

# СОРБЦИОННЫЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Научный журнал  
Выходит 6 раз в год

Том 24, № 1, 2024

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)

В.И. Дейнека, д-р хим.наук, проф. (НИУ «БелГУ», Белгород)

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)

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, 2024

# SORBTSIONNYE I KHROMATOGRAFICHESKIE PROTSESSY (SORPTION AND CHROMATOGRAPHY PROCESSES)

Scientific journal  
Published 6 times per year

**Volume 24, No 1, 2024**

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](mailto: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)

V.I. Deineka, Dr.Sc., Prof., (Belgorod State National  
Research University, Belgorod)

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)

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, 2024

# СОРБЦИОННЫЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

2024, Том 24, №1



Выходит 6 раз в год

CONTENTS

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

<b>Информация</b>	5-10	<b>Information</b>
<b>Бутырская Е.В., Ле Д.Т., Волков А.А.</b> Квантово- химическое моделирование сорбционных взаимодействий энантиомеров гистидина с углеродной нанотрубкой	11-22	<b>Butyrskaya E.V., Le D.T., Volkov A.A.</b> Quantum-chemical modeling of sorption interactions of histidine enantiomers with carbon nanotubes.
<b>Бутырская Е.В., Ле Д.Т., Волков А.А.</b> Кластерная адсорб- ция энантиомеров гистидина на углеродных нанотрубках из вод- ных растворов	23-33	<b>Butyrskaya E.V., Le D.T., Volkov A.A.</b> Cluster adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes from aqueous solutions
<b>Селеменев В.Ф., Дейнека В.И., Саласина Я.Ю., Елисеева Т.В., Мохаммед М., Дейнека Л.А., Пронин И.С.</b> Определение флавоноидов ко- журы плодов <i>Citrus reticulata</i>	34-43	<b>Selemenov V.F., Deineka V.I., Salasina Ya.Yu., Eliseeva T.V., Mohammed M., Deineka L.A., Pronin I.S.</b> Determining flavonoids in the skin of <i>Citrus reticulata</i>
<b>Томина Е.В., Ходосова Н.А., Нгуен Ань Тьен, Мануковская В.Е., Нгуен Хоанг Хай</b> Особенности сорбции метилено- вого голубого биоуглями на ос- нове карбонизатов сосны и березы	44-55	<b>Tomina E.V., Khodosova N.A., Nguyen Anh Tien, Manukovskaya V.E., Nguyen Hoang Hai</b> Specific features of the sorption of methylene blue by biochars based on pine and birch carboni- zates
<b>Ярыкин Д.И., Горелков О.П., Пыцкий И.С., Спицын Б.В., Буряк А.К.</b> Определение несгораемых при- месей в нанопорошке детонаци- онного алмаза	56-62	<b>Yarykin D.I., Gorelkov O.P., Pytskii I.S., Spitsyn B.V., Buryak A.K.</b> Determination of non-com- bustible impurities in detonation nanodiamond powder

- Селеменев В.Ф., Беланова Н.А., Мироненко Н.В., Беланова А.А., Семенов В.Н., Волков А.А., Коломиец Л.Н.**  
Взаимодействие меланоидинов, пролина и валина с сорбентами различной природы  
63-75 **Selemenev V.F., Belanova N.A., Mironenko N.V., Belanova A.A., Semenov V.N., Volkov A.A., Kolomiets L.N.**  
Interaction of melanoidins, proline, and valine with sorbents of various nature
- Хорозова О.Д., Дальнова Ю.С., Бабкин А.В., Мельникова И.М., Трящина А.С., Шукман Е.С.**  
Синтез и физико-химические свойства 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дителиазин)/-5-илэтана при сорбции тяжелых, благородных и редкоземельных элементов  
76-87 **Khorozova O.D., Dalnova Yu.S., Babkin A.V., Melnikova I.M., Tryastina A.S., Shukman E.S.**  
Synthesis and physicochemical properties of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane during the sorption of heavy, noble, and rare earth elements
- Марютина Т.А., Савонина Е.Ю.**  
Жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой в неорганическом анализе  
88-100 **Maryutina T.A., Savonina E.Yu.**  
Liquid chromatography with a free stationary phase in an inorganic analysis
- Стоянова А.Д., Чечерина А.Ю., Иванова А.В., Гайдукова А.М., Конькова Т.В., Мухин В.М.**  
Сорбция ионов двухвалентных металлов из водных растворов на активированном угле с его последующим электрофлотационным выделением  
101-110 **Stoyanova A.D., Checherina A.Yu., Ivanova A.V., Gaidukova A.M., Konkova T.V., Mukhin V.M.**  
Sorption of divalent metal ions from aqueous solutions on activated carbon with its further separation through electroflotation.
- Симакина Я.И., Уголкова Е.А., Михайлова А.В., Ефимов Н.Н., Минин В.В.**  
Сорбция элементов Cu, Gd, V, Mn и Fe гидрогелями с идентификацией их комплексов в твердой фазе полимерного лиганда методом ЭПР  
111-119 **Simakina Ya.I., Ugolkova E.A., Mikhailova A.V., Efimov N.N., Minin V.V.**  
Sorption of the Cu, Gd, V, Mn, and Fe elements by hydrogels with identification of their complexes in the solid phase of the polymer ligand using EPR.
- Леонтьев В.Н., Игнатовец О.С., Лазовская О.И., Страх Я.Л.**  
Применение метода тонкослойной хроматографии для определения степени гидролиза соевого лецитина  
120-127 **Leontyev V.N., Ignatovets O.S., Lazovskaya O.I., Strakh Ya.L.**  
Application of the thin layer chromatography method for the determination of the degree of hydrolysis of soy lecithin
- Королева В.А., Дубовицкая А.Н., Беляева Т.Н., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.**  
Физико-химические и кинетические свойства коллагеназы, нативной и адсорбированной на хитозане  
128-138 **Koroleva V.A., Dubovitskaya A.N., Belyaeva T.N., Holyavka M.G., Artyukhov V.G.**  
Physicochemical and kinetic properties of collagenase, native and adsorbed on chitosan

**Федорин Д.Н., Чуйкова В.О.,  
Епринцев А.Т.**

Выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы дифференциальным ультрацентрифугированием и идентификация в них микроРНК miR165a

**25-летний юбилей фармацевтического факультета ВГУ**

**Персоналии**

139-146

**Fedorin D.N., Chuikova V.O.,  
Eprintsev A.T.**

Isolation of extracellular vesicles from corn leaves using differential ultracentrifugation and the identification of miR165a microRNA.

147-154

**25th anniversary of the VSU Faculty of Pharmacy**

155

**Persons**

## ИНФОРМАЦИЯ

Уважаемые коллеги!

Объединённая комиссия по хроматографии Российской Академии Наук обратилась в редакцию журнала «Сорбционные и хроматографические процессы» с просьбой опубликовать материалы двух совещаний по вопросу о восстановлении деятельности диссертационного Совета по специальности «Хроматография и хроматографические приборы». Данная специальность относится к области «Технические науки» под номером 2.6. Химические технологии, науки о материалах, металлургия.

Шифр специальности 2.6.19. Хроматография и хроматографические приборы. Востребованность подготовки специалистов (в том числе высшей квалификации) давно назрела, что связано с огромной ролью хроматографии в теоретических и прикладных исследованиях во многих отраслях науки, промышленности, по переработке продуктов питания, в медицине, фармации и др. Открытие Диссертационного Совета по вышеназванной специальности будет способствовать становлению и развитию хроматографических научных школ в России, а также инженерных кадров высшей квалификации в области хроматографии, ионного обмена, мембранных технологий, капиллярной электрохроматографии. Проект подготовили ведущие хроматографисты России.

### Краткая история специальности

В 1989 г. Научный совет по хроматографии обратился с ходатайством в АН СССР о включении в перечень специальностей - специальность «Хроматография». На основании приказа № 32-в от 10.01.1990 г. председателя Высшей аттестационной комиссии при Совете министров СССР Е.И. Шемякина был утвержден специализированный диссертационный совет в Институте физической химии Академии наук СССР (Д 002.95.02), которому разрешено принимать к защите диссертации и ходатайствовать о присуждении ученой степени доктора и кандидата наук по химическим и техническим наукам по специальности 02.00.20 «Хроматография» в составе 18 человек. В состав совета входили: Ларионов Олег Георгиевич (председатель) – д.х.н., профессор, зав. лаб. Института физической химии АН СССР, 02.00.20; Даванков Вадим Александрович (заместитель предсе-



дателя) – д.х.н., зам. директора Института элементоорганических соединений АН СССР, 02.00.20; Коломиец Людмила Николаевна (ученый секретарь) – к.х.н., с.н.с. Института физической химии АН СССР, 02.00.20. В 1995 г. в «Общероссийский классификатор специальностей высшей научной квалификации. ОК 017-94» (утв. Постановлением Госстандарта РФ от 26.12.1994 N 368) (Дата введения 01.07.1995) включены 2 специальности:

02.00.20 Хроматография (Группа специальностей 02.00.00. Химические науки)

05.11.11 Хроматография и хроматографические приборы (Группа специальностей 05.00.00. Технические науки)

В период 1990-2000 г. было защищено 24 докторских и 28 кандидатских диссертаций по специальности 02.00.20 «Хроматография»

В Номенклатуре специальностей научных работников (Утверждена Приказом Министерства науки и технологий Российской Федерации от 25 января 2000 г. № 17/4) в разделе 02.00.00 Химические науки исключена специальность 02.00.20 Хроматография.

Однако в разделе 05.11.00 Приборостроение, метрология и информационно-измерительные приборы, и системы осталась специальность 05.11.11. Хроматография и хроматографические приборы. 29 декабря 2000 года приказом № 1148-в Высшей аттестационной комиссии министерства образования РФ был утвержден диссертационный совет Д 002.246.03 при Институте физической химии РАН, которому было разрешено принимать к защите диссертации и ходатайствовать о присуждении ученой степени доктора и кандидата наук по химическим и техническим наукам по специальности 05.11.11 «Хроматография и хроматографические приборы» в составе 18 человек.

В состав совета входили: Ларионов Олег Георгиевич (председатель совета) – д.х.н., профессор, зав. лаб. Института физической химии РАН, 05.11.11 (техн. науки); Даванков Вадим Александрович (заместитель председателя) – д.х.н., зав. лаб. Института элементоорганических соединений РАН, 05.11.11 (хим. науки); Коломиец Людмила Николаевна (ученый секретарь) – к.х.н., с.н.с. Института физической химии РАН, 05.11.11 (техн. науки). В совете Д 002.246.03 по специальности 05.11.11 «Хроматография и хроматографические приборы» прошли защиты 6 докторских и 16 кандидатских диссертаций:

12 октября 2007 г. приказом Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки разрешена деятельность совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.259.04 при Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН по специальности 05.11.11 «Хроматография и хроматографические приборы» (технические науки, химические науки) в составе 18 человек.

В состав совета входили: Буряк Алексей Константинович (председатель) – д.х.н, с.н.с., 05.11.11 (хим. науки); Даванков Вадим Александрович



(зам. председателя) – д.х.н., проф., 05.11.11 (хим. науки); Ларионов Олег Георгиевич (зам. председателя) – д.х.н., профессор, 05.11.11 (техн. науки); Коломиец Людмила Николаевна (ученый секретарь) – к.х.н., 05.11.11 (техн. науки). В совете Д 002.246.04 прошли защиты две докторские и 14 кандидатских диссертаций. В период 2001-2009 было защищено 8 докторских, 38 кандидатских по специальности 05.11.11 «Хроматография и хроматографические приборы».

В конце 2009 г. деятельность Диссертационного совета была прекращена в связи с реорганизацией Советов по защите диссертаций.

Итого за 19 лет, благодаря существованию специальностей «Хроматография» и «Хроматография и хроматографические приборы» были защищены 32 докторских и 66 кандидатских диссертаций и не только в вышеупомянутых диссертационных советах. При этом в последние 2 года соискатели защищали по 9 диссертаций в год. Всего в Каталоге авторефератов диссертаций РГБ имеется 1084 авторефератов, в названии которых есть слово «хроматография» или «хроматографический». При этом не все данные внесены, например, в списке РГБ авторефераты датированы с 1952 г. Однако первая кандидатская по хроматографии – «Хроматографический анализ катионов на пермутите», Т.Б. Гапон – ноябрь 1948 г., место защиты: химический факультет МГУ.

Таким образом, в ходе реорганизации работы ВАК были прекращена деятельность диссертационных советов по целому ряду специальностей, в это число, к сожалению, попала специальность «Хроматография и хроматографические приборы». Сообщество ученых хроматографистов считает целесообразным восстановить специальность. Ниже приведен для обсуждения проект паспорта.

### **Паспорт специальности «ХРОМАТОГРАФИЯ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ»**

Технические науки

2.6. Химические технологии, науки о материалах, металлургия

**Шифр специальности:**

2.6.19 Хроматография и хроматографические приборы

**Формула специальности:**

Хроматография — это междисциплинарная отрасль науки и техники, включающая в себя:

- 1) науку о межмолекулярных взаимодействиях при переносе молекул или частиц в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз;
- 2) процессы перераспределения веществ или частиц в сложной пространственно-вещественной динамической системе;
- 3) методы разделения компонентов смесей, базирующегося на свойствах веществ и особенностях используемых средств и процессов.

Хроматографические исследования и хроматографические процессы реализуются с помощью хроматографических приборов. Производство хроматографических приборов – это современная высокотехнологическая область приборостроения.

Разработка и производство высокоэффективных хроматографических материалов (хроматографических колонок, неподвижных фаз, сорбентов, мембран, пленок и т.п.) – неотъемлемая часть современного хроматографического приборостроения.

Хроматографические приборы включают в себя: устройства подачи подвижной фазы, с контролем стабильности потоков газов или жидкостей; устройства дозирования образцов (в том числе устройства подготовки проб); устройства, обеспечивающие разделение сложных смесей на компоненты (колоны, пластины, мембраны и т.п.); устройства термостатирования хроматографических процессов; детектирующие системы (включая масс-спектрометры), обеспечивающие высокочувствительную (селективную) регистрацию компонентов; системы автоматизации, включая управление такими приборами и связанными с ними технологическими процессами, а также обработку данных.

#### **Области исследования:**

1. Теория сорбционных и хроматографических процессов.
  2. Физико-химические основы хроматографического разделения. Методы расчета и оптимизации сорбционных и хроматографических процессов; лабораторные и укрупненные исследования равновесия, кинетики, динамики и других физико-химических параметров процессов на границах раздела фаз; селективность и эффективность разделения хроматографическими и электромиграционными методами; связь параметров удерживания со структурой молекул, с равновесными и кинетическими характеристиками систем.
  3. Разработка технологии синтеза и создание новых ионообменных и сорбционных материалов для промышленного и аналитического применения и фундаментальных исследований.
  4. Структура и свойства природных и синтетических ионообменных и сорбционных материалов, методы регулирования их свойств, новые варианты применения.
  5. Разработка специальных сорбентов, устройств и методов подготовки проб (включая офф- и онлайн дериватизацию, концентрирование и др.) для целей хроматографического или электромиграционного разделения.
  6. Технологии очистки и выделения целевых веществ при производстве фармпрепаратов, продуктов питания, в химическом, нефтехимическом, металлургическом и других производствах, с использованием сорбционных и хроматографических процессов.
-



7. Технологии переработки выбросов и отходов (в т.ч. опасных), технологических растворов, природных и сточных вод с целью их очистки и/или извлечения полезных компонентов с использованием сорбционных и хроматографических процессов.

8. Применение хроматографии (в том числе он-лайн) в фундаментальных и прикладных исследованиях в биологии и медицине: при изучении механизмов регуляции биологических процессов, метаболомике и фармакокинетических исследованиях, в клинической диагностике, гемосорбции, криминалистических и токсикологических исследованиях.

9. Применение хроматографии (в том числе он-лайн) в фундаментальных и прикладных исследованиях: в материаловедении, геологии и геологоразведке, исследованиях космоса и мирового океана, озер, рек, ледников.

10. Применение хроматографии (в том числе он-лайн) для контроля загрязнения/состава/качества сред и продукции: сельскохозяйственной, пищевой, биотехнологической и фармацевтической, химической, нефтехимической, объектов окружающей среды, контроля технологических процессов.

11. Математическое и программное обеспечение для хроматографической и хромато-спектральной идентификации веществ, хемометрики и обработки данных, для анализа больших данных, систем машинного обучения, управления базами данных и знаний в хроматографии и электромиграционных методах. Создание библиотек хроматографических параметров веществ, а также ПО для работы с ними. Математическое моделирование сорбционных и хроматографических процессов и приборов. Разработка программ-тренажеров для обучения хроматографии.

12. Совершенствование способов хроматографической и хромато-спектральной идентификации неизвестных веществ.

13. Метрологическое обеспечение хроматографических измерений, оптимизация метрологических характеристик приборов.

14. Развитие существующих и разработка новых хроматографических методов.

15. Портативные и специализированные приборы для хроматографии и электромиграционных методов.

16. Применение хроматографических приборов (в том числе он-лайн) для контроля и регулирования производственных процессов.

17. Приборы и устройства для проведения препаративных и промышленных сорбционных и хроматографических процессов.

18. Приборы, модули и устройства для аналитической хроматографии и капиллярной электрохроматографии.

19. Совершенствование существующих детектирующих систем и создание высокочувствительных и селективных детектирующих систем на новых физических принципах.



20. Разработка и внедрение нормативно-технических документов (в том числе ГОСТы, ОСТы, ТУ, МВИ, МУ, ПНДФ и др.) в области химического анализа и процессов с использованием хроматографии и электромиграционных методов.

21. Развитие хроматографии и расширение ее применения в радиохимии, радиационной химии, в производстве радиофармпрепаратов.

