринцев А.Т., Попов В.Н., Шевченко М.Ю. Глиоксилатный цикл: универсальный механизм адаптации? М.: Академкнига. 2007. 228 с.
5. Попов В.Н., Волвенкин С.В., Епринцев А.Т., Игамбердиев А.У. Индукция ферментов глиоксилатного цикла в различных тканях голодающих крыс // *Известия РАН, серия биологическая*. 2000. № 6. С. 663-667.
6. Шевченко М.Ю. Дисс. Канд. Биол. Наук. Воронеж, 2007, 24 с



7. S. Song, Can the glyoxylate pathway contribute to fat-induced hepatic insulin resistance? // *Medical Hypotheses*. 2000. Vol. 54. P. 739-747.
8. Nikiforova V.J., Giesbertz P., Wiemer J. Glyoxylate, a new marker metabolite of type 2 diabetes. // *J. Diabetes Res*. 2014. Vol. 2014. P. 1-10.
9. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // *Journal Biological Chemistry*. 1951. Vol. 193. P. 265-275.
10. Wilson K. and Walker J. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. 2010. 930 p.
11. Lenzen S., The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia*. 2008. Vol. 51. P. 216-226.
12. Коптяева К.Е., Мужикян А.А., Гушин Я.А., Беляева Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных (крысы). // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018. №2. С. 71-92.
13. Clore J.N., Glickman P.S., Helm S.T., Nestler J.E., Blackard W.G. Evidence for dual control mechanism regulating hepatic glucose output in nondiabetic men // *Diabetes*. 1991. Vol. 40. P. 1033-1040.
14. Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Бобрешова О.В., Аристов И.В. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. М. Стелайт. 2002. 299 с.
3. Lazarow P.B. Peroxisomes. *Encyclopedia of cell Biology*. 2016; 2: 48-272
4. Eprincev A.T. Glioksilatnyj cikl: universal'nyj mehanizm adaptacii? / A.T. Eprincev, V.N. Popov, M.Ju. Shevchenko. М., IKC «Akademkniga», 2007, 228 p.
5. Popov V.N., Volvenkin S.V., Eprincev A.T., Igamberdiev A.U. Indukcija fermentov glioksilatnogo cikla v razlichnyh tkanjah golodajushhih krys. *Izvestija RAN, serija biologicheskaja*. 2000; 6: 663-667. (In Russ.)
6. Shevchenko M.Yu. Diss. Kand. Bio. Nauk. Voronezh, 2007, 24 p.
7. S. Song, Can the glyoxylate pathway contribute to fat-induced hepatic insulin resistance? *Medical Hypotheses*. 2000; 54: 739-747
8. Nikiforova V.J., Giesbertz P., Wiemer J. Glyoxylate, a new marker metabolite of type 2 diabetes. *J. Diabetes Res*. 2014; 2014: 1-10.
9. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*. 1951; 193: 265-275.
10. Wilson K. and Walker J. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. 2010. 930 p.
11. Lenzen S., The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51: 216-226.
12. Коптяева К.Е., Мухикян А.А., Гушин Я.А., Беляева Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных (крысы). *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018; 2: 71-92. (In Russ.)
13. Clore J.N., Glickman P.S., Helm S.T., Nestler J.E., Blackard W.G. Evidence for dual control mechanism regulating hepatic glucose output in nondiabetic men. *Diabetes*. 1991; 40: 1033-1040. (In Russ.)
14. Selemenев V.F., Hohlov V.Ju., Bobreshova O.V., Aristov I.V. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. М. Стелайт. 2002. 299 p.

References

Информация об авторах / Information about the authors

А.Т. Епринцев – д.б.н., проф., зав. кафедрой биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

A.T. Eprintsev – Doctor of Biology, head of Department of Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: bc366@bio.vsu.ru



Н.В. Селиванова – к.б.н., доцент кафедры 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, Russia, e-mail: kir2202@yandex.ru

М.М. Винокуров – студент медико-биологического факультета, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

M.M. Vinokurov – student of the Faculty of Medicine and Biology, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: vinokurovm41@gmail.com

Статья поступила в редакцию 13.02.2023; одобрена после рецензирования 27.04.2023; принята к публикации 03.05.2023.

The article was submitted 13.02.2023; approved after reviewing 27.04.2023; accepted for publication 03.05.2023.



ИНФОРМАЦИЯ

17-19 мая 2023 года в Воронежском государственном университете проходила IV Всероссийская школа-семинар с международным участием «Сорбция и хроматография», посвященная 120-летию открытия хроматографии великим русским ученым Михаилом Семеновичем Цветом и 90-летию кафедры аналитической химии ВГУ. Организаторами школы-семинара были кафедра аналитической химии ВГУ и научно-образовательный центр ВГУ «Иониты и мембраны».

Отличительной чертой IV Всероссийской школы-семинара «Сорбция и хроматография» явилось то, что, в отличие от предыдущих лет, в этом году наряду с секцией аспирантов и молодых ученых, работала секция, где с устными докладами выступали студенты.

IV школе-семинару не случайно был присвоен статус «с международным участием», так как в ее работе принимали участие ученые из Беларуси, Азербайджана и Вьетнама. За три дня работы школы-семинара заслушано 34 доклада из 10 университетов и институтов Российской Академии Наук, в том числе 18 сообщений было сделано молодыми учеными, аспирантами и студентами.

В своем приветственном слове проректор ВГУ по науке, инновациям и цифровизации доктор физико-математических наук Дмитрий Владимирович Костин поздравил участников IV школы-семинара и отметил значительную организационную работу кафедры аналитической химии ВГУ для успешного проведения школы-семинара, посвященной великому открытию Михаила Семеновича Цвета. Проректор подчеркнул, что школа-семинар посвящена также 90-летию кафедры, которая добилась больших успехов. Так, в 2022 году преподавателями, сотрудниками, аспирантами и студентами кафедры опубликовано 38 статей в журналах, рекомендованных ВАК и входящих в базу Scopus. Наряду с этим, за прошедшие три года изданы:

- коллективная монография «Наследие М.С. Цвета в трудах воронежских химиков» в двух томах под редакцией В.Ф. Селеменова, О.Б. Рудакова (2021 г.);
- монография «Витамины как объекты пищевой химии и фармакологии» В.Ф. Селеменова, Л.В. Рудаковой, О.Б. Рудакова, Н.А. Белановой, Н.В. Мироненко (2022 г.);
- монография «Липидомика» В.Ф. Селеменова, Л.В. Рудаковой, О.Б. Рудакова, Н.А. Белановой, Н.В. Мироненко, Е.В. Бутырской (2023 г.);
- библиографическое пособие «Валентин Пименович Мелешко (1911-1978)» из серии «Ученые Воронежского государственного университета», составители: Н.И. Барабанщикова, В.Ф. Селеменов, Т.В. Елисеева, Н.А. Беланова (2023 г.).

Благодаря усилиям преподавателей и сотрудников кафедры аналитической химии ВГУ, продолжается научное сотрудничество в рамках направления «Сорбционные, хроматографические и мембранные методы в разделении, концентрировании и анализе биологически активных веществ» как с кафедрами химического факультета, кафедрами биофизики и биотехнологии, биохимии и физиологии клетки, экологии и земельных ресурсов, фармацевтической химии и фармтехнологии ВГУ, так и с профильными кафедрами химии (фармхимии) Воронежского государственного технического университета (зав. кафедрой профессор О.Б. Рудаков), Воронежского государственного университета инженерных технологий (ВГУИТ) (зав. кафедрой профессор Т.А. Кучменко), Воронежского государственного медицинского университета (профессор Л.В. Рудакова), Воронежского государственного агроуниверситета (ВГАУ) (зав. кафедрой профессор А.В. Шапошник, профессор А.Л. Лукин); Воронежского государственного лесотехнического университета (профессор Л.И. Бельчинская), Института федеральной службы исполнения наказаний (ФСИН) (профессор А.В. Калач).