**Отрасли наук:**

технические науки

химические науки

физико-математические науки

Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Коломиец Л.Н.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.12

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/11929

### Квантово-химическое моделирование сорбционных взаимодействий энантиомеров гистидина с углеродной нанотрубкой

Елена Васильевна Бутырская<sup>1</sup>✉,

Динь Туан Ле<sup>2</sup>, Александр Анатольевич Волков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bev5105@yandex.ru ✉

<sup>2</sup>Ханойский педагогический университет 2, Ханой, Вьетнам

**Аннотация.** В настоящей работе исследован элементарный акт адсорбции мономеров и димеров энантиомеров гистидина на правовращающей модельной УНТ хиральности (7,6) из водного раствора методами квантовой химии для интерпретации изотермы адсорбции L- и D- гистидина на углеродных нанотрубках mkNANO MKN-SWCNT S1 и выявления механизма сорбционных взаимодействий сорбент-сорбат. Квантово-химическое моделирование структур проведено с привлечением программы GAUSSIAN 09 методом B3LYP/6-31G(d,p) GD3; для учета влияния среды использована модель поляризованного континуума Томаси (PCM). Результаты квантово-химического моделирования установили большее число точечных взаимодействий атомов азота и кислорода D- изомера с правовращающей УНТ, что обуславливает большую величину энергии адсорбции мономера и димера D- гистидина на УНТ по сравнению L- изомером. Показано, что энантиомеры закрепляются на нанотрубках, в основном, силами Ван-дер-Ваальса и  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействиями между имидазольным кольцом гистидина и углеродной нанотрубкой. Проведена оценка вклада в величину адсорбции  $\pi$ - $\pi$ - стэкинговых взаимодействий методами квантовой химии. На поверхности УНТ возможно формирование 4-х различных димеров L-аминокислоты: 2L1, 2L2, 2L3, 2L4 а также для D изомера: 2D1; 2D2; 2D3; 2D4. Результаты квантово-химического моделирования показали что наибольшую энергию адсорбции на УНТ имеют димеры 2L4 и 2D4. Методы квантовой химии также применены для расчета средней энергии межмолекулярных H связей в семи-, восьми-, тринадцатичастичном кластерах L-гистидина, а также в семи-и девятичастичном кластерах D-энантиомера. Расчет показал, что эта величина увеличивается с увеличением размера кластера. Это приводит к существенному вкладу водородной связи в понижение энергии сорбционной системы при адсорбции кластеров.

**Ключевые слова:** правовращающая углеродная нанотрубка, гистидин, квантовая химия, энергия адсорбции.

**Для цитирования:** Бутырская Е.В., Ле Д.Т., Волков А.А. Квантово-химическое моделирование сорбционных взаимодействий энантиомеров гистидина с углеродной нанотрубкой // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 11-22. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/11929>

Original article

### Quantum-chemical modeling of sorption interactions of histidine enantiomers with carbon nanotubes

Elena V. Butyrskaya<sup>1</sup>✉, Dinh Tuan Le<sup>2</sup>, Alexander A. Volkov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, bev5105@yandex.ru ✉

<sup>2</sup>Hanoi Pedagogical University 2, Hanoi, Vietnam

**Abstract.** In this study, the elementary act of adsorption of monomers and dimers of histidine enantiomers on a dextrorotatory model CNT-(7,6) chirality from an aqueous solution was studied using quantum chemistry methods to interpret the adsorption isotherm of L- and D-histidine on carbon nanotubes mkNANO MKN-

SWCNT S1 and identify the mechanism of sorption sorbent-sorbate interactions. Quantum chemical modelling of the structures was carried out using the GAUSSIAN 09 program by the B3LYP/6-31G(d,p) GD3 method; the influence of the environment was considered using the Tomasi polarization continuum model (PCM). The results of quantum chemical modelling have established a greater number of point interactions of nitrogen and oxygen atoms of the D-isomer with the dextrorotatory CNT, which determines the higher adsorption energy of the D-histidine monomer and dimer on the CNT compared to the L-isomer. It was shown that enantiomers are attached to nanotubes mainly by Van der Waals forces and  $\pi$ - $\pi$  interactions between the imidazole ring of histidine and the carbon nanotube. The contribution of  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions to the adsorption value was assessed using quantum chemistry methods. The formation of 4 different L-amino acid dimers is possible on the surface of CNT: 2L1, 2L2, 2L3, 2L4 and also for the D isomer: 2D1; 2D2; 2D3; 2D4. The results of quantum chemical modelling showed that dimers 2L4 and 2D4 have the highest adsorption energy on CNT. Quantum chemistry methods were also used to calculate the average energy of intermolecular H bonds in seven, eight, and thirteen particle clusters of L-histidine, as well as in seven- and nine-particle clusters of the D-enantiomer. The calculation showed that this value increases with increasing cluster size. This led to a significant contribution of hydrogen bonding to the decrease in the energy of the sorption system during cluster adsorption.

**Keywords:** dextrorotatory carbon nanotube, histidine, quantum chemistry, adsorption energy.

**For citation:** Butyrskaya E.V., Le D.T., Volkov A.A. Quantum-chemical modeling of sorption interactions of histidine enantiomers with carbon nanotubes. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 11-22. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/11929>

## Введение

Уникальные механические, электронные, оптические и сорбционные свойства углеродных нанотрубок (УНТ) обуславливают перспективность их применения во многих областях, включая нанотехнологию, биомедицину и хроматографическое разделение веществ [1-9]. В частности, одной из проблем биомедицины является поиск эффективных сорбентов для разделения энантиомеров биологически активных веществ, что является крайне значимым для развития методов получения гомохиральных лекарственных препаратов [10]. Необходимость их производства обусловлена различным характером взаимодействия L- и D-изомеров с живыми организмами, однако существующие хиральные сорбенты далеко не для всех энантиомеров обеспечивают достаточную величину коэффициентов разделения [11].

Высокие сорбционные свойства и свойство хиральности УНТ делают их перспективными сорбентами для энантиоразделения. Хиральность УНТ определяется их индексами хиральности ( $m$ ,  $n$ ), численные значения которых определяются способом «сворачивания» графеновой плоскости в нанотрубку [12]. Если

$m=n$ , или один из индексов равен 0, то углеродные трубки ахиральны, это трубки типа «кресло» ( $m=n$ , рис.1а) и трубки типа «зигзаг» (один из индексов равен 0, рис. 1б). В этом случае структура УНТ совпадает со структурой ее зеркального отображения. Во всех остальных случаях ( $m \neq n$ ,  $m \neq 0$ ,  $n \neq 0$ ) углеродная нанотрубка является хиральной (ее структура не совпадает со своим зеркальным отображением), рис. 1в, г. [13-15]. Если  $m > n$ , то нанотрубка является правовращающей, если  $m < n$  – левовращающей. При сорбционном взаимодействии с хиральной молекулой вся нанотрубка является хиральным селектором.

В ахиральной среде два энантиомера имеют одинаковые химические и физические свойства, кроме способности вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света на одинаковую величину угла, но в противоположных направлениях [16]. Вследствие этого они различным образом взаимодействуют только с хиральными сорбентами, поэтому одним из наиболее часто применяемых методов разделения энантиомеров является хиральная хроматография [17,18].

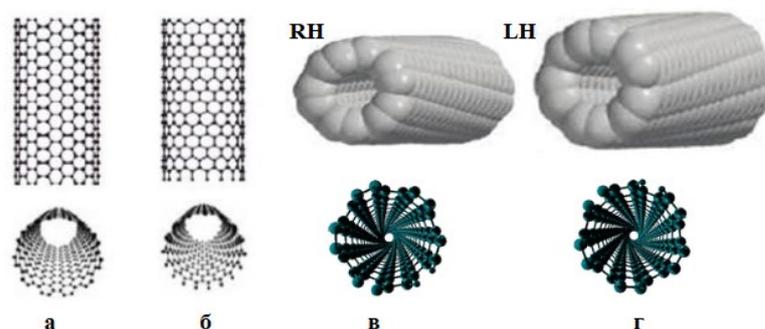


Рис. 1. Типы углеродных нанотрубок – ахиральные (кресельные (а), зигзагообразные (б)) и хиральные (правовращающие (RH) (в), левовращающие (LH) (г)).

Fig. 1. Types of carbon nanotubes – achiral (chair (a), zigzag (b)) and chiral (right-handed (RH) (c), left-handed (LH) (d)).

Первой и практически единственной теорией хирального распознавания является модель трехточечного взаимодействия [19,20]. Согласно этой модели, наиболее комплементарный селектору энантиомер имеет три одновременно осуществляющихся контакта между энантиомером и селектором, в то время как менее комплементарному энантиомеру соответствует только два сайта связывания [19, 20].

Хиральные углеродные нанотрубки различным образом взаимодействуют с L- и D-изомерами, вследствие чего используются для эффективного энантиоразделения [21,22]. Однако в литературе нет четкого понимания природы различного сродства данного наносорбента к оптическим изомерам, а также отсутствует понимание сущности элементарного акта и механизма взаимодействия нанотрубок с энантиомерами на микроуровне; теория энантиоразделения на УНТ разработана недостаточно. Исследования взаимодействий АК с УНТ выполняются в основном методами квантовой химии, молекулярной динамики, а также физико-химическими методами [23-32]. Несмотря на большое число исследований взаимодействий АК и УНТ в литературе практически не представлены результаты квантово-химических расчетов взаимодействий с УНТ энантиомеров за исключением наших работ [31, 32].

В наших работах [30-32] получены изотермы адсорбции L- и D-гистидина на углеродных нанотрубках mkNANO MKN-SWCNT S1, анализ которых показал более высокую комплементарность УНТ к D гистидину [30-32]. В работе [33] аналогичный вывод сделан при анализе взаимодействий L- и D-аланина с УНТ. В настоящей работе представлены результаты квантово-химического моделирования элементарного акта адсорбции мономеров и димеров энантиомеров гистидина на правовращающей модельной УНТ из водного раствора методами квантовой химии и на основе анализа результатов выявлен механизм сорбционных взаимодействий сорбент-сорбат.

### Экспериментальная часть

Квантово-химическое моделирование структур проведено с привлечением программы GAUSSIAN 09 методом B3LYP/6-31G(d,p) GD3; для учета влияния среды использована модель поляризованного континуума Томаси (PCM). Все расчеты проведены на модельной правовращающей УНТ хиральности (7.6) длиной 16 Å.

Структура модельной правовращающей трубки, использованной в расчетах, представлена на рис. 2. Сорбционными областями трубки для фиксации аминокислоты являются внешняя боковая поверхность трубки, ее концы и внутренняя

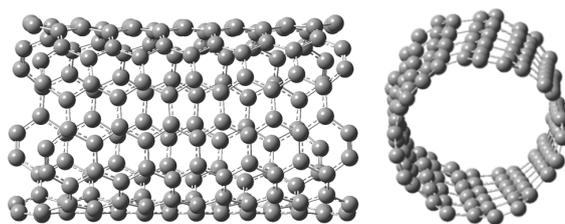


Рис. 2. Оптимизированная структура модельной правовращающей УНТ, использованная для исследования сорбционных взаимодействий L- и D- гистидина и нанотрубки в водном растворе

Fig. 2. Optimised structure of a model dextrorotatory CNT used to study the sorption interactions of L- and D-histidine and nanotubes in an aqueous solution

поверхность нанотрубки (при проникновении аминокислоты внутрь УНТ).

Исследование сорбционных взаимодействий аминокислоты и нанотрубки проведено только для расположения аминокислоты на ее внешней боковой поверхности в силу следующих причин. При построении экспериментальных изотерм в наших работах [30-33] использовались одностенные УНТ с закрытыми концами, поэтому проникновение внутрь УНТ через ее концы не имеет места. Реальные УНТ имеют различные дефекты, однако их концентрация, по данным литературы, очень мала [34]. Кроме того, анализ показал, что размер цвиттер-иона гистидина больше размеров отверстий на поверхности УНТ, образующихся вследствие образования дефектов. Поэтому проникновение аминокислоты внутрь трубки через данные дефекты затруднено по стерическим соображениям. Следовательно адсорбция гистидина на внутренней боковой поверхности не имеет место в условиях эксперимента.

Адсорбция на концах трубки не будет давать значительного вклада в изотерму, поскольку отношение длины УНТ к их диаметру, называемое аспектным отношением, достаточно велико (~1000); поэтому количество сорбата, абсорбированного на концах УНТ, будет значительно меньше, чем на боковой поверхности, и его вклад в адсорбцию незначителен. Таким образом, достаточно выполнить оптимизацию структуры системы аминокислота – нанотрубка при расположении

аминокислоты на внешней боковой поверхности УНТ.

Трубки, использованные в эксперименте, имели закрытые концы, однако модельная трубка для изучения адсорбции цвиттер-иона аминокислоты имеет открытые концы (рис. 2). Это обусловлено сложностью закрытия концов УНТ при проведении моделирования, и незначительным вкладом адсорбции аминокислоты на концах трубок в изотерму вследствие вышесказанного.

### Обсуждение результатов

Оптимизированные структуры биполярных ионов гистидина на УНТ представлены на рисунке 3. В таблице 1 приведены характеристики систем УНТ – биполярный ион L- (D-) гистидина, рассчитанные методами квантовой химии. Установлено, что энергия адсорбции индивидуального цвиттер-иона D-гистидина на УНТ лишь незначительно выше энергии адсорбции L-изомера. Поэтому при условии формирования на боковой поверхности УНТ только мономеров гистидина энантиоразделение не будет достаточно эффективным процессом. Тем не менее,  $E_{ads}(L) < E_{ads}(D)$ , что обусловлено большим числом близких контактов углеродной нанотрубки с атомами O и N аминокислоты и соответствует теории трехточечного взаимодействия. Действительно, расстояния от атомов N и O аминокислоты до ближайшего атома C трубки (4 столбец, табл. 1) для D изомера меньше, чем для L изомера, что обуславливает

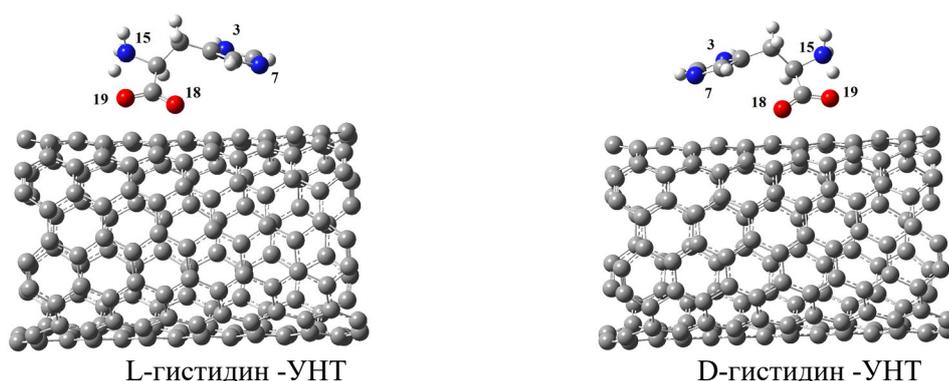


Рис. 3. Оптимизированные структуры индивидуальных биполярных ионов гистидина на боковой поверхности правовращающей углеродной нанотрубки (7,6) в водной среде  
 Fig. 3. Optimised structures of individual bipolar histidine ions on the lateral surface of a dextrorotatory carbon nanotube (7,6) in an aqueous environment

Таблица 1. Энергетические и структурные характеристики оптимизированной системы биполярный ион аминокислоты (АК) – модельная УНТ  
 Table 1. Energy and structural characteristics of the optimized bipolar amino acid (AA) ion system – model CNT

№	Энергия адсорбции, $E_{\text{адс}}$ кДж /моль	$R_{\text{CO18}}, R_{\text{CO19}}, \text{Å}$ , Расстояния от атомов О (АК) до ближайшего атома С (УНТ)	$R_{\text{CN3}}, R_{\text{CN7}}, R_{\text{CN15}}, \text{Å}$ . Расстояния от атомов N (АК) до ближайшего атома С (УНТ)	Расстояние между центрами масс АК и УНТ $R, \text{Å}$	Дипольный момент, $d, D$
L изомер					
1	60.12	3.24 3.31	3.75 3.29 3.97	7.91	24.99
D изомер					
2	60.29	3.22 3.41	3.69 3.23 3.80	7.69	15.06

большую энергию взаимодействия сорбент – сорбат, поэтому нанотрубка более комплементарна к D-изомеру и энантиоразделение возможно. При этом L-изомер находится дальше от поверхности УНТ, что следует из сравнения расстояний  $R$  между центрами масс сорбента и сорбата,  $R=7.91 \text{ Å}$  (L) и  $R=7.69 \text{ Å}$  (D). Хиральность правовращающей УНТ, обусловленная ее «закрученностью», рис. 1в, рис. 2, соответствует хиральности D-изомера, что позволяет D-аминокислоте иметь большее число точечных контактов с УНТ.

Анализ расстояний от атомов О и N оптических изомеров до атомов углерода УНТ также позволяет сделать вывод об

отсутствии ковалентных связей сорбент – сорбат. Действительно, по данным расчета, данные расстояния превышают  $3.2 \text{ Å}$  (табл. 1), что существенно больше длин ковалентных связей С-О ( $1.43 \text{ Å}$ ) и С-N ( $1.47 \text{ Å}$ ), имеющих место в химических соединениях. Сумма зарядов на атомах по Малликену на УНТ и аминокислоте в оптимизированных структурах сорбционных комплексов близка к нулю. Это позволяет сделать вывод, что при адсорбции перенос заряда с сорбата на сорбент практически отсутствует, а электростатические взаимодействия, обусловленных переносом заряда не имеют места. Таким образом, наиболее вероятным механизмом закрепления аминокислоты на УНТ

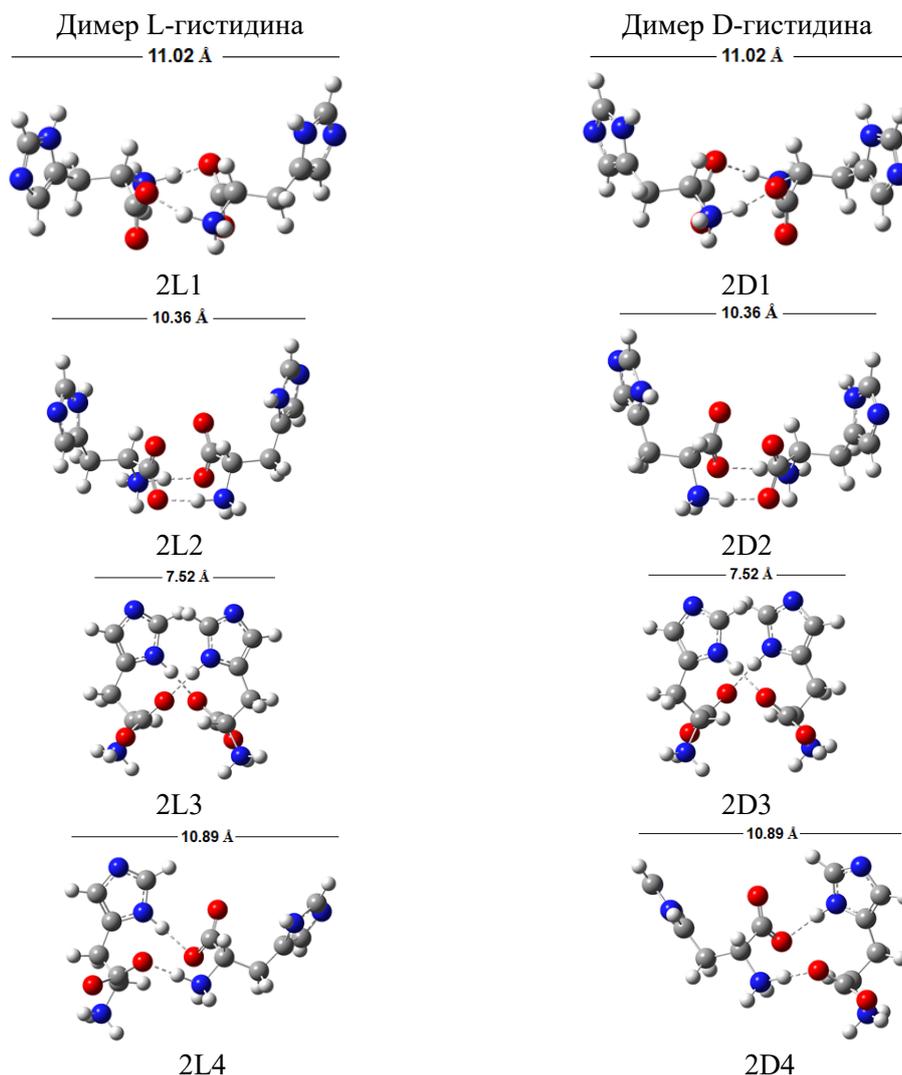


Рис. 4. Структурные изомеры димеров L и D-гистидина  
 Fig. 4. Structural isomers of L and D-histidine dimers

являются силы Ван-дер-Ваальса и стэкинг ( $\pi$ - $\pi$ -взаимодействия между имидазольным кольцом гистидина и углеродной нанотрубкой).

Проведена оценка вклада в величину адсорбции  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг-взаимодействий методами квантовой химии. Для этого алифатическая часть аминокислоты в оптимизированных структурах, представленных на рис. 3, заменена атомом Н (расположение кольца относительно УНТ оставлено таким же как в оптимизированной структуре, рис. 3). Для полученной модельной системы методами квантовой химии рассчитана энергия взаимодействия УНТ с имидазолом ( $E_{\text{УНТ-}}$

имидазол). В результате расчета получено:  $E_{\text{УНТ-имидазол}}=27.01$  кДж/моль (44.9% от энергии адсорбции) для L-гистидина и  $E_{\text{УНТ-имидазол}}=26.70$  кДж/моль (44.3% от энергии адсорбции) для D-гистидина. Различие в данных энергиях обусловлено различиями во взаимном расположении ахирального имидазола относительно УНТ в оптимизированных системах УНТ – L-гистидин и УНТ – D-гистидин (рис. 4-5).

Вклад в энергию адсорбции стэкинг-эффекта D-структуры меньше, чем для L-структуры, и, таким образом,  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействия снижают селективные свойства УНТ хиральности (7,6) к энантиомерам гистидина.

Таблица 2. Энергия адсорбции димеров 2L1, 2L2, 2L3, 2L4, 2D1, 2D2, 2D3 и 2D4 ( $E_{\text{адс}}$ ) и расстояние между их центрами масс и УНТ (R)

Table 2. Adsorption energy of dimers 2L1, 2L2, 2L3, 2L4, 2D1, 2D2, 2D3, and 2D4 ( $E_{\text{ads}}$ ) and the distance between their centres of mass and the CNT (R)

Димер	2L1	2L2	2L3	2L4	2D1	2D2	2D3	2D4
$E_{\text{адс}}$ , кДж/моль	83.43	68.07	44.69	98.53	89.49	69.33	52.13	113.38
R, Å	9.49	9.54	10.30	8.96	9.35	9.52	9.91	8.86

**L-гистидин**

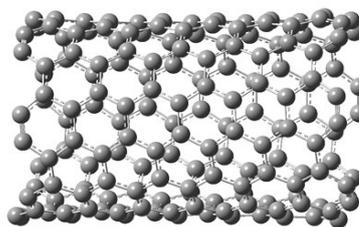
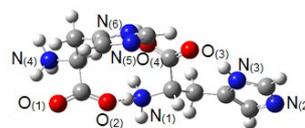
$$R_{O(1)C} = 3.11 \text{ \AA}; R_{O(2)C} = 3.14 \text{ \AA};$$

$$R_{O(3)C} = 5.15 \text{ \AA}; R_{O(4)C} = 5.56 \text{ \AA};$$

$$R_{N(1)C} = 3.37 \text{ \AA}; R_{N(2)C} = 3.24 \text{ \AA};$$

$$R_{N(3)C} = 3.94 \text{ \AA}; R_{N(4)C} = 4.68 \text{ \AA};$$

$$R_{N(5)C} = 6.20 \text{ \AA}; R_{N(6)C} = 6.19 \text{ \AA};$$



**D-гистидин**

$$R_{O(1)C} = 2.98 \text{ \AA}; R_{O(2)C} = 3.20 \text{ \AA};$$

$$R_{O(3)C} = 3.61 \text{ \AA}; R_{O(4)C} = 5.02 \text{ \AA};$$

$$R_{N(1)C} = 4.04 \text{ \AA}; R_{N(2)C} = 3.54 \text{ \AA};$$

$$R_{N(3)C} = 3.35 \text{ \AA}; R_{N(4)C} = 5.55 \text{ \AA};$$

$$R_{N(5)C} = 4.13 \text{ \AA}; R_{N(6)C} = 3.11 \text{ \AA};$$

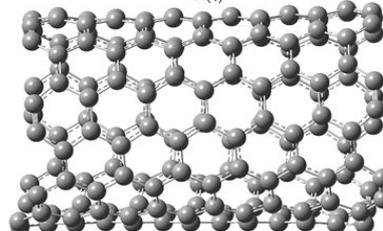
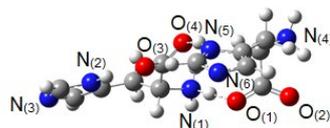


Рис. 5. Оптимизированные структуры систем 2L4 - и 2D4 - УНТ хиральности (7,6) с наибольшей энергией адсорбции и наименьшие расстояния от атомов азота и кислорода аминокислоты до атома С трубки

Fig. 5. Optimised structures of 2L4 - and 2D4 - CNT (7,6) chirality with the highest adsorption energy and the shortest distances from the nitrogen and oxygen atoms of the amino acid to the C atom of the tube

В работе [31] установлено, что L-гистидин сорбируется на УНТ в виде биполярных ионов и кластеров из 13 (25°C), 8 (35°C) и 7 (45, 55, 65, 80°C) молекул, а D-гистидин – в виде биполярных ионов и кластеров из 9 (25°C) и 7 (35, 45, 55, 65, 80°C) молекул. Первым этапом образования кластеров сорбата на поверхности УНТ является адсорбция димеров аминокислоты, поэтому было выполнено моделирование систем димер гистидина – нанотрубка. Расчет показал, что карбоксильная группа одного биполярного

иона L-гистидина может образовать водородные связи с различными NH группами второго биполярного иона L-гистидина, вследствие чего на поверхности УНТ возможно формирование 4-х различных димеров L-аминокислоты, обозначим их как 2L1, 2L2, 2L3, 2L4. Аналогично, на УНТ могут быть сформированы четыре различных димера D-аминокислоты, обозначим их как 2D1; 2D2; 2D3; 2D4. Их структуры представлены на рисунке 4.

Энергии адсорбции данных димеров на УНТ хиральности (7,6), а также соответствующие расстояния между центрами масс сорбента и сорбата R представлены в таблице 2. Расчет показывает, что различие в энергиях адсорбции соответствующих димеров L- и D-гистидина увеличилось по сравнению результатами для мономера (табл.1), что обусловлено увеличением числа близких точечных контактов атомов O и N аминокислоты с ближайшим к ним атомом углерода УНТ при димеризации.

Анализ оптимизированных структур 2L4 (2D4) – УНТ (рис. 5) показывает, что атомы O и N димера 2D4 имеют большее число точечных контактов с УНТ по сравнению с димером 2L4, что обуславливает большую комплементарность УНТ к D-изомеру и согласуется с теорией «трехточечного взаимодействия». При этом число точечных контактов димеров с УНТ больше, чем для мономеров с УНТ, что приводит к большему различию энергий взаимодействия в системах 2D4 - УНТ и 2L4 - УНТ (табл. 2) по сравнению с системами D - УНТ и L - УНТ (табл. 1). Таким образом, энантиоразделение при адсорбции кластеров будет более эффективным по сравнению с адсорбцией мономеров. Анализ оптимизированных структур аналогично анализу адсорбции мономеров гистидина на УНТ, приводит к выводу, что димеры L- и D-гистидина сорбируются на УНТ посредством сил Ван-дер-Ваальса и стэкингов-взаимодействий ( $\pi$ - $\pi$ ) между имидазольным кольцом гистидина и УНТ.

Поскольку энергии адсорбции димеров 2L4 и 2D4 на УНТ имеют наибольшие значения, а расстояния R между центрами масс данных димеров и УНТ достигают наименьшего значения, данные димеры будут преимущественно формироваться на УНТ, а кластеры аминокислоты будут образовываться путем присоединения к ним новых цвиттер-ионов гистидина.

Аналогично случаю адсорбции мономеров на УНТ проведена оценка вклада  $\pi$ - $\pi$  стэкинговых взаимодействий в величину энергии адсорбции димеров на УНТ методами квантовой химии. Энергия взаимодействия двух имидазольных колец с УНТ составила 28.67 кДж/моль для L-структуры и 49.70 кДж/моль для D-структуры, что составляет  $\sim 29.1\%$  (L) и  $\sim 43.8\%$  (D) от величины энергии адсорбции.

Адсорбция димеров на УНТ и дальнейшее формирование на их основе кластеров сорбата на сорбенте является более энергетически выгодным по сравнению с адсорбцией индивидуальных молекул, что обусловлено дополнительным вкладом сорбат-сорбатных взаимодействий в понижение энергии системы при адсорбции кластеров [31,32,35,36]. Для оценки этого вклада выполнено компьютерное моделирование кластеров L- и D-гистидина в водном растворе, показавшее, что биполярные ионы в кластерах сорбата связаны водородными связями. Методы квантовой химии также применены для расчета средней энергии межмолекулярных H связей в данных системах. Известно, что методы квантовой химии не позволяют выполнить расчет абсолютных значений энергии с хорошей точностью, и корректными являются относительные значения энергий. Поэтому рассчитанные величины энергий H связей были умножены на поправочный коэффициент  $k = E_{\text{H димер}}^{\text{exp}} / E_{\text{H димер}}^{\text{calc}}$ , где  $E_{\text{H димер}}^{\text{exp}}$  и  $E_{\text{H димер}}^{\text{calc}}$  – экспериментальное и рассчитанное значение энергии водородной связи в димере гидразина. В табл. 3 представлены средние значения энергий водородных связей и числа водородных мостиков в димере 2L4 и кластерах из 7, 8, 13 молекул – для L-гистидина, а также в димере 2D4 и кластерах из 7, 9 молекул – для D-изомера, формирующихся на поверхности УНТ [31].

Согласно данным табл. 3 средняя энергия водородной связи увеличивается

Таблица 3. Средняя энергия водородной связи в димере и кластерах энантиомеров гистидина  
Table 3. Average hydrogen bond energy in the dimer and clusters of histidine enantiomers

Система		Число Н-связей	Средняя энергия Н-связи ( $E_H$ ), кДж/моль
L-изомер	Димер 2L4	2	16.74
	7-кластер	12	19.65
	8-кластер	14	19.92
	13-кластер	24	23.50
D-изомер	Димер 2D4	2	16.74
	7-кластер	12	20.02
	9-кластер	16	22.17

с увеличением размера кластера, что объясняется кооперативным эффектом. Вследствие этого образование больших кластеров на поверхности УНТ энергетически более выгодно, чем адсорбция мономеров или формирование нескольких димеров адсорбата из этих же молекул. Расчет показывает, что сорбат-сорбатные взаимодействия (в данном случае Н-связь) вносят существенный вклад в понижение энергии сорбционной системы при адсорбции кластеров. Кроме того, при адсорбции кластеров увеличивается число близких точечных контактов атомов О и N аминокислоты с УНТ.

### Заключение

В работе представлены результаты квантово-химического моделирования сорбционных взаимодействий оптических изомеров гистидина на поверхности правовращающей УНТ хиральности (7,6) и проанализированы оптимизированные структуры систем мономер L-(D)-гистидина – УНТ, димер L- (D-) гистидина – УНТ. Установлено большее число точечных взаимодействий атомов азота и

### Список литературы/References

1. Qiu H., Yang J., Structure and properties of carbon nanotubes, *Industrial applications of carbon nanotubes*, 2017; 47-69. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-41481-4.00002-2>
2. Herrera-Herrera A.V., Gonzalez-Curbelo M.B., Hernandez-Borges J., Rodriguez-Delgado M.B., Carbon nanotubes applications in separation science: A review,

кислорода D-изомера с правовращающей УНТ, что обуславливает большую величину энергии адсорбции мономера, а также димера D- гистидина на УНТ по сравнению L-изомером и соответствует теории трехточечного взаимодействия. Показано, что энантиомеры закрепляются на нанотрубках, в основном, силами Ван-дер-Ваальса и  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействиями между имидазольным кольцом гистидина и углеродной нанотрубкой.

Выполнен расчет структуры и энергий водородных связей в кластерах L-гистидина и D-энантиомера в водном растворе, формирующихся на поверхности нанотрубки при адсорбции. Расчет показал, что водородная связь между молекулами сорбата вносит существенный вклад в понижение энергии сорбционной системы при адсорбции кластеров.

### 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.

*Anal. Chim. Acta.*, 2012; 734: 1-30. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.04.035>

3. Andre C., Gharbi T., Guillaume Y.C., A novel stationary phase based on amino derivatized nanotubes for HPLC separations: Theoretical and practical aspects, *J. Sep. Sci.*, 2009; 32(10): 1757-1764. <https://doi.org/10.1002/jssc.200800683>



4. Chang C., Wang X., Bai Y., Liu H., Applications of nanomaterials in enantioseparation and related techniques, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2012; 39: 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.07.002>
5. Socas-Rodriguez B., Herrera-Herrera A.V., Asensio-Ramos M., Hernandez-Borges J., Recent applications of carbon nanotube sorbents in analytical chemistry, *J. Chromatogr. A.*, 2014; 1357: 110-146. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.05.035>
6. De Volder M.F.L., Tawfick S.H., Baughman R.H., Hart A.J., Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications, *Science*, 2013; 339(6119): 535-539. <https://doi.org/10.1126/science.1222453>
7. Speltini A., Merli D., Profumo A., Analytical application of carbon nanotubes, fullerenes and nanodiamonds in nanomaterials-based chromatographic stationary phases: A review, *Anal. Chim. Acta.*, 2013; 783: 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.03.041>
8. Zhang M., Qiu H., Progress in stationary phases modified with carbonaceous nanomaterials for high-performance liquid chromatography, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2015; 65: 107-121. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.008>
9. Speltini A., Merli D., Dondi D., Paganini G., Profumo A. Improving selectivity in gas chromatography by using chemically modified multi-walled carbon nanotubes as stationary phase, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012; 403(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5606-y>
10. Nguyen L.A., He H., Pham H.C. Chiral drugs: An overview, *Int. J. Biomed. Sci.*, 2006; 2(2): 85-100.
11. Ankur G., Nirmal M., Surajit K., Harsh R., Nai-Tzu C., Guan-Yu Z., Enantiomeric Recognition and Separation by Chiral Nanoparticles, *Molecules*, 2019; 24(1007): 1-31. <https://doi.org/10.3390/molecules24061007>
12. D'yachkov P.N. Uglerodnye nanotrubki. Stroenie, svoistva, primeneniya, BINOM, Laboratoriya znanii, 2006, 293 p. (In Russ.)
13. Dukovic G., Balaz M., Doak P., Berova N.D., Zheng M., Mclean R.S., Brus L.E., Racemic single-walled carbon nanotubes exhibit circular dichroism when wrapped with DNA, *Journal of the American Chemical Society*, 2006; 128(28): 9004-9005. <https://doi.org/10.1021/ja062095w>
14. Akazaki K., Toshimitsu F., Ozawa H., Fujigaya T., Nakashima N., Recognition and one-pot extraction of right- and left-handed semiconducting single-walled carbon nanotube enantiomers using fluorene-bis(phenanthroline) chiral copolymers, *Journal of the American Chemical Society*, 2012; 134(30): 12700-12707. <https://doi.org/10.1021/ja304244g>
15. Saito R., Jorio A., Hafner J.H., Lieber C.M., Hunter M., McClure T., Dresselhaus G., Dresselhaus M.S., Chirality-dependent G-band Raman intensity of carbon nanotubes, *Physical Review B*, 2001; 64(8): 085312. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.64.085312>
16. Reutov O.A., Kurts A.L., Butin K.P. *Organicheskaya khimiya*. M., 1999, pt. 2, ch. 8, 624 p. (In Russ.)
17. Davankov V.A., Navratil Dzh., Uoltol Kh., *Ligandobmennaya khromatografiya*, Per. s angl. M., Mir, 1990, 294 p. (In Russ.)
18. Shpigun O.A., Anan'eva I.A., Budanova N.Yu., Shapovalova E.N., Ispol'zovanie tsiklodekstrinov dlya razdeleniya enantiomerov, *Uspekhi khimii*, 2003; 72(12): 1167-1189. <https://doi.org/10.1070/RC2003v072n12ABEH000817>
19. Dalgliesh C.E. The optical resolution of aromatic amino-acids on paper chromatograms, *J. Chem. Soc.*, 1952; 137: 3940-3952.
20. Alain B., Chiral Recognition Mechanisms, *Analytical chemistry*, 2006; 2093-2099.
21. Ayman L.H., Nenad N., William A.M., Ashraf G., Application of Carbon Nanotubes in Chiral and Achiral Separations of Pharmaceuticals, Biologics and Chemicals, *Nanomaterials*, 2017; 7(186): 1-32. <https://doi.org/10.3390/nano7070186>
22. Ahmed M., Yajadda M.M.A., Han Z.J., Su D., Wang G., Ostrikov K.K., Ghanem A., Single-walled carbon nanotube-



- based polymer monoliths for the enantioselective nano-liquid chromatographic separation of racemic pharmaceuticals, *Journal of Chromatography A*, 2014; 1360: 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.052>
23. Leon A., Jalbout A.F., Basiuk V.A., SWNT-amino acid interactions: A theoretical study, *Chem. Phys. Lett.*, 2008; 457: 185-190. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2008.03.079>
24. Vardanega D., Picaud F., Detection of amino acids encapsulation and adsorption with dielectric carbon nanotube, *J. Biotechnology*, 2009; 144(2): 96-101. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.08.016>
25. Ganji M.D., Density Functional Theory Based Treatment of Amino Acids Adsorption on Single-Walled Carbon Nanotubes, *Diamond & Related Materials*, 2009; 18(4): 662-668. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2008.11.021>
26. Nechaeva L.S., Butyrskaya E.V., Zapryagaev S.A., Computer simulation of size effects and adsorption properties of one-wall carbon nanotubes (6,6), *Russian Journal of General Chemistry*, 2016; 86(7): 1208-1215. (In Russ.)
27. Butyrskaya E.V., Zapryagaev S.A., Nechaeva L.S., Karpushin A.A., Izmailova E.A. Vliyanie metoda i bazisa rascheta na strukturu i elektricheskie svoystva uglerodnykh nanotrubok (4,4) razlichnoi dliny s otkrytymi kontsami, *Zhurnal strukturnoi khimii*, 2016; 57(4): 688-696. <https://doi.org/10.15372/JSC20160403>
28. Butyrskaya E., Zapryagaev S., Izmailova E., Nechaeva L., Sorption Interactions between L/D-Alanine and Carbon Nanotubes in Aqueous Solutions, *J. Phys. Chem. C*, 2017; 121(37): 20524-20531. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b06849>
29. Nechaeva L.S., Butyrskaya E.V., Zapryagaev S.A., Komp'yuternoe modelirovanie sorbtsii aminokislot na uglerodnykh nanotrubkakh, *Zhurnal strukturnoi khimii*, 2017; 58(2): 233-241. <https://doi.org/10.15372/JSC20170201> (In Russ.)
30. Le D.T., Butyrskaya E.V., Eliseeva T.V., Sorption interaction between carbon nanotubes and histidine enantiomers in aqueous solutions, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2021; 95(11): 2280-2286. DOI: 10.31857/S004445372111011X
31. Le D.T., Butyrskaya E.V., Eliseeva T.V., Cluster Adsorption of L-Histidine on Carbon Nanotubes in Aqueous Solutions at Different Temperatures, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2022; 96(8): 1719-1723. <https://doi.org/10.31857/S004445372208012X>
32. Le D.T., Butyrskaya E.V., Volkov A.A., Gneushev A.S., Study of adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes in aqueous solution based on different adsorption models, *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*, 2022; 22(3): 235-242. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9330>. (In Russ.)
33. Butyrskaya E.V., Izmailova E.A., Le D.T., Understanding structure of alanine enantiomers on carbon nanotubes in aqueous solutions, *Journal of Molecular Structure*, 2022; 1259: 132616. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132616>
34. Collins P.G., Defects and disorder in carbon nanotubes, University of California at Irvine, Irvine, USA, 2010, 73 p.
35. Butyrskaya E.V., Zapryagaev S.A., Izmailova E.A., Cooperative model of the histidine and alanine adsorption on single-walled carbon nanotubes, *Carbon*, 2019; 143: 276-287. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.10.086>
36. Butyrskaya E.V., Single-layer cluster adsorption model and its application for the estimation of the CO<sub>2</sub> structure on metal-organic frameworks, *Materials Today Communications*, 2022; 33: 104327. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104327>



### **Информация об авторах / Information about the authors**

**Е.В. Бутырская** – проф. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Ле Динь Туан** – кафедра неорганической химии, Химический Факультет, Ханойский педагогический университет 2, Ханой, Вьетнам

**А.А. Волков** – студент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**E.V. Butyrskaya** – Ph.D. (Chem.), Prof. department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, E-mail: [bev5105@yandex.ru](mailto:bev5105@yandex.ru)

**Le Dinh Tuan** – Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Hanoi Pedagogical University 2, Hanoi, Vietnam, E-mail: [ledinh tuan@hpu2.edu.vn](mailto:ledinh tuan@hpu2.edu.vn)

**A.A. Volkov** – Student, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

*Статья поступила в редакцию 26.07.2023; одобрена после рецензирования 16.11.2023; принята к публикации 29.11.2023.*

*The article was submitted 26.07.2023; approved after reviewing 16.11.2023; accepted for publication 29.11.2023.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.12

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/11930

### **Кластерная адсорбция энантиомеров гистидина на углеродных нанотрубках из водных растворов**

**Елена Васильевна Бутырская<sup>1</sup>**

**Динь Туан Ле<sup>2</sup>, Александр Анатольевич Волков<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bev5105@yandex.ru

<sup>2</sup>Ханойский педагогический университет 2, Ханой, Вьетнам

**Аннотация.** Работа посвящена анализу изотерм адсорбции энантиомеров гистидина на углеродных нанотрубках mkNANO MKN-SWCNT S1 из водных растворов в интервале температур 25-80°C. В качестве аминокислот использованы энантиомеры гистидина производителя Sigma Aldrich, в качестве адсорбента – углеродные нанотрубки марки mkNANO MKN-SWCNT S1 (Канада). Экспериментальные данные, полученные при построении изотерм, использованы для расчета коэффициентов разделения энантиомеров на УНТ, значение которых является более высоким, чем для других сорбентов. Интерпретация изотерм выполнена на основе модели кластерной адсорбции, обеспечивающей очень хорошее согласование теории и эксперимента ( $R^2=0.994-0.999$ ) и показавшей, что L- и D-гистидин сорбируются на поверхности нанотрубки в форме мономеров и кластеров. На изотермах адсорбции выделены три характерные области: - область концентраций, в которой на поверхности нанотрубки закрепляются только мономеры сорбата; - область концентраций, в которой молекулы сорбата закрепляются на нанотрубке только в форме кластеров; - область концентраций, в которой на поверхности сорбента присутствуют мономеры и кластеры. Проанализирована зависимость данных областей изотермы от температуры.

**Ключевые слова:** адсорбция, энантиомеры гистидина, углеродные нанотрубки, температурная зависимость.

**Для цитирования:** Бутырская Е.В., Ле Д.Т., Волков А.А. Кластерная адсорбция энантиомеров гистидина на углеродных нанотрубках из водных растворов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 23-33. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/11930>

Original article

### **Cluster adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes from aqueous solutions**

**Elena V. Butyrskaya<sup>1</sup>, Dinh Tuan Le<sup>2</sup>, Alexander A. Volkov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, bev5105@yandex.ru

<sup>2</sup>Hanoi Pedagogical University 2, Hanoi, Vietnam

**Abstract.** The study is devoted to the analysis of adsorption isotherms of histidine enantiomers on carbon nanotubes mkNANO MKN-SWCNT S1 from aqueous solutions in the temperature range 25-80°C. Histidine enantiomers from Sigma Aldrich were used as amino acids, and mkNANO MKN-SWCNT S1 carbon nanotubes (Canada) were used as an adsorbent. Experimental data obtained by the construction of isotherms, were used to calculate the separation coefficients of enantiomers on CNTs, the values of separation coefficients were higher than for other sorbents. The interpretation of the isotherms was based on the cluster adsorption model, providing very good agreement between theory and experiment ( $R^2=0.994-0.999$ ), which showed that L- and



D-histidine were sorbed on the surface of a nanotube in the form of monomers and clusters. Three characteristic regions were identified on the adsorption isotherms: concentration range in which only sorbate monomers were fixed on the surface of the nanotube; concentration range in which sorbate molecules were fixed on the nanotube only in the form of clusters; concentration range in which monomers and clusters were present on the surface of the sorbent. The dependence of these isotherm regions on temperature was analysed.

**Keywords:** adsorption, histidine enantiomers, carbon nanotubes, temperature dependence.

**For citation:** Butyrskaya E.V., Le D.T., Volkov A.A. Cluster adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes from aqueous solutions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 23-33. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/11930>

## Введение

Углеродные нанотрубки (УНТ) широко изучаются с момента их открытия вследствие своих уникальных свойств и разнообразных практических приложений в различных областях, в частности в биомедицине [1-7], хроматографии [8-11] и т.д. Хиральность УНТ и их высокие сорбционные свойства обеспечивают различие в сорбции УНТ к L- и D-изомерам. Вследствие наличия в живых организмах значительного числа хиральных молекул, оптические изомеры различным образом взаимодействуют с биохимическими системами, даже если они неотличимы в большинстве неживых сред [12,13]. Этот факт определяет актуальность проблемы получения гомохиральных препаратов, тесно связанной с задачей разделения L- и D-изомеров аминокислот. Скорость, селективность и эффективность хирального хроматографического разделения часто увеличиваются при использовании УНТ в качестве неподвижной фазы [14-17]. Единственной теорией хирального распознавания является модель трехточечного взаимодействия. Согласно этой модели, селектор с повышенной комплементарностью к энантиомеру имеет с ним три точечных взаимодействия, тогда как менее комплементарный энантиомер взаимодействует с селектором посредством двухточечного взаимодействия [18-20]. Тем не менее, описание механизма хирального разделения представлено в литературе недостаточно. Информацию о хиральных взаимодействиях можно получить из анализа изотерм адсорбции и методами квантовой химии; однако такие

исследования представлены в литературе недостаточно.

Целью данной работы является формирование представлений о хиральных взаимодействиях энантиомеров гистидина с углеродными нанотрубками и установление основных закономерностей взаимодействия оптических изомеров аминокислоты с нанотрубкой в водных растворах.

## Экспериментальная часть

**Получение изотерм адсорбции.** В работе исследована адсорбция L- и D-гистидина производства Sigma-Aldrich на одностенных углеродных нанотрубках MKN-SWCNT S1 производства mkNANO (Канада) с характеристиками: чистота 90%, диаметр 1-2 нм, длина: 0.5-2 нм.

Углеродные нанотрубки массой 0.01 г помещали в стеклянные пробирки объемом 50 см<sup>3</sup>. В каждую пробирку добавляли по 20 см<sup>3</sup> растворов аминокислот разных концентраций. Суспензию диспергировали ультразвуком в течение 3 мин, затем перемешивали в шейкере в интервале температур 25-80°C. Время перемешивания выявлено в ходе кинетических исследований. Далее суспензию вынимали из шейкер-инкубатора и отфильтровывали через складчатый фильтр. Полученные фильтраты центрифугировали, концентрацию (C<sub>e</sub>) аминокислот в супернатанте определяли спектрофотометрически.

В ходе эксперимента pH раствора находилось в интервале 7.5-8.5. Содержание различных ионных форм гистидина при температуре 298 К, рассчитанное по уравнению Гендерсона-Хассельбаха

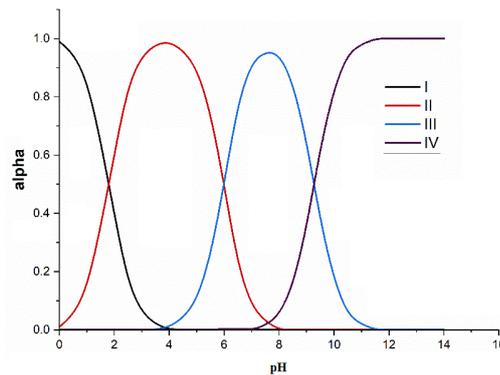


Рис. 1. Диаграмма распределения ионных форм гистидина (I – двухзарядный катион, II – однозарядный катион, III – цвиттер-ион, IV – анион) [21,22]

Fig. 1. Distribution diagram of ionic forms of histidine (I – doubly charged cation, II – singly charged cation, III – zwitterion, IV – anion) [21,22]

( $pK_{COOH}=2.00$ ,  $pK_{NH_2}=10.60$ ,  $pK_{R1}=5.92$ ,  $pK_{R2}=10.90$  [22]), представлено на рисунке 1. Согласно рис. 1 в интервале pH от 7.5 до 8.5 гистидин находится, в основном, в форме биполярного иона.

**Модель кластерной адсорбции.** Экспериментальные изотермы интерпретированы на основе уравнения изотермы кластерной адсорбции, описывающей фиксацию на сорбенте различных кластеров (ассоциатов) сорбата, образующихся из мономерных молекул сорбтива. Соответствующее уравнение изотермы получено аналитически в [23] и имеет вид:

$$q = q_m \cdot \frac{K_1 C_e + \frac{2}{m_2} K_2 C_e^2 + \dots + \frac{n}{m_n} K_n C_e^n}{1 + K_1 C_e + K_2 C_e^2 + \dots + K_n C_e^n}, \quad (1)$$

где  $q$  – адсорбция,  $C_e$  – равновесная концентрация,  $K_i$  – коэффициенты равновесия реакций адсорбции  $S + iA = SA_i$ ,  $i$  – число сорбируемых молекул,  $i = 1, 2, \dots, n$ ;  $m_i$  – число биполярных ионов гистидина в первом слое ассоциата из  $i$  молекул,  $q_m$  – емкость монослоя,  $n$  – максимальный размер кластеров сорбата.

### Обсуждение результатов

**Изотермы адсорбции.** Изотермы адсорбции L-гистидина при температурах  $T=25-80^\circ\text{C}$  и D-гистидина при  $T=25^\circ\text{C}$  на УНТ из водного раствора получены в наших работах [24-26]. В настоящей работе получены изотермы адсорбции D-

гистидина при  $T=35-80^\circ\text{C}$  и проведена детальная интерпретация всех изотерм. Полученные изотермы изображены на рис. 2. Относительное стандартное отклонение в экспериментах составило 6%.

Для каждого оптического изомера величина адсорбции снижается с возрастанием температуры ( $T$ ). Это может быть объяснено увеличением десорбции вследствие разрыва слабых взаимодействий между УНТ и аминокислотой [24] при увеличении  $T$ . Из сравнения изотерм адсорбции энантиомеров на УНТ следует, что адсорбция D-изомера является более высокой, чем L-изомера, что может служить основой их разделения. Более высокая адсорбция D-изомера на УНТ обусловлена различным взаимодействием энантиомеров с хиральными углеродными нанотрубками. Для оценки возможности разделения L- и D-гистидина на нанотрубках рассчитаны коэффициенты распределения изомеров гистидина между УНТ и раствором ( $K_L$  и  $K_D$ ) для индивидуальных растворов, а также коэффициенты разделения энантиомеров  $\alpha$  по формуле:

$$\alpha = \frac{K_D}{K_L}, \quad (2)$$

где  $K_D$  – коэффициент распределения D-гистидина на углеродных нанотрубках в водных растворах,  $K_L$  – коэффициент распределения L-гистидина на углеродных нанотрубках в водных растворах. Коэффициенты распределения  $K_D$  и  $K_L$

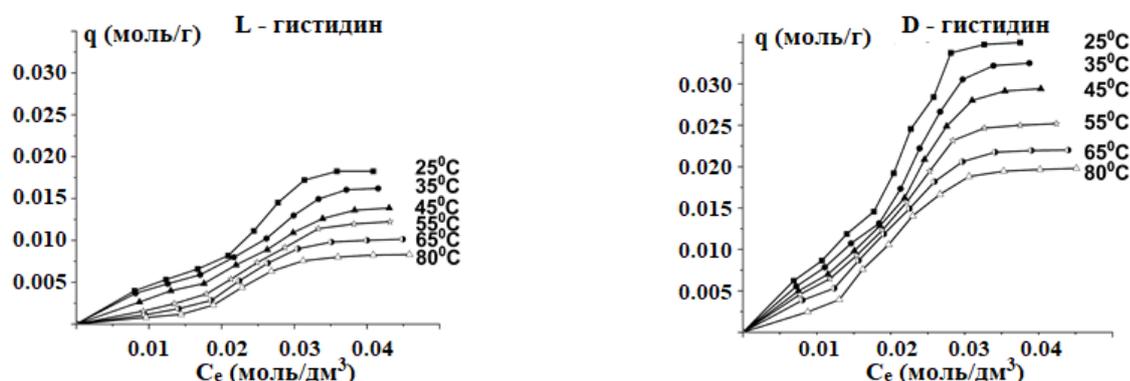


Рис. 2. Изотермы адсорбции L- гистидина [24] и D- гистидина на УНТ SWCNT-S1 при T=25, 35, 45, 55, 65 и 80°C

Fig. 2. Adsorption isotherms of L-histidine [24] and D-histidine on SWCNT-S1 CNT at T=25, 35, 45, 55, 65 and 80°C

Таблица 1. Коэффициенты разделения энантиомеров гистидина на УНТ SWCNT S1  
 Table 1. Separation coefficients of histidine enantiomers on SWCNT S1 CNT

T, °C	Начальная концентрация C <sub>0</sub> , 10 <sup>-2</sup> моль/дм <sup>3</sup>								
	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
25	1.8	1.9	2.2	2.1	2.1	2.1	2.0	2.4	2.4
35	1.7	1.9	1.9	1.9	2.1	2.2	2.2	2.4	2.4
45	2.0	2.00	2.2	2.2	2.3	2.4	2.4	2.5	2.6
55	3.5	3.0	3.0	2.6	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
65	4.1	3.6	3.3	2.7	2.4	2.4	2.5	2.6	2.5
80	4.0	4.8	3.9	2.8	2.6	2.6	2.8	2.7	2.7

равны отношению равновесных концентраций D, L-изомеров в сорбенте и растворе:

$$K_{D(L)} = \frac{C_{сорб}}{C_e} \quad (3)$$

Полученные результаты представлены в таблице 1. Значения  $\alpha$  (табл. 1) являются более высокими, чем представленные в литературе данные для других сорбентов [27-31]. Данные табл. 1 позволяют сделать вывод, что нанотрубки являются перспективным сорбентом для энантиоразделения гистидина.

Параметры уравнения изотермы кластерной адсорбции (1) определены из условия наименьшего отклонения экспериментальных изотерм от модели (1). Расчет показал, что наилучшее согласие эксперимента и теории имеет место, если уравнения изотерм адсорбции имеют вид

$$q = q_m \cdot \frac{K_1 C_e + \frac{n}{m_n} K_n C_e^n}{1 + K_1 C_e + K_n C_e^n} \quad (4)$$

Данное уравнение описывает адсорбцию мономеров и кластеров из максимально возможного числа молекул. Образование максимально больших кластеров является энергетически выгодным, поскольку кластер большего размера включает большее число сорбат-сорбатных связей, дающих дополнительный вклад в понижение энергии системы при адсорбции. Численные значения параметров модели (4) для D- и L-гистидина на УНТ при T=25-80°C, представлены в табл. 2.

В уравнение изотермы (4) входят параметры, характеризующие структуру ассоциатов аминокислоты на УНТ. А именно, степень n, в которую возводится концентрация в уравнении изотермы (4), равна числу биполярных ионов в сорбированных ассоциатах, а число биполярных ионов в первом слое ассоциата из n молекул сорбата равно m<sub>n</sub>, что следует из аналитического вывода уравнения [23, 24, 32, 33]. Это позволяет определить структуру кластеров из экспериментальных

Таблица 2. Параметры уравнения изотермы адсорбции (4) L- и D-гистидина на УНТ  
 Table 2. Parameters of the adsorption isotherm equation (4) of L- and D-histidine on CNT

T, °C	Изомер	q <sub>m</sub> , моль/Г	K <sub>1</sub> , (моль/дм <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>	K <sub>n</sub> *	n m <sub>n</sub>	R <sup>2</sup>
25	L	1.70·10 <sup>-2</sup>	34.29	5.03·10 <sup>20</sup>	13 12	0.999
	D	3.50·10 <sup>-2</sup>	35.83	6.76·10 <sup>14</sup>	9 9	0.996
35	L	1.62·10 <sup>-2</sup>	27.68	5.40·10 <sup>12</sup>	8 8	0.996
	D	3.32·10 <sup>-2</sup>	28.76	3.16·10 <sup>11</sup>	7 7	0.997
45	L	1.45·10 <sup>-2</sup>	23.20	1.23·10 <sup>11</sup>	7 7	0.996
	D	2.99·10 <sup>-2</sup>	26.82	3.38·10 <sup>11</sup>	7 7	0.998
55	L	1.25·10 <sup>-2</sup>	17.16	1.66·10 <sup>11</sup>	7 7	0.998
	D	2.56·10 <sup>-2</sup>	25.97	4.44·10 <sup>11</sup>	7 7	0.997
65	L	1.03·10 <sup>-2</sup>	13.23	2.36·10 <sup>11</sup>	7 7	0.999
	D	2.24·10 <sup>-2</sup>	25.21	5.55·10 <sup>11</sup>	7 7	0.996
80	L	0.84·10 <sup>-2</sup>	9.38	2.67·10 <sup>11</sup>	7 7	0.999
	D	2.00·10 <sup>-2</sup>	24.20	5.52·10 <sup>11</sup>	7 7	0.994

\*Размерность коэффициентов K<sub>n</sub> в табл.2 соответствует условию, что величина K<sub>n</sub>C<sub>e</sub><sup>n</sup> является безразмерной.

изотерм, определив методом наименьших квадратов параметры n и m<sub>n</sub>. Значения структурных параметров кластеров сорбата n и m<sub>n</sub> на поверхности УНТ представлены в табл. 2.

Из значения величины n (табл. 2) следует, что L-гистидин сорбируется на УНТ в виде индивидуальных цвиттер-ионов и кластеров, состоящих из 13 (25°C), 8 (35°C) и 7 молекул (45, 55, 65, 80°C), а D-гистидин – в виде индивидуальных цвиттер-ионов и кластеров из 9 (25°C) и 7 молекул (35, 45, 55, 65, 80°C). При T=25°C кластер из 13 молекул L-гистидина содержит 12 молекул в первом слое и одну молекулу во втором слое. В остальных случаях все кластеры L- и D-гистидина находятся на поверхности УНТ, что следует из условия равенства числа молекул

в первом слое m<sub>n</sub> числу молекул в кластере n (m<sub>n</sub>=n), табл. 2. Физико-химические причины кластеризации сорбата объяснены в нашей работе [33]. Отметим, что однослойная кластерная адсорбция (5) является наиболее выгодным сорбционным процессом, если площадь поверхности достаточна для однослойного покрытия, поскольку при этом вклад в понижение энергии при адсорбции дают не только взаимодействия между сорбентом и сорбатом, но и сорбат-сорбатные связи [33]. Уравнение изотермы однослойной кластерной адсорбции

$$q = q_m \frac{K_1 C_e + K_n C_e^n}{1 + K_1 C_e + K_n C_e^n} \quad (5)$$

является обобщением теории Ленгмюра на случай учета сорбат-сорбатных взаимодействий между молекулами 1 слоя [33].

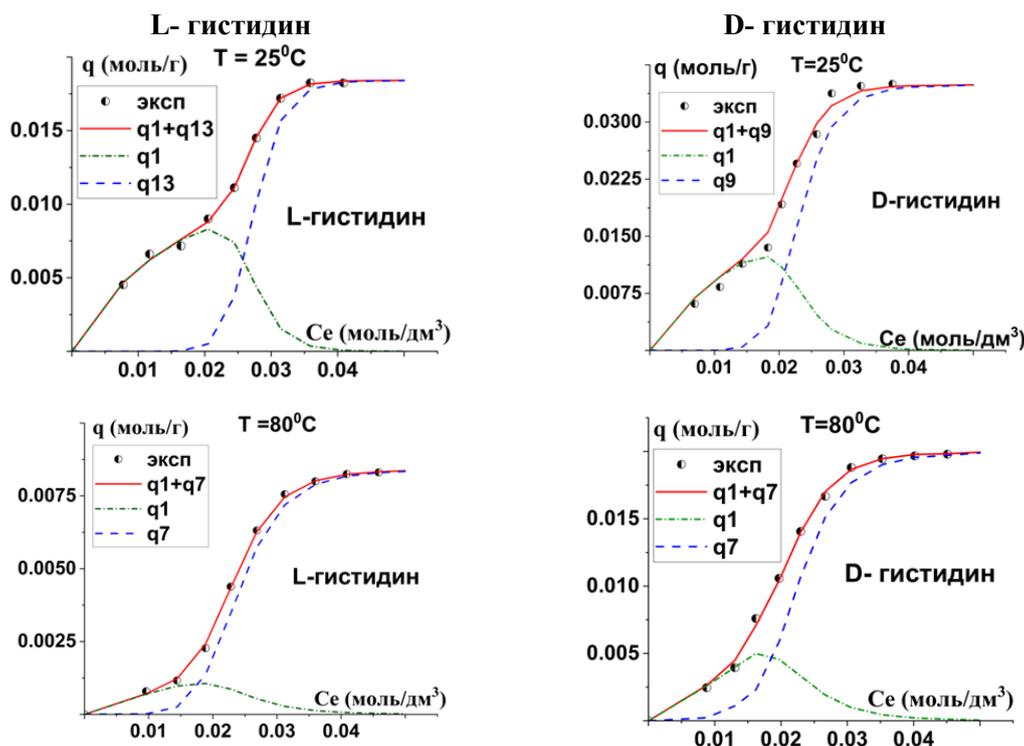


Рис. 3. Изотермы адсорбции L- и D-аминокислоты на углеродных нанотрубках при 25°C и 80°C. Символом ● представлены экспериментальные данные, сплошной линией - график изотермы кластерной адсорбции (6), штрих-пунктиром и пунктиром, показаны вклады в адсорбцию индивидуальных цвиттер-ионов ( $q_1$ ) и кластеров ( $q_n$ )

Fig. 3. Adsorption isotherms of L- and D-amino acids on carbon nanotubes at 25°C and 80°C. Symbol ● represents experimental data, the solid line is the graph of the cluster adsorption isotherm (6), the dashed and dotted lines show the contributions to the adsorption of individual zwitterions ( $q_1$ ) and clusters ( $q_n$ )

Уравнение изотермы (4) может быть представлено в виде суммы двух слагаемых

$$q = q_m \cdot \frac{K_1 C_e + \frac{n}{m_n} K_n C_e^n}{1 + K_1 C_e + K_n C_e^n} = q_1 + q_n \quad (6)$$

где  $q_1 = q_m \cdot \frac{K_1 C_e}{1 + K_1 C_e + K_n C_e^n}$ ;

$$q_n = q_m \cdot \frac{\frac{n}{m_n} K_n C_e^n}{1 + K_1 C_e + K_n C_e^n} \quad (7)$$

– вклады в адсорбцию индивидуальных биполярных ионов и ассоциатов из  $n$  молекул.

Установление аналитического вида функций (7), характеризующих вклад в адсорбцию мономерных биполярных ионов ( $q_1$ ) и их ассоциатов ( $q_n$ ), позволяет разложить изотерму на данные вклады путем построения графиков  $q(C_e)$ ,  $q_1(C_e)$

и  $q_n(C_e)$ , что представлено на рис. 3 для  $T=25$  и  $80^\circ\text{C}$ .

Из графика функции  $q_1(C)$  следует, что адсорбция в виде индивидуальных цвиттер-ионов вносит основной вклад в изотерму при низких концентрациях. Однако при высоких концентрациях, когда над поверхностью много молекул, адсорбция мономеров практически отсутствует. Только кластеры сорбата в основном находятся в равновесии на поверхности, что энергетически выгодно из-за вклада сорбат-сорбатных взаимодействий в энергию адсорбции. Вклад кластеров определяется кривой, которая имеет форму сигмоиды и вогнута при малых концентрациях. Адсорбция кластеров вносит основной вклад при высоких концентрациях. Данные разложения сделаны

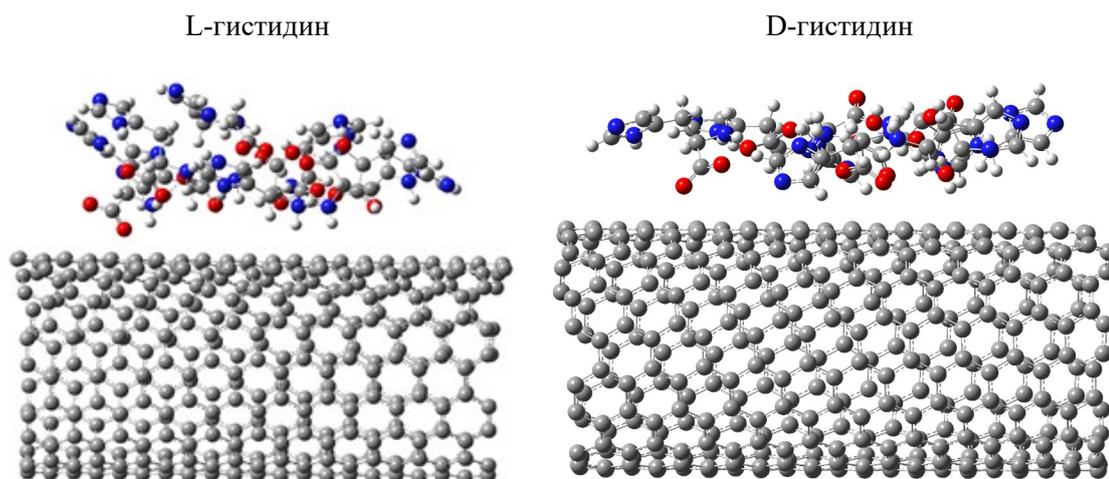


Рис. 4. Предполагаемое расположение кластера из 8 цвиттер - ионов L-гистидина (а) и кластера из 7 цвиттер-ионов D-гистидина (б) на УНТ

Fig. 4. Proposed location of a cluster of 8 zwitter ions of L-histidine (a) and a cluster of 7 zwitter ions of D-histidine (b) on CNTs

Таблица 3. Значения концентраций (моль/дм<sup>3</sup>), характеризующих три области изотерм адсорбции L- и D-гистидина на УНТ

Table 3. Concentrations (mol/dm<sup>3</sup>), characterizing three regions of adsorption isotherms of L- and D-histidine on CNT

T, °C	Изомер	На УНТ только мономеры	Начало кластеризации	Вклад мономеров максимален	Вклады мономеров и кластеров равны	На УНТ только кластеры
25	L	< 0.0165	0.0165	0.0205	0.0258	> 0.0400
	D	< 0.0125	0.0125	0.0183	0.0213	> 0.0380
35	L	< 0.0140	0.0140	0.0217	0.0250	> 0.0500
	D	< 0.0120	0.0115	0.0184	0.0210	> 0.0450
45	L	< 0.0130	0.0130	0.0220	0.0240	> 0.0500
	D	< 0.0115	0.0115	0.0186	0.0207	> 0.0450
55	L	< 0.0125	0.0125	0.0215	0.0217	> 0.0450
	D	< 0.0110	0.0110	0.0171	0.0197	> 0.0400
65	L	< 0.0115	0.0115	0.0190	0.0196	> 0.0450
	D	< 0.0080	0.0080	0.0157	0.0189	> 0.0400
80	L	< 0.0090	0.0090	0.0185	0.0181	> 0.0400
	D	< 0.0070	0.0070	0.0162	0.0187	> 0.0400

для всех исследованных температур и имеют вид, аналогичный представленному на рис. 3.

В качестве примера кластерной адсорбции на рис. 4 представлено предполагаемое расположение кластера из 8 цвиттер-ионов L-гистидина (а) и кластера из 7 цвиттер-ионов D-гистидина (б) на УНТ. Кластеры аминокислоты оптимизированы в водном растворе методами квантовой химии в модели, описанной в

[25], и добавлены на поверхность УНТ без оптимизации полной структуры. Расчет показал, что причиной образования аминокислотных ассоциатов является формирование водородных связей между молекулами аминокислоты.

Для всех температур на изотермах можно выделить три характерные концентрационные области:

1. Область концентраций, в которой на поверхности нанотрубки закрепляются

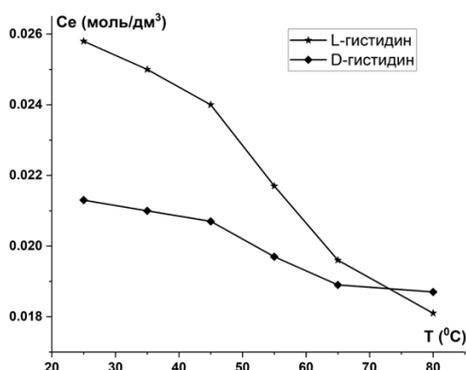


Рис. 5. Зависимость величины концентрации, для которой вклад мономеров и кластеров одинаков от температуры

Fig. 5. Dependence of the concentration value for which the contribution of monomers and clusters was equal on temperature

только мономеры сорбата (низкие концентрации).

2. Область концентраций, в которой молекулы сорбата закрепляются на нанотрубке только в форме кластеров (высокие концентрации).

3. Область концентраций, в которой на поверхности сорбента присутствуют мономеры и кластеры. В этой области существует концентрация, при которой вклад в адсорбцию мономеров и кластеров одинаков.

Значения концентраций, характеризующих данные области изотерм адсорбции L- и D- гистидина на УНТ, представлены в таблице 3.

Для D-гистидина кластерообразование начинается при меньших концентрациях, чем для L-гистидина, табл. 3. С ростом температуры величина концентрации, для которой вклад мономеров и кластеров одинаков (точка пересечения пунктирных кривых  $q_1$  и  $q_n$ , рис. 3), уменьшается, что показано на рис. 5.

Для L-гистидина скорость снижения данной концентрации с увеличением температуры является более высокой, чем для D- гистидина. Можно предположить, что такое температурное поведение характерных областей, табл. 3, связано с различным изменением скорости диспергирования УНТ с ростом температуры.

## Заключение

Проведен анализ температурной зависимости изотерм адсорбции оптических изомеров гистидина на углеродных нанотрубках MKN-SWCNT S1 из водных растворов. Величина адсорбции для каждого оптического изомера снижается с увеличением температуры. Адсорбция D изомера является более высокой, чем L-изомера, что может служить основой их разделения. Рассчитанные коэффициенты разделения энантиомеров на УНТ лежат в интервале 1.7-4.1 (в зависимости от температуры и концентрации) и являются более высокими, чем для других сорбентов.

Установлено, что L-гистидин сорбируется на УНТ в виде биполярных ионов и кластеров из 13 (25°C), 8 (35°C) и 7 (45, 55, 65, 80°C) молекул, а D-гистидин – в виде биполярных ионов и кластеров из 9 (25°C) и 7 (35, 45, 55, 65, 80°C) молекул. Для D-гистидина кластерообразование сорбата начинается при меньших концентрациях, чем для L-гистидина. С ростом температуры величина концентрации, для которой вклад мономеров и кластеров в адсорбцию одинаков, уменьшается.

## 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. Iijima S., Helical Microtubules of Graphitic Carbon, *Nature*, 1991; 354: 56-58. <https://doi.org/10.1038/354056a0>
2. De Volder M. F., Tawfick S. H., Baughman R. H., Hart A.J., Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications, *Science*, 2013; 339: 535-539. <https://doi.org/10.1126/science.1222453>.
3. Rao R., Pint C.L., Islam A.E., et al., Carbon Nanotubes and Related Nanomaterials: Critical Advances and Challenges for Synthesis toward Mainstream Commercial Applications, *ACS Nano*, 2018; 12(12): 11756-11784. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b06511>
4. Yang F., Wang M., Zhang D., et al., Chirality Pure Carbon Nanotubes: Growth, Sorting, and Characterization, *Chem. Rev.*, 2020; 120(5): 2693-2758. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00835>
5. Yu L., Shearer C., Shapter J., Recent Development of Carbon Nanotube Transparent Conductive Films, *Chem. Rev.*, 2016; 116: 13413-13453. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00179>
6. Dai H., Hafner J.H., Rinzler A.G. Nanotubes as nanoprobes in scanning probe microscopy, *Nature*, 1996; 384: 147-150. <https://doi.org/10.1038/384147a0>
7. Rakov E.G., Carbon nanotubes in new materials, *Russ. Chem. Rev.*, 2013;82(1): 27-47. <https://doi.org/10.1070/RC2013v082n01ABEH004227>
8. Postnov V.N., Rodinkov O.V., Moskvina L.N. From carbon nanostructures to high-performance sorbents for chromatographic separation and preconcentration, *Russ. Chem. Rev.*, 2016; 85(2): 115-138. <https://doi.org/10.1070/RCR4551>
9. Zhang Z., Wang Z., Liao Y., Liu H., Applications of nanomaterials in liquid chromatography: Opportunities for separation with high efficiency and selectivity, *J. Sep. Sci.*, 2006; 29: 1872-1878. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600154>
10. Guillaume Y.C., Andre C., Fast enantioseparation by HPLC on a modified carbon nanotube monolithic stationary phase with a pyrenyl aminoglycoside derivative, *Talanta*, 2013; 115: 418-421. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.05.073>
11. Zhao L., Ai P., Duan A.-H., Yuan L.-M., Single-walled carbon nanotubes for improved enantioseparations on a chiral ionic liquid stationary phase in GC, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011; 399: 143-147. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4079-8>
12. Pasteur L.C.R., *Acad. Sci.*, 1858; 46: 615-618.
13. Kartsova L.A., Ob'edkova E.V., Protasova I.D., Separation of the enantiomers of NSAIDs and  $\beta$ -blockers by high performance thin layer chromatography, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2013; 13(3): 257-265. (In Russ.)
14. Ankur, G. Nirmal M., Surajit K. Enantiomeric Recognition and Separation by Chiral Nanoparticles, *Molecules*, 2019; 24(6): 1-31. <https://doi.org/10.3390/molecules24061007>
15. Hemasa A.L., Naumovski N., Maher W.A., Ghanem A., Application of Carbon Nanotubes in Chiral and Achiral Separations of Pharmaceuticals, *Biologics and Chemicals, Nanomaterials*, 2017; 7(186): 1-32. <https://doi.org/10.3390/nano7070186>
16. Chang C., Wang X., Bai Y., Liu H., Applications of nanomaterials in enantioseparation and related techniques, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2012; 39: 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.07.002>
17. Ahmed M., Yajadda M.M.A., Han Z.J., et al., Single-walled carbon nanotube-based polymer monoliths for the enantioselective nano-liquid chromatographic separation of racemic pharmaceuticals, *J. Chromatogr. A.*, 2014; 1360: 100-109.
18. Berthod A., Chiral Recognition Mechanisms, *Anal. Chem.*, 2006; 78(7): 2093-2099. <https://doi.org/10.1021/ac0693823>



19. Easson L.H., Stedman E., Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action. V. molecular dissymmetry and physiological activity, *Biochem J.*, 1933; 27(4): 1257-1266. <https://doi.org/10.1042/bj0271257>
20. Dalgliesh C.E., The optical resolution of aromatic amino-acids on paper chromatograms, *J. Chem. Soc.*, 1952; 3940-3942. <https://doi.org/10.1039/JR9520003940>
21. Tinoko I., Zaujer K., Vjeng Dzh., Paglisi Dzh. Fizicheskaja Himija. Principy i primeneniye v biologicheskikh naukah, Per. s angl. E.R. Razumovoj pod red. V.I. Gorshhkova, M. Tehnosfera, 2005, 743 p. (In Russ.)
22. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Eliseeva T.V. Mezhmolekulyarnye vzaimodejstviya i obrazovanie peresyshchennykh rastvorov aminokislot v faze vysokoosnovnogo ani-onita. Soobshchenie 1. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Se-riya: Himiya. Biologiya. Farmaciya*, 2021; 1: 20-35. (In Russ.)
23. Butyrskaya E.V., Zapryagaev S.A., Izmailova E.A., Cooperative model of the histidine and alanine adsorption on single-walled carbon nanotubes, *Carbon*, 2019; 143: 276-287. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.10.086>
24. Le D.T., Butyrskaya E.V., Eliseeva T.V., Cluster Adsorption of L-Histidine on Carbon Nanotubes in Aqueous Solutions at Different Temperatures, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2022; 96(8): 1719-1723. <https://doi.org/10.31857/S004445372208012X>
25. Le D.T., Butyrskaya E.V., Eliseeva T.V., Sorption interaction between carbon nanotubes and histidine enantiomers in aqueous solutions, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2021; 95(11): 2280-2286. <https://doi.org/10.1134/S003602442111011X>
26. Le D.T., Butyrskaya E.V., Volkov A.A., Gneushev A.S., Study of adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes in aqueous solution based on different adsorption models, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2022; 22(3): 235-242. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9330> (In Russ.)
27. Scriba G.K.E., Chiral Recognition Mechanisms in Analytical Separation Sciences, *Chromatographia*, 2012; 75: 815-838. <https://doi.org/10.1007/s10337-012-2261-1> (In Russ.)
28. Anan'eva I.A., Shapovalova E.N., Shpigun O.A., Armstrong D.V., Razdeleniye opticheski aktivnykh aminokislot i izomerov ikh proizvodnykh na makrotsiklicheskom antibiotike «tikoplanin», *Vestn. Mosk. Un-Ta., Ser. 2., Khimiya*, 2001; 42(4): 278-280. (In Russ.)
29. Şarkaya, K. Süleyman A., Ilgım G., Separation of histidine enantiomers by capillary electrochromatography with molecularly imprinted monolithic columns, *Separation Science Plus.*, 2000; 1-11. <https://doi.org/10.1002/sscp.201900101>
30. Morvan M., Mikšík I., Recent Advances in Chiral Analysis of Proteins and Peptides, *Separations*, 2021; 8(112): 1-28.
31. Sarvin N., Puzankov R., Vasiyarov G., et al. Silica immobilised chloro- and amido- derivatives of eremomycine as chiral stationary phases for amino acids enantiomers separation by reversedphase liquid chromatography, *Molecules*, 2023; 28 (1): 85. <https://doi.org/10.3390/molecules28010085>
32. Le D.T., Butyrskaya E.V., Volkov A.A., Gneushev A.S., Study of adsorption of histidine enantiomers on carbon nanotubes in aqueous solution based on different adsorption models, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2022; 22(3): 235-242. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9330>. (In Russ.)
33. Butyrskaya E.V., Single-layer cluster adsorption model and its application for the estimation of the CO<sub>2</sub> structure on metal-organic frameworks, *Materials Today Communications*, 2022; 33: 104327. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104327>



### **Информация об авторах / Information about the authors**

**Е.В. Бутырская** – проф. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Ле Динь Туан** – кафедра неорганической химии, Химический Факультет, Ханойский педагогический университет 2, Ханой, Вьетнам

**А.А. Волков** – студент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**E.V. Butyrskaya** – Ph.D. (Chem.), Prof. department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, E-mail: [bev5105@yandex.ru](mailto:bev5105@yandex.ru)

**Le Dinh Tuan** – Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Hanoi Pedagogical University 2, Hanoi, Vietnam, E-mail: [ledinh tuan@hpu2.edu.vn](mailto:ledinh tuan@hpu2.edu.vn)

**A.A. Volkov** – Student, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

*Статья поступила в редакцию 14.08.2023; одобрена после рецензирования 16.11.2023; принята к публикации 29.11.2023.*  
*The article was submitted 14.08.2023; approved after reviewing 16.11.2023; accepted for publication 29.11.2023.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544:543.635.6

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12019

### Определение флавоноидов кожуры плодов *Citrus reticulata*

Владимир Федорович Селеменев<sup>1</sup>, Виктор Иванович Дейнека<sup>2</sup>✉,  
Ярослава Юрьевна Саласина<sup>2</sup>, Татьяна Викторовна Елисеева<sup>1</sup>,  
Мохаммед Мохаммед<sup>2</sup>, Людмила Александровна Дейнека<sup>2</sup>,  
Иван Станиславович Пронин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

<sup>2</sup>Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия,  
deineka@bsu.edu.ru✉

**Аннотация.** В работе исследован флавоноидный состав экстракта кожуры мандаринов 10 сортов различных производителей. Кожуру мандаринов снимали с плодов, приобретенных на рынке г. Белгорода, и высушивали при комнатной температуре вне доступа прямого солнечного света. Для экстракции были подобраны составы «зеленых», основанных на этаноле экстрагентов, и соотношения «навеска растительного материала : объем экстрагента», обеспечивающие высокий выход флавоноидов. Для разделения использовали обращенно-фазовую ВЭЖХ на стационарной фазе Kromasil 100-5C18 в экологически благоприятных составах подвижных фаз, содержащих в качестве органического модификатора этанол, а в качестве подкислителя все подвижные фазы содержали 0.2 об.% ортофосфорной кислоты, в режиме градиентного элюирования. Для отнесения компонентов экстракта использовали образцы ряда веществ и параметры электронных спектров поглощения в сравнении с литературными данными. Установлено, что хроматографический профиль экстрактов исследованных образцов заметно различался. Во всех экстрактах обнаружен ряд наименее липофильных соединений – производных коричных кислот. Затем следуют два гликозида флаванонов – основной из которых гесперидин (гесперитин-7-рутинозид), содержание которого составляет 26.0-39.9 мг на 1 г высушенного сырья, и в существенно меньших количествах содержится нарингин (нарингенин-7-неогесперидизид) – от 0 до 1.15 мг на 1 г. Но наибольший интерес представляют полиметоксилированные флавоны, среди которых основной компонент нобилетин (5,6,7,8,3',4'-гексаметоксифлаван) с содержанием в сушеной кожуре от 0.03 до почти 11 мг/г, и в несколько меньших количествах обнаруживается тангеретин (5,6,7,8,4'-пентаметоксифлаван) – 0.1-5.4 мг/г. Установлено, что особенно высокий уровень накопления нобилетина и тангеретина наблюдается в кожуре мелких мандаринов. И в целом, кожура мандаринов является ценным источником высоко биологически активных флавоноидов, поэтому ее переработка – важная задача пищевой промышленности.

**Ключевые слова:** кожура мандаринов, экстракция, обращенно-фазовая ВЭЖХ, зеленая экстракция, зеленая хроматография, гесперидин, нарингенин, нобилетин, тангеретин.

**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:** Селеменев В.Ф., Дейнека В.И., Саласина Я.Ю., Елисеева Т.В., Мохаммед М., Дейнека Л.А., Пронин И.С. Определение флавоноидов кожуры плодов *Citrus reticulata* // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 34-43. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12019>

Original article

### Determining flavonoids in the skin of *Citrus reticulata*

Vladimir F. Selemenov<sup>1</sup>, Victor I. Deineka<sup>2</sup>, Yaroslava Yu. Salasina<sup>2</sup>,  
Tatiana V. Eliseeva<sup>1</sup>, Mohammed Mohammat<sup>2</sup>,

© Селеменев В. Ф., Дейнека В. И., Саласина Я. Ю., Елисеева Т. В.,  
Мохаммед М., Дейнека Л. А., Пронин И. С., 2024



## Lyudmila A. Deineka<sup>2</sup>, Ivan S. Pronin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

<sup>2</sup>Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, [deineka@bsu.edu.ru](mailto:deineka@bsu.edu.ru)✉

**Abstract.** In this work we studied the flavonoid composition of tangerine skins using 10 kinds of tangerines from various producers. The tangerine skins were peeled from fruit purchased from the market in Belgorod and dried at room temperature outside direct sunlight. The compositions of “green” ethanol-based extraction solutions and the “weighed portion of plant material: volume of extraction solution” ratios were chosen for extraction to ensure a high yield of flavonoids. For separation, reverse-phase HPLC on the Kromasil 100-5C18 stationary phase was used in environmentally friendly mobile phase compositions that contained ethanol as an organic modifier. In gradient elution mode all mobile phases contained 0.2 vol. % orthophosphoric acid. To assign extract components, we used samples of a number of substances and parameters of electronic absorption spectra in comparison with published data. It was found that the chromatographic profiles of the extracts of the studied samples were noticeably different. A number of the least lipophilic compounds, derivatives of cinnamic acids, were found in all extracts. After that, we discovered two flavanone glycosides, the main of which was hesperidin (hesperitin-7-rutinoside) with a content of 26.0-39.9 mg per 1 g of dried raw material, and naringin (naringenin-7-neohesperidide) in significantly smaller quantities, from 0 to 1.15 mg per 1 g. But of greatest interest were polymethoxylated flavones, among which the main component was nobiletin (5,6,7,8,3',4'-hexamethoxyflavone) with a content from 0.03 to almost 11 mg/g in dried peel and tangeretin (5,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone), found in slightly smaller quantities, 0.1-5.4 mg/g.

It was established that nobiletin and tangeretin were mostly accumulated in the skins of small tangerines. On the whole, tangerine skin is a great source of highly biologically active flavonoids, so its processing is an important task for the food industry.

**Keywords:** tangerine skin, extraction, reverse-phase HPLC, green extraction, green chromatography, hesperidin, naringenin, nobiletin, tangeretin.

**Acknowledgments:** the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state assignment to universities in the field of scientific activity for 2023-2025, project FZGU-2023-0009.

**For citation:** Selemenev V.F., Deineka V.I., Salasina Ya.Yu., Eliseeva T.V., Mohammed M., Deineka L.A., Pronin I.S. Determining flavonoids in the skin of *Citrus reticulata*. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 34-43. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12019>

### Введение

В русском языке слово «мандарин» обозначает любимые многими плоды (по срокам созревания, приуроченные к новогодним праздникам) вечнозеленого дерева рода цитрус (*Citrus*) с видовым названием (*C. reticulata*). К настоящему времени благодаря естественной или направленной гибридизации в различных регионах мира получено много гибридных сортов мандаринов, различающихся как по названию, так и по ряду свойств [1]. Мандарины ценятся потребителями за приятный вкус и высокую пищевую ценность. При этом употребляются в пищу только очищенные от кожуры (окрашенной части, называемой флаведо, и белой прослойки, называемой альбеде) плоды, а кожура, на долю которой приходится порядка 35-40% массы, идет в от-

ходы [2], хотя она является богатым источником биологически активных веществ [3]. Высушенная кожура плодов *C. reticulata* «Chachi», *C. reticulata* «Unshiu» и *C. reticulata* «Dahongpao» традиционно используется в Китайской фармакопее для лечения заболеваний желудка, как средство, вызывающее потоотделение, и как отхаркивающее средство [4]. Современные исследования выявили антиоксидантную, противовоспалительную, противораковую, противомикробную и противоаллергическую активность плодов цитрусовых. Установлено также положительное влияние на сердечно-сосудистую систему, нейропротекторное свойство и гепатопротекторный эффект, показана эффективность в борьбе с ожирением и др. [5]. Среди биологически активных веществ плодов цитрусовых, прежде всего, выделяется гликозид одного из флаванонов – гесперидин, 3',5,7-тригидрокси-4'-

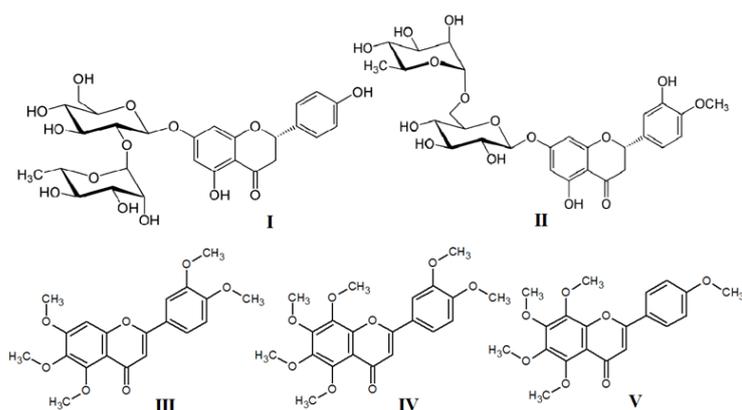


Схема 1. Структуры основных флавоноидов кожуры мандарина: I – нарингин; II – гесперидин; III – синенсетин; IV – нобилетин; V – тангеретин

метоксифлавоно-7-О-β-рутинозид. Это соединение, присутствующее и в соке, и в кожуре плодов, вместе с полиметоксилированными флавоноидами во многом определяют биологическую активность плодов мандаринов [5-8].

Основная территория Российской Федерации расположена севернее пригодных для выращивания цитрусовых тропиков и субтропиков, поэтому на мировом рынке она выступает преимущественно как импортер [9]. Среднегодовые поставки мандаринов в РФ в 2011-2019 годах составили 804.7 тыс. тонн. Соответственно, переработка кожуры плодов цитрусовых представляет интерес и в РФ [10]. Но основные направления такой переработки – получение цитрусового пектина [11] и эфирного масла [12].

Широкий спектр накапливающихся в плодах цитрусовых фенольных соединений [3, 13] предполагает использование обращенно-фазовой ВЭЖХ для их разделения и определения. Известные литературные данные свидетельствуют о том, что в различных сортах мандаринов накопление биологически активных веществ заметно различается. Так, например, в высушенной кожуре 12-ти плодов различных гибридных форм *Citrus reticulata*, методом ВЭЖХ с квадрупольным тандемным масс-спектрометрическим детектированием были обнаружены с

большим разбросом по уровню накопления шесть флавоноидов: нарингин, I (схема 1) – от 0.21 до 4.3; гесперидин, II – от 50.1 до 100.5; нобилетин, IV (5,6,7,8,3',4'-гексаметоксифлавоноид) – от 1.4 до 14.0; 3,5, 6,7,8,3',4'-гептаметоксифлавоноид – от 1.0 до 4.4; тангеретин, V (5,6,7,8,4'-пентаметоксифлавоноид) – от 0.5 до 11.5; и 5-деметилнобилетин (5-гидрокси-6,7,8,3',4'-пентаметоксифлавоноид) – от 0.1 до 2.7 мг на 1 г [14]. В другой работе [15] с акцентом на полиметоксифлавоноиды в кожуре *Citrus tangerina* (близкого или относящегося к виду *C. reticulata* марокканского происхождения) сорта «Dahongrao» были обнаружены синенсетин, III (5,6,7,3',4'-пентаметоксифлавоноид), тетраметил-О-скутеларин (5,6,7,4'-тетраметоксифлавоноид), нобилетин, тангеретин и 5-деметилнобилетин.

Настоящая работа посвящена сопоставлению флавоноидного состава плодов мандаринов, импортированных из различных стран и доступных на рынке г. Белгорода, методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с этанолом, как наиболее экологически безопасным органическим модификатором подвижной фазы.

### Экспериментальная часть

Кожуру мандаринов, приобретенных в розничной торговле, отделяли от мякоти и высушивали при комнатных условиях вне доступа прямого солнечного света.



После высухания кожуру измельчали и переносили в банки с крышкой. Хранили полученный растительный материал при комнатной температуре.

Для поиска условий экстракции флавоноидов навеску высушенной кожуры мандарина заливали 20 см<sup>3</sup> водно-спиртовой смеси, оставляли на перемешивающем устройстве LS 220 на 0.5 ч. По истечении положенного времени смесь центрифугировали (центрифуга ЭЛЕКОН М, 2000 об/мин, 10 мин) и экстракт отделяли декантацией.

Перед записью электронных спектров поглощения (в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 10 мм на спектрофотометре Shimadzu UV-2550) экстракт разбавляли 95%-ным этанолом в 40 раз. Для хроматографического анализа экстракт разбавляли дистиллированной водой в 6 раз.

Для получения сухого концентрата полиметоксилированных флавонов 20 мл экстракта пропускали через активированный и кондиционированный 20%-ным раствором этанола в воде патрон (Диапак С18, Биохиммак СТ, Москва). Сорбированные флавоноиды смывали 60%-ным раствором этанола в воде и перед вводом в хроматографическую систему разбавляли водой в 3 раза. Для получения сухого концентрата полиметоксилированных флавонов реэкстракцию проводили этилацетатом, отгоняя растворитель досуха на вакуумном ротационном испарителе.

Разделение флавоноидов осуществляли на оборудовании Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором. Хроматограммы записывали при 284 и 334 нм. В работе использовали хроматографическую колонку 100×4.6 мм Kromasil 100-5-C18. Для элюирования применяли как изократическое, так и градиентное элюирование, используя компонент А: 10 об.% этанола, 0.2 об.% ортофосфорной кислоты в воде, и компонент Б: 80 об.% этанола, 0.2 об.% ортофосфорной кислоты в воде. Градиентный режим: 0 мин – 0% Б, до 40 мин – 50% Б; 41 мин

– 0% Б и 50 мин – 0% Б. Элюирование осуществляли со скоростью подачи подвижной фазы 0.8 см<sup>3</sup>/мин при температуре 30°C. Хроматограммы регистрировали и обрабатывали программой ChemStation, необходимые расчеты выполняли в MS Excel. Метчик мертвого времени – щавелевая кислота.

Для градуировки отклика детектора при количественном определении гликозидов флаванонов использовали образец гесперидина (Sigma-Aldrich) и высушенного порошка полиметоксилированных флавонов кожуры мандарина, после многостадийной очистки с использованием твердофазной экстракции. Для отнесения пиков на хроматограмме использовали сравнение времен удерживания и электронных спектров поглощения хлорогеновой кислоты полугидрата (Aldrich); кофейной (Alfa Aesar), *para*-кумаровой (Alfa Aesar), феруловой (Alfa Aesar) и синаповой (Alfa Aesar) кислот, нарингина (Aldrich) и гесперидина (Aldrich).

### Обсуждение результатов

Экстракция флавоноидов из кожуры мандаринов. Количественно экстракцию флавоноидов оценивали спектрофотометрическим методом, выражая результат в виде приведенной оптической плотности, ОП\*, рассчитываемой как произведение оптической плотности ОП(284) разбавленного этанолом экстракта при длине волны 284 нм на кратность разведения, *kp*, и на объем экстракта, *V*, дм<sup>3</sup>, деленное на массу навески кожуры, *m*, г:

$$\text{ОП}^* = \frac{\text{ОП} \cdot V \cdot kp}{m}. \quad (1)$$

Пересчет на концентрацию, например, гесперидина с использованием литературных данных по коэффициенту молярного поглощения был лишен смысла, поскольку спектры гликозидов флаванонов и полиметоксилированных флавонов перекрываются, см. рис. 1, мешая определению друг друга. Следует обратить внимание на то, что у гликозидов флаванонов

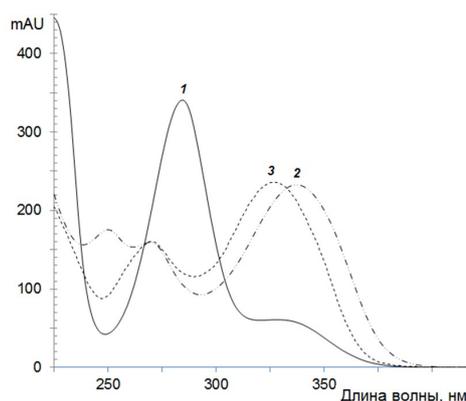


Рис. 1 Электронные спектры поглощения гесперидина (1), нобилетина (2) и тангеретина (3)  
 Fig. 1 Electron absorption spectra of hesperidin (1), nobiletin (2) and tangeretin (3)

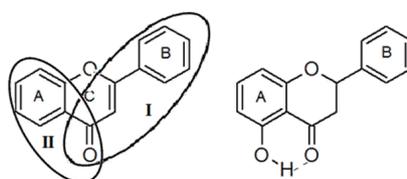


Схема 2. К объяснению возникновения двух полос поглощения у флавоноидов

имеется две полосы – относительно коротковолновая (284 нм) и более длинноволновая – в диапазоне 325-350 нм. Для флавоноидов с сопряжением колец А и В (через кольцо С) длинноволновую полосу обозначают как полосу I [16-18], тогда как коротковолновую – полосой II, схема 2.

Эти полосы интерпретируют как полосы: I – коричневого (с переходом электрона, локализованном на кольцах В и С) и II – бензойного (локализованном на кольце А с карбонильной группой кольца С) типов, соответственно. Соблазна назвать длинноволновую полосу во флаванонах полосой I с точки зрения химии лишен смысла, поскольку в этих соединениях нет сопряжения через кольцо С. Наиболее вероятно, что длинноволновая полоса связана с участием ОН-группы в положении 5 в водородной связи с карбонильным кислородом, и интенсивность этой полосы возрастает при росте рН [19].

По литературным данным гесперидин и нарингин в воде не растворимы, поэтому для повышения растворимости этого флавоноида используют добавки 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина [20]. В настоящей работе использовали также

«зеленый» вариант экстракции – смесями этанола с водой [21].

Вначале исследовали эффективность экстракции нескольких различных смесей этанола с водой. Затем оценивали влияние соотношения «растительный материал : экстрагент» (как соотношение массы навески к объему экстрагента). Полученные результаты приведены в табл. 1.

Из представленных результатов следует, что чем выше концентрация этанола в воде, тем немногим полнее экстрагируются флавоноиды, поэтому не обязательно использовать 95%-ный спирт, а можно концентрацию спирта в экстрагенте понизить до 60%. При этом дополнительными исследованиями было установлено, что в первую экстракцию извлекается около 83% флавоноидов из растительного сырья, а во вторую экстракцию удаётся извлечь ещё около 16% флавоноидов.

Для определения компонентов экстрактов кожуры мандаринов методом обращенно-фазовой хроматографии в настоящей работе была выбрана стационарная фаза

Таблица 1. Результаты экстракции флавоноидов из высушенной кожуры мандаринов растворами этанола в воде (объемом 20 см<sup>3</sup>) при комнатной температуре  
 Table 1. Results of flavonoids extraction from dried tangerines peel with solutions of ethanol in water at room temperature

№	Навеска, г	Объемная доля этанола в экстрагенте, %	Приведенная оптическая плотность*
1	0.504	20	1.50±0.12
2	0.503	40	1.55±0.12
3	0.503	60	1.66±0.13
4	0.505	80	1.70±0.13
5	0.100	95	1.58±0.14
6	0.201	95	2.16±0.17
7	0.300	95	1.98±0.16
8	0.402	95	2.08±0.16
9	0.500	95	1.89±0.15
10	0.600	95	1.89±0.15

\*рассчитана по уравнению 1.

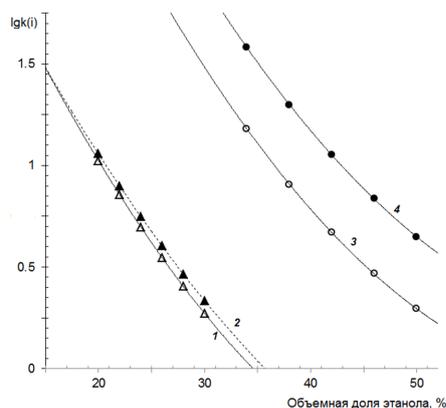


Рис. 2 Удерживание нарингина (1), гесперидина (2), нобилетина (3) и тангеретина (4) в элюентах системы «этанол – 0.2 об. % ортофосфорной кислоты – вода» при 30°C на стационарной фазе Kromasil 100-5C18

Fig. 2 Retention of naringin (1), hesperidin (2), nobiletin (3) and tangeretin (4) in mobile phases of system «ethanol – 0.2 об. % orthophosphoric acid – water» at 30°C on stationary phase Kromasil 100-5C18

нарная фаза Kromasil 100-5C18 с экологически наиболее благоприятным модификатором – этанолом, а для подкисления использовали ортофосфорную кислоту. Зависимость удерживания гликозидов флаванонов и полиметоксилированных флавонов кожуры мандарина приведена на рис. 2. При этом для идентификации соединений достаточно сопоставить электронные спектры поглощения, записанные в кювете детектора, рис. 1, с приведенными в литературе [22, 23]. Можно обратить внимание на то, что нобилетин имеет больше метокси-заместителей

(шесть) по сравнению с тангеретином (пять метокси-групп). При этом нобилетин логично имеет большую длину волны максимума самой длинноволновой полосы, но, вопреки ожиданиям, слабее удерживается, причем такой порядок элюирования остается неизменным при аппроксимации удерживания даже на подвижную фазу с нулевой концентрацией этанола.

Вследствие большого различия в удерживании рассмотренных двух групп фла

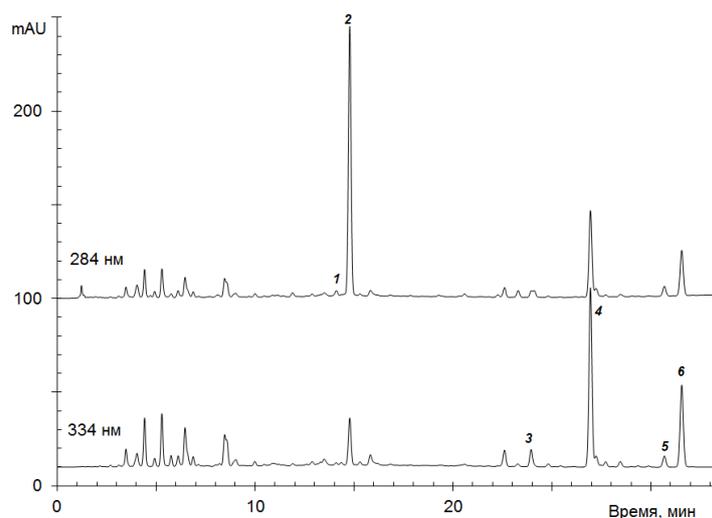


Рис. 3 Разделение флавоноидов экстракта кожуры мандаринов, варианты хроматограмм, записанные при 284 и 334 нм. Вещества: нарингин (1), гесперидин (2), синенсетин (3), нобилетин (4) и тангеретин (6)

Fig. 3 Separation of tangerines peel flavonoid extract, chromatograms versions obtained at 284 and 334 nm. Substances: naringin (1), hesperidin (2), sinensetin (3), nobiletin (4) and tangertin (5)

Таблица 2. Содержание флавоноидов в высушенной кожуре мандаринов различных производителей, мг/г

Table 2. Concentration of flavonoids in dried peel of tangerines of different producers, mg/g

№	Образец, происхождение	Содержание флавоноидов, мг/г			
		гесперидин	нарингин	нобилетин	тангеретин
1	неизвестно	34.6±1.2	0.58±0.06	0.32±0.04	0.096±0.009
2	неизвестно	28.6±1.3	0.53±0.06	1.52±0.14	0.52±0.03
3	неизвестно	26.6±1.0	0.33±0.02	0.70±0.06	0.28±0.03
4	Китай	38.4±1.1	1.15±0.02	0.47±0.04	0.20±0.02
5	Турция	30.0±1.2	0.32±0.03	2.43±0.16	1.17±0.11
6	Абхазия	34.0±1.1	Менее0.05	1.05±0.08	0.60±0.04
7	ЮАР	27.5±1.2	0.28±0.01	2.27±0.15	1.18±0.12
8	неизвестно	39.9±1.0	0.54±0.03	0.88±0.06	0.37±0.02
9	Марокко	26.0±1.2	Менее0.05	1.01±0.09	0.27±0.02
10	Китай, мелкий	28.5±1.0	Менее0.05	10.90±0.95	5.43±0.21

воноидов (гликозидов флаванонов и полиметоксилированных флавонов) одновременное определение всех компонентов возможно только в градиентном режиме. Более того, в градиентном режиме необходимо учесть присутствие в экстрактах еще слабее удерживаемых замещенных коричневых кислот, или их гликозидов [24-26]. В выполненном исследовании было установлено, что удобным вариантом градиентного элюирования оказался предложенный в экспериментальной части вариант. Пример хроматограммы, полученной в данном режиме в

двух вариантах записи по длинам волн: 284 нм для определения гликозидов флаванонов и 334 нм для определения полиметоксифлавонов, предложен на рис. 3.

Результаты анализа флавоноидов в высушенной кожуре 10 сортов мандаринов различных производителей, показали, что различия по этим показателям существенны, табл. 2. Прежде всего, следует отметить, что первая группа соединений с удерживанием от 4 до 7 мин (рис. 3), детектируемых при 334 нм, не относятся к самим фенольным кислотам, но их сход-



ство по электронным спектрам поглощения можно воспринимать как наличие гликозидных производных этих фенольных кислот [27]. При этом содержание нобилетина в кожуре мелкоплодного мандарина из Китая оказалось во много раз больше, чем в кожуре остальных исследованных образцов. Следовательно, именно этот сорт, отличающийся высокими вкусовыми свойствами, наиболее перспективен для комплексной переработки с целью получения полиметоксилированных флавонов.

### Заключение

В работе с использованием экологически благоприятной технологии с исполь-

### Список литературы/References

1. Cornélio M.T.M.N., Figueirôa A.R.S., Santos K.G.B., Carvalho R., Soares Filho W.S., Guerra M. Chromosomal relationships among cultivars of *Citrus reticulata* Blanco, its hybrids and related species. *Plant Syst. Evol.* 2003; 240: 149-161. <https://doi.org/10.1007/s00606-003-0012-3>
2. Anticono M., Lopez-Malo D., Frigola A., Esteve M.J., Blesa J. Comprehensive analysis of polyphenols from hybrid Mandarin peels by SPE and HPLC-UV. *LWT. Food Sci. Technol.* 2022; 165: 113770. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113770>
3. Manthey J.A., Grohmann K. Phenols in Citrus Peel Byproducts. Concentrations of Hydroxycinnamates and Polymethoxylated Flavones in Citrus Peel Molasses. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49: 3268-3273. <https://doi.org/10.1021/jf010011r>
4. Zhong W.-J., Luo Y.-J., Li J., Wu Y.-P., Gao Y.-J., Luo H.-J., Yang Y.-T., Jiang L. Polymethoxylated flavonoids from *Citrus reticulata* Blanco. *Biochem. Systemat. Ecol.* 2016; 68: 11-14. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.02.031>
5. Lv X., Zhao S., Ning Z., Zeng H., Shu Y., Tao O., Xiao C., Lu C., Liu Y. Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for

зованием экстракционного, спектрофотометрического и хроматографического методов определен флавоноидный состав (по основным компонентам) высушенной кожуры 10 сортов мандаринов различных производителей и определен наиболее перспективный сорт для комплексной переработки.

### 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.

human health. *Chem. Central J.* 2015; 9: 68. <https://doi.org/10.1186/s13065-015-0145-9>

6. Jokić S., Šafranko S., Jakovljević M., Cikoš A.-M., Kajić N., Kolarević F., Babić J., Molnar M. Sustainable Green Procedure for Extraction of Hesperidin from Selected Croatian Mandarin Peels. *Processes.* 2019; 7: 469. <https://doi.org/10.3390/pr7070469>

7. Milejkovskaya E., Yoo S.-H., Douhan U., Chen Z.H. Nobiletin: napravlennoe vozdejstvie na cirkadnye ritmy dlya obespecheniya normal'noj bioenergetiki i zdorovogo starenija. *Biohimiya.* 2020; 85: 1829-1836. <https://doi.org/10.31857/S0320972520120076> (In Russ.)

8. Yamada S., Shirai M., Ono K., Teruya T., Yamano A., Woo J.T. Beneficial effects of a nobiletin-rich formulated supplement of Sikwasa (*C. depressa*) peel on cognitive function in elderly Japanese subjects; A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Food Sci. Nutr.* 2021; 9: 6844-6853. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2640>

9. Dzhancharova G.K., Muhametzyanov R.R., Platonovskij N.G., Arzamasceva N.V., Ivancova N.N., Vasil'eva E.N., Fedorchuk Mak-Eachen A.I. Rossiya i drugie strany mira v mezhdunarodnoj torgovle citrusovymi fruktami. *Moskovskij ekonomicheskij zhurnal.* 2021; 12: 39.



URL: <https://qje.su/ekonomicheskaya-teoriya/moskovskij-ekonomicheskij-zhurnal-12-2021-21>. (In Russ.)

10. Emel'yanov A.A., Emel'yanov K.A., Kuznecova E.A. Biologicheski aktivnye produkty pererabotki plodov mandarina. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2013; 11: 76-78 (In Russ.)

11. Krasenkov O.I., Nadykta V.D., Gorlov S.M., Kvasenkov I.I., Donchenko L.V., Rodionova L.Ya. Sposob proizvodstva pektina iz citrusovyh vyzhimok / Patent RU 2238995 C2. (In Russ.)

12. Zabusova V.V., Demakova E.A., Parshikova V.N., Stepen' R.A. Efirnye masla iz othodov realizacii i potrebleniya plodov citrusovyh. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. 1999; 4: 105-111 (In Russ.)

13. Mouly P., Gaydou E.M., Auffray A. Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1988; 800: 171-179. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)01131-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(97)01131-x)

14. Liu E.-H., Zhao P., Duan L., Zheng G.-D., Guo L., Yang H., Li P. Simultaneous determination of six bioactive flavonoids in *Citri Reticulatae* Pericarpium by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2013; 141: 3977-3983. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.077>

15. Chen Q., Gu Y., Tan C., Sundararajan B., Li Z., Wang D., Zhou Z. Comparative effects of five polymethoxyflavones purified from *Citrus tangerina* on inflammation and cancer. *Front. Nutr.* 2022; 9: 963662. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.963662>

16. Malešev D., Kunti V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.* 2007; 72: 921-939. <https://doi.org/10.2298/JSC0710921M>

17. Kumar S., Pandey A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An

Overview. *Scientific World J.* 2013; 2013: 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

18. Tsimogiannis D., Samiotaki M., Panayotou G., Oreopoulou V. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*. 2007; 12: 593-606. <https://doi.org/10.3390/12030593>

19. Deineka V.I., Lapshova M.S., Makarevich S.L., Provornaya T.V., Deineka L.A. Kompleksoobrazovanie digidrokvertetina s  $\beta$ -ciklodekstrinom // Fenol'nye soedineniya: fundamental'nye i prikladnye aspekty [Tekst]: materialy dokladov VIII Mezhdunarodnogo simpoziuma, Moskva, 2-5 oktyabrya 2012 g. / otv. Red. N.V. Zagorskina. M.: IFR RAN; RUDN, 2012; 51-55 (In Russ.)

20. Majumdar S., Srirangam R. Solubility, Stability, Physicochemical Characteristics and *In Vitro* Ocular Tissue Permeability of Hesperidin: a Natural Bioflavonoid. *Pharm Res.* 2009; 26: 1217-1225. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9729-6>

21. Xu R., Cong Y., Zheng M., Chen G., Chen J., Zhao H. Solubility and Modeling of Hesperidin in Cosolvent Mixtures of Ethanol, Isopropanol, Propylene Glycol, and *n*-Propanol + Water. *J. Chem. Eng. Data*. 2018; 63: 764-770. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00948>

22. Sun Y., Wang J., Gu S., Liu Z., Zhang Y., Zhang X. Simultaneous Determination of Flavonoids in Different Parts of *Citrus reticulata* 'Chachi' Fruit by High Performance Liquid Chromatography—Photodiode Array Detection. *Molecules*. 2010; 15: 5378-5388. <https://doi.org/10.3390/molecules15085378>

23. Duan L., Guo L., Liu K., Liu E.-H., Li P. Characterization and classification of seven Citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. *J. Chromatogr. A*. 2014; 1339: 118-127. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.02.091>

24. Anticono M., Lopez-Malo D., Frigola A., Esteve M.J., Blesa J. Comprehensive



analysis of polyphenols from hybrid Mandarin peels by SPE and HPLC-UV. *LWT - Food Sci. Technol.* 2022; 165: 113770. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113770>

25. Šafranko S., Ćorković I., Jerković I., Jakovljević M., Aladić K., Šubarić D., Jokić S. Green Extraction Techniques for Obtaining Bioactive Compounds from Mandarin Peel (*Citrus unshiu* var. Kuno): Phytochemical Analysis and Process Optimization. *Foods.* 2021; 10: 1043. <https://doi.org/10.3390/foods10051043>

26. Safdar M.N., Kausar T., Jabbar S., Mumtaz A., Ahad K., Saddozai A.A. Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration technique. *J. Food Drug Anal.* 2017; 25: 488-500. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.07.010>

27. Yang Y., Zhao X.J., Pan Y., Zhou Z. Identification of the chemical compositions of Ponkan peel by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Methods.* 2016; 8: 893-903. <https://doi.org/10.1039/C5AY02633D>

### Информация об авторах / Information about the authors

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

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

**Я.Ю. Саласина** – доцент кафедры общей химии, к.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

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

**М. Мохаммед** – магистрант кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

**Л.А. Дейнека** – доцент кафедры общей химии, кандидат химических наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

**И.С. Пронин** – аспирант кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

**V.F. Selemenev** – DSci in chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: [com-mon@chem.vsu.ru](mailto:com-mon@chem.vsu.ru)

**V.I. Deineka** – Professor of General Chemistry Department. Dr. Sci.(Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russia, e-mail: [deineka@bsuedu.ru](mailto:deineka@bsuedu.ru)

**Ya.Yu. Salasina** – Docent of General Chemistry Department. Dr. Ph.(Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russia, e-mail: [salasina@bsuedu.ru](mailto:salasina@bsuedu.ru)

**T.V. Eliseeva** – Head of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: [tatyanaeliseeva@yandex.ru](mailto:tatyanaeliseeva@yandex.ru)

**M. Mohammed** – master student, Department of General Chemistry, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, email: [1649550@bsu.edu.ru](mailto:1649550@bsu.edu.ru)

**L.A. Deineka** – Docent of General Chemistry Department. Dr. Ph.(Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russia, e-mail: [deyneka@bsuedu.ru](mailto:deyneka@bsuedu.ru)

**I.S. Pronin** – PhD student, Department of General Chemistry, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, e-mail: [1244380@bsu.edu.ru](mailto:1244380@bsu.edu.ru)

Статья поступила в редакцию 25.12.2023; одобрена после рецензирования 17.01.2024; принята к публикации 07.02.2024.

The article was submitted 25.12.2023; approved after reviewing 17.01.2024; accepted for publication 07.02.2024.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12020

### Особенности сорбции метиленового голубого биоуглями на основе карбонизатов сосны и березы

Елена Викторовна Томина<sup>1,2</sup>, Наталия Анатольевна Ходосова<sup>1✉</sup>,  
Нгуен Ань Тьен<sup>3</sup>, Варвара Евгеньевна Мануковская<sup>1</sup>, Нгуен Хоанг Хай<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Российская Федерация, [nhodosova@mail.ru](mailto:nhodosova@mail.ru)✉

<sup>2</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

<sup>3</sup>Педагогический университет Хошимина, Хошимин, Вьетнам

**Аннотация.** Карбонизацией опилок при 500°C в течение 3 часов со скоростью нагрева до данной температуры 10°C/мин получены сосновый и березовый биоугли с достаточно хорошим выходом для медленного пиролиза в 29 и 36% и размером частиц до 160 и 350 мкм соответственно. Щелочная активация в течение 2 часов приводит к уменьшению размера частиц (20-60 мкм для березового и 50-150 мкм для соснового углей), возрастанию насыпной и истинной плотностей, небольшому увеличению pH. Методом энергодисперсионного анализа установлена углеродная основа активированных биоуглей, выявлена тенденция увеличения содержания углерода и снижения кислорода в результате активации, что ведет к снижению отношения O/C для березового угля до 0.258, для соснового – до 0.243.

Кинетические кривые сорбции красителя метиленового голубого на всех исследуемых образцах углей корректно описываются моделью псевдо-второго порядка. Скорость адсорбции зависит от количества адсорбционных центров и контролируется вкладом химической реакции. Вероятна значительная доля электростатических взаимодействий катионного красителя с отрицательно заряженной поверхностью биоуглей. Сорбционная емкость исходного и активированного березового угля в 2 раза выше соответствующих образцов из сосны. Модель адсорбции Ленгмюра корректно описывает сорбцию метиленового голубого на исследуемых биоуглях, что подтверждается высокими значениями коэффициентов корреляции. Эффективность очистки от катионного красителя метиленового голубого сорбцией на активированных биоуглях из березы и сосны достигает 98 и 49 % соответственно, что согласуется со значениями адсорбционной емкости и скоростями сорбции на этих образцах углей.

**Ключевые слова:** биоуголь, карбонизация, кинетика сорбции, краситель метиленовый голубой.

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

**Для цитирования:** Томина Е.В., Ходосова Н.А., Нгуен Ань Тьен, Мануковская В.Е., Нгуен Хоанг Хай Особенности сорбции метиленового голубого биоуглями на основе карбонизатов сосны и березы // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 44-55. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12020>

Original article

### Specific features of the sorption of methylene blue by biochars based on pine and birch carbonizates

Elena V. Tomina<sup>1,2</sup>, Natalia A. Khodosova<sup>1✉</sup>, Anh Tien Nguyen<sup>3</sup>,  
Varvara E. Manukovskaya<sup>1</sup>, Nguyen Hoang Huy<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Morozov Voronezh State University of Forestry and Technologies, Voronezh, Russian Federation, [nhodosova@mail.ru](mailto:nhodosova@mail.ru)✉

<sup>2</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

<sup>3</sup>Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam



**Abstract.** We obtained pine and birch biochars by carbonising sawdust at 500°C for 3 hours with a heating rate to the specified temperature of 10°C/min, with a fairly good yield for slow pyrolysis of 29% and 36% and particle sizes of up to 160 and 350 µm, respectively. Two-hour alkaline activation resulted in a decrease in particle size (20–60 µm for birch and 50–150 µm for pine coals), an increase in bulk and real densities, and a slight increase in pH. Using the energy dispersive analysis, we established the carbon basis of activated biochars and identified a tendency to an increase in the carbon content and a decrease in oxygen as a result of activation, which led to reduced O/C ratio of 0.258 for birch charcoal and 0.243 for pine charcoal.

The kinetic sorption curves of the methylene blue dye on all studied coal samples were correctly described by a pseudo-second order model. The adsorption rate depended on the number of adsorption centres and was controlled by the contribution of the chemical reaction. A significant share of electrostatic interactions between the cationic dye and the negatively charged biochar surface could be expected. The sorption capacity of the initial and activated birch charcoal was twice higher than the corresponding pine samples. The Langmuir adsorption model correctly described the sorption of methylene blue on the studied biochars, which was confirmed by the high values of correlation coefficients. The efficiency of sorption purification from the cationic methylene blue on activated biochars from birch and pine reached 98 and 49%, respectively, which agreed well with the values of the adsorption capacity and sorption rates on these coal samples.

**Keywords:** biochar, carbonisation, sorption kinetics, methylene blue dye.

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

**For citation:** Tomina E.V., Khodosova N.A., Nguyen Anh Tien, Manukovskaya V.E., Nguyen Hoang Huy Specific features of the sorption of methylene blue by biochars based on pine and birch carbonizates. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2024. 24(1): 44-55. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2024.24/12020>

## Введение

Углеродные материалы в настоящее время являются одними из наиболее широко используемых материалов для очистки водных и газовых сред. Одной из разновидностей таких материалов являются биоугли. Характеристики получаемого угля зависят от технологии производства и исходных органических материалов. Крупный устойчивый уголь получают из отходов деревообрабатывающей промышленности, а более мелкий, имеющий непостоянный состав уголь получают из растительных остатков [1]. Время и температура карбонизации влияют на процентное содержание углерода и степень его ароматизации в конечном продукте [2]. Содержание золы в угле непостоянно и зависит от характеристик биомассы, взятой для переработки. Древесина, заготовленная летом, содержит больше золы, чем заготовленная зимой, так как в теплое время года идет всасывание воды из почвы и в дерево поступают растворимые в воде соли. Состав поступающих в дерево солей зависит от химического состава почвы, который по содержанию элементов может быть весьма

разнообразен. Угли являются пористыми веществами, пористость угля обуславливает и его высокую удельную поверхность. На величину удельной поверхности оказывают влияние и порода древесины и условия пиролиза, от которых зависит объем «закрытых» пор. Существует 4 типа пор: – макропоры ( $d > 50$  нм), мезопоры (переходные,  $d \sim 2.0-50$  нм), микропоры (0.4-2.0 нм); и субмикропоры ( $d < 0.4$  нм). Присутствие микро- и переходных пор обуславливает увеличение удельной поверхности материала. Макропоры облегчают доступ реагентов к его внутренней поверхности, способствуя ускорению химических превращений [3].

В результате физической или химической активации свойства биоугля можно изменить: увеличить площадь поверхности или использовать поверхность в качестве матрицы для внедрения другого материала с новыми поверхностными свойствами, с новыми функциональными группами [4-8]. В ряде работ отмечена связь между способностью к адсорбции загрязняющих веществ и площадью поверхности биоугля [9,10], Наличие функциональных групп также влияет на спо-

способность к сорбции биоугля [11]. Химическая сорбция осуществляется за счет ионного обмена с функциональными группами на углеродной поверхности биоугля, такими как карбоксильные, гидроксильные или фенольные группы [12]. Эти группы придают биоуглю катионообменную способность (СЕС), различающуюся в зависимости от сырья и температуры пиролиза. Физическая сорбция обусловлена взаимодействием между положительно заряженными ионами в воде и делокализованным облаком электронов, связанных с ароматическими группами на поверхности биоуглей, что приводит к катион- $\pi$ -связыванию с ароматическими структурами  $C=C$  [12].

Целью данной работы являлось установление влияния природы древесного сырья и режимов его карбонизации на характеристики получаемых биоуглей и эффективность сорбции ими красителя метиленового голубого.

### Экспериментальная часть

Образцы биоуглей получены на основе отходов деревоперерабатывающей промышленности – опилок сосны и березы, исходная фракция менее 1 мм. Опилки сжигали в закрытом реакторе со скоростью  $10^\circ\text{C}/\text{мин}$  при температурах 400, 450, 500,  $600^\circ\text{C}$ , при достижении необходимой температуры образцы выдерживали в реакторе до образования углей. Дальнейшую модификацию осуществляли 2 М раствором гидроксида калия, в соотношении образец – модификатор 1:4 при температуре  $21^\circ\text{C}$ . Модифицированные образцы отмывали дистиллированной водой и высушивали до постоянной массы при температуре  $105\text{-}110^\circ\text{C}$ .

Морфологию поверхности биоуглей и количественный элементный анализ исследовали методом растровой электронной микроскопии (РЭМ, JSM-6380LV JEOL с системой микроанализа INCA 250). Гистограмму распределения частиц по размерам строили с использованием

программы «ImageJ», версия 1.53к. Определение функциональных групп образцов биоуглей проведено на ИК-Фурье спектрометре Vertex-70 фирмы Bruker с использованием приставки Platinum ATR, позволяющей снимать ИК-спектры в интервале волновых чисел  $4000\text{-}400\text{ см}^{-1}$ .

Изучение кинетики сорбции проводили в статических условиях ( $t=21^\circ\text{C}$ ) с использованием исходных биоуглей и образцов после модификации. Для анализа брали 0.1 г сорбента и добавляли  $10\text{ см}^3$  раствора красителя с концентрацией 4.5 мг/г. Адсорбционную емкость определяли каждые 30 минут. Концентрацию красителя метиленового голубого (МГ) определяли фотометрически на фотокolorиметре КФК-2, используя длину волны 660 нм. Для определения адсорбции МГ была использована методика, представленная в ГОСТ 4453-74 [13]. Водные растворы готовили с использованием красителей квалификации «ч.д.а».

Равновесную сорбционную емкость рассчитывали по формуле:

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

где  $A$  – количество адсорбированного красителя, мг/г,  $C_n$  – начальная концентрация раствора, мг/дм<sup>3</sup>,  $C_p$  – равновесная концентрация раствора, мг/дм<sup>3</sup>,  $V$  – объем раствора, дм<sup>3</sup>,  $m$  – масса образца, г.

Для описания кинетических кривых адсорбции использовали известные математические модели псевдо-первого и псевдо-второго порядка [14] и графическим методом рассчитывали значения констант скоростей.

Интегральные уравнения кинетических моделей псевдо-первого и псевдо-второго порядка соответственно имеют вид:

$$\ln(A_{\text{равн}} - A) = \ln A_{\text{равн}} - k_1 t, \quad (1)$$

$$\frac{t}{A} = \frac{1}{k_2 A_{\text{равн}}^2} + \frac{1}{A_{\text{равн}}} t, \quad (2)$$

где  $A$  – адсорбция в момент времени  $t$ ;  $A_{\text{равн}}$  – равновесная адсорбция;  $k_1$  – константа скорости адсорбции для модели псевдо-первого порядка,  $k_2$  – константа

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

Образец	Влажность, W, %	pH	Насыпная плотность, г/дм <sup>3</sup>	Истинная плотность, г/дм <sup>3</sup>
БС	3.4	6.5	145.6	1065
БС+КОН	4.1	7.2	156.5	1108
ББ	4.2	7.1	190.1	1203
ББ+КОН	5.7	7.3	194.1	1269

БС, ББ – биоуголь березовый, сосновый, БС (ББ)+КОН – биоуголь, модифицированный 2М раствором КОН

скорости адсорбции для модели псевдoвторого порядка.

Эффективность очистки от красителя рассчитывалась по формуле:

$$\varepsilon = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%, \quad (3)$$

где  $\varepsilon$  – эффективность очистки, %;  $C_0$  – исходная концентрация красителя, мг/г;  $C$  – остаточная концентрация красителя, мг/г.

### Обсуждение результатов

Осуществление карбонизации опилок при 500°C со скоростью нагрева 10°C/мин и выдержка в течение 3 ч. при данной температуре позволяют достичь выхода соснового биоугля (БС) в 29%, а березового биоугля (ББ) – в 36%. Это представляется достаточно хорошими показателями, поскольку для медленного пиролиза выход биоугля составляет обычно 25-35% [15]. Проведение карбонизации при 400 и 450°C удлиняло процесс по времени до 5 часов, не увеличивая значимо выход биоугля. Подъем температуры пиролиза до 600°C приводил к увеличению pH биоугля значительно выше 7, вероятно, за счет обогащения не подвергающимися пиролизу неорганическими элементами, такими как калий и кальций, наличие которых подтверждено энергодисперсионным анализом. Ожидается, что повышение температуры пиролиза будет способствовать снижению содержания летучих веществ в биоугле и обогащению его связанным углеродом. В нашем исследовании повышение температуры до 600°C приводит к большим по-

терям кислорода по сравнению с потерями углерода, что в основном связано с реакциями дегидратации и декарбоксилирования