Данное сотрудничество оказалось весьма плодотворным. Результатом этого явилась публикация более 100 статей в журнале «Сорбционные и хроматографические процессы» в 2022-2023 гг. Наряду с этим, подготовлены к печати в 2023 году монография «Фитогормоны и суперабсорбенты в экологии и медицине» (авторы: В.Ф. Селеменов, В.Н. Семенов, Т.В. Ели-



сеева, С.И. Карпов, Н.А. Беланова, Н.В. Мироненко, П.О. Куцев, И.В. Воронюк, Л.А. Синяева, О.В. Слепцова, А.Л. Лукин) и монография В.Ф. Селеменова, О.В. Тринеевой, Т.В. Елисейевой, Н.А. Белановой, Е.В. Сафоновой, А.А. Назаровой «Хроматографические методы в анализе биологически активных веществ».

Сотрудниками кафедры опубликованы статьи в высокорейтинговых журналах 1 и 2 квартала, изданы учебные пособия по преподаваемым курсам.

Многие публикации и подготовленные к печати монографии поддержаны грантами РФФИ, грантами Президента РФ и Госзаданиями Минобрнауки, по которым ведутся исследования на кафедре, в том числе:

1. Грант РФФИ № 21-19-00397 (рук. В.И. Васильева) «Фундаментальные основы получения новых гетерогенных ионообменных мембран с доминирующей электроконвекцией для высокоинтенсивного электродиализа» (2021-2023 гг.);
2. Грант РФФИ № 22-29-01480 (рук. Т.В. Елисейева) «Органическое отравление ионообменных материалов в растворах ароматических альдегидов и аминокислот» (2022-2023 гг.);
3. Грант Президента РФ МД-5832.2021.1.3 (рук. А.В. Паршина) «Потенциометрические мультисенсорные системы на основе мембран типа Nafion и модифицированных углеродных нанотрубок для анализа сульфаниламидных препаратов» (2021-2022 гг.);
4. Госзадание Минобрнауки России в сфере научной деятельности на 2020-2022 гг (в рамках базовой части) FZGU-2020-0044 (рук. А.Т. Епринцев, В.Г. Артюхов, Х.С. Шихалиев, В.Ф. Селеменов) «Биохимические и молекулярные механизмы адаптивной реакции окислительного метаболизма у растений в стрессовых условиях»;
5. Госзадание Минобрнауки России в сфере научной деятельности на 2023-2025 гг (в рамках базовой части) FZGU-2023-0009 (рук. А.Т. Епринцев, В.Г. Артюхов, Х.С. Шихалиев, В.Ф. Селеменов) «Молекулярные механизмы регуляции физиологических процессов биосистем. Стрессовая физиология растений».

В пленарном докладе школы-семинара «Открытие хроматографии» профессор Владимир Алексеевич Шапошник особо отметил значение открытия хроматографического метода Михаилом Семеновичем Цветом на последующее развитие важных научных направлений в химии, биологии, физике, фармации, медицине. Сообщения ведущих ученых-хроматографистов России, заслушанные в первый день работы школы-семинара, подтвердили данную точку зрения.

Доклад профессора Владимира Александровича Иванова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) «Хроматография в разделении стабильных изотопов» позволил участникам школы-семинара ознакомиться с достижениями в этой области известной школы в области ионообменной хроматографии лаборатории стабильных изотопов МГУ.

Обзор применения и внедрения в фармакопейную практику традиционных и новых хроматографических методов представила профессор Рудакова Людмила Васильевна с соавторами (Воронежский государственный медицинский университет). Динамика развития хроматографии в России складывается в пользу развития новых способов детектирования и внедрения сорбентов со специфическими свойствами. Об успешных исследованиях в области синтеза сорбционных материалов, их модификации, установления селективности к сорбатам различной природы, оригинальных конструктивных решениях свидетельствуют сообщения профессора Староверова Сергея Михайловича (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) «Новая линия отечественных ВЭЖХ колонок с сорбентами серии Нау-



tilus R», ведущего научного сотрудника Медяк Галины Владимировны (Институт физико-органической химии Национальной Академии наук Беларуси) «Волокнистые иониты ФИБАН: синтез, свойства, применение», профессора Платонова Игоря Артемьевича (Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева) «Хромато-десорбционные системы», профессора Нестеренко Павла Николаевича (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) «Применение цеолитов в высокоэффективной жидкостной хроматографии», профессора Дейнека Виктора Ивановича (Белгородский государственный национальный исследовательский университет) «Обращенно-фазовая ВЭЖХ: факторы, влияющие на удерживание».

Следует отметить доклад члена-корреспондента РАН Хамизова Руслана Хажсетовича (Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН) о новых экспериментальных данных и теоретических обобщениях в методе удерживания кислот ионообменниками. В данном методе реализована идея создания безреагентных (самоподдерживающихся) процессов умягчения – опреснения воды на основе того, что регенерация ионообменной колонны после очистки воды производится раствором полученного концентрата.

Большой интерес слушателей вызвали доклады профессора Зенкевича Игоря Георгиевича (Санкт-Петербургский государственный университет) «Реккурентные соотношения в хроматографии» и профессора Бутырской Елены Васильевны (Воронежский государственный университет) «Модель однослойной кластерной адсорбции», в которых наиболее ярко проявилось использование математического аппарата/моделирования к описанию хроматографических и сорбционных процессов.

Во второй день работы IV школы-семинара были заслушаны: доклад доктора фармацевтических наук Тринеевой Ольги Валерьевны (Воронежский государственный университет) «Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ», в котором представлены оптимальные способы предподготовки анализируемых смесей и предложены подходы к качественному и количественному определению витаминов, фенольных соединений, аминокислот, фосфолипидов; доклад профессора Холявки Марины Геннадьевны (Воронежский государственный университет) «Адсорбционная иммобилизация инулиназы из *Aspergillus ficuum* и *Kluyveromyces marxianus*: сравнительный аспект», в котором были обоснованы механизмы адсорбции фермента различными носителями с образованием новых активных центров; доклад доцента Кущева Петра Олеговича (Воронежский государственный университет) «Синтез и свойства суперсорбента «Твердая вода», в котором представлен механизм синтеза суперсорбента (с использованием крахмала, акриловой кислоты и акрилатов), способного поглощать до 500 литров воды на 1 кг сорбента.

Воронежский государственный университет инженерных технологий на школе-семинаре был представлен следующими докладами: докладом к.х.н. Шуба Анастасии Александровны с соавторами «Оценка возможности прогноза и регуляции сорбционных свойств композитных покрытий пьезокварцевых сенсоров», в котором представлены данные о влиянии природы композитов на аналитические характеристики пьезокварцевых сенсоров; докладом д.х.н. Козадёровой Ольги Анатольевны «Влияние степени измельчения ионита в составе гетерогенной мембраны на её сорбционные и диффузионные характеристики в растворах молочной кислоты», где были приведены оригинальные данные по изменению диффузионной проницаемости и сорбционной способности гетерогенных мембран в зависимости от дисперсности ионообменного материала, используемого при их изготовлении; докладом к.х.н. Губина Александра Сергеевича с соавторами «Применение магнитного сорбента на основе гумата в



сочетании с ГХ-МС для определения фенольных ксероэстрогенов в донных отложениях», в котором проанализированы свойства сорбента на основе гумата при использовании в анализе фенольных ксероэстрогенов.

Самарская научная школа хроматографистов представила целую линейку сообщений, раскрывающих широкие возможности современных хроматографических методов для анализа жидкостей и газов. Доклад к.х.н. Шафигулина Романа Владимировича с соавторами «Влияние имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ» раскрывает некоторые аспекты использования ионных жидкостей при определении флавоноидов; доклад к.х.н. Платонова Владимира Игоревича «Газоаналитический комплекс для анализа парниковых газов на основе микрофлюидного хроматографа» показывает, что анализ газовых смесей на основе хроматографов с микроколонками (а это приоритет учёных из Самары) преодолел в настоящее время этап лабораторных исследований и внедряется в практику производства; к.х.н. Копытин Кирилл Александрович с соавторами в своём докладе представил результаты исследований физико-химических свойств поверхностно-слоистого сорбента на основе металл-органического полимера МП-100(Сг); о получении и изучении поверхностно-слоистых сорбентов с варьированной порозностью рассказала участникам школы-семинара к.х.н. Новикова Екатерина Анатольевна.

В третий день работы IV школы-семинара были заслушаны доклады молодых учёных, аспирантов и студентов. Интересные сообщения о метрологических характеристиках хроматографических методов анализа и особенностях оценки правильности в хроматографических методиках представлены сотрудниками Белгородского государственного национального исследовательского университета Олейниц Еленой Юрьевной и Буржинской Таисией Григорьевной (научный руководитель В.И. Дейнека). Разделению оптических изомеров на хиральных кристаллах был посвящен доклад Белоногова Эдуарда Владимировича с соавторами (Уфимский университет науки и технологий). Об особенностях сорбции оптических изомеров гистидина на углеродных нанотрубках сделал сообщение Ле Динь Туан, Вьетнам (научный руководитель Е.В. Бутырская). Влиянию состава контактирующей среды на структуру и сорбционные свойства мезопористых кремнезёмов был посвящён доклад Хлудневой Алины Сергеевны (научный руководитель С.И. Карпов). Результаты разработки методик обнаружения бисфенола А в пластиках методами ТСХ, ГХ-МС, ВЭЖХ-МС представил аспирант Рудаков Ярослав Олегович.

С особым вниманием участниками IV школы-семинара были заслушаны студенческие доклады на заключительном заседании: Ищенко Ульяны Сергеевны о закономерностях сорбции стероидных сапонинов хитозаном (рук. Н.В. Мироненко); Чарушиной Ольги Евгеньевны об особенностях выделения фенилаланина из сахаросодержащих растворов методом электродиализа с биполярными мембранами (рук. Т.В. Елисеева, А.Ю. Харина); Лисицыной Светланы Александровны о влиянии температурного фактора на необменную сорбцию аминокислот анионитом АВ-17-8 (рук. О.Н. Хохлова); Бондаренко Ксении Алексеевны о применении колоночной хроматографии для выделения производных хинолинов и масс-спектрометрии для установления их структуры (рук. С.М. Медведева, А.В. Мовчан, Х.С. Шихалиев); Эфендиевой Нармин Тофик (Бакинский госуниверситет) об извлечении ионов серебра сорбентами, модифицированными 1,4-бис[2-проп-1-енил]фенокси]бутаном (рук. Магеррамов А.М.). Лучшие доклады студентов и аспирантов были отмечены Дипломами и подарками.

Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б.



Письмо в редакцию

Исправления в статье Zaitceva E.A., Dolgonosov A.A., Dolgonosov A.M. «Theoretical characterization of ionic liquids as stationary phases for gas chromatography», опубликованной в журнале «Сорбционные и хроматографические процессы». 2022. Т. 22, № 5 С. 598-611.

В статье на странице 600 в левой колонке колонке в уравнении (2) обнаружена ошибка. Правильная запись уравнения должна иметь вид:

$$u_i = \frac{U_{\min}}{U_{\text{np}}} = 1 + \frac{U_{\text{дп}}}{U_{\text{np}}} + \frac{E_{\text{H}}}{U_{\text{np}}} = A^2 + B \cdot A^{1/3}, \quad (2)$$

where the notation $A = 21.88 \cdot \frac{n_{\text{Hisp}}}{Q_i \cdot Q_{\text{sp}}}$, $B = 1 + c \left(\frac{\mu_i^2}{Q_i} + \frac{\mu_{\text{sp}}^2}{Q_{\text{sp}}} + c_T \frac{\mu_i^2 \mu_{\text{sp}}^2}{Q_i Q_{\text{sp}}} \right)$, $c = \frac{0.9676}{e^2 a_0^2}$,

$c_T = \frac{0.1347}{a_0^3 k_B T}$, e is the elementary charge, a_0 is the Bohr radius, k_B is the Boltzmann constant, and T is the temperature.

Е.А. Зайцева. А.М. Долгоносов

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
- **Knauer 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 30.09.2023. Формат 60×84 ½

Дата выхода в свет 03.11.2023

Усл. печ. л. 32,55. Тираж 50 экз. Заказ 223

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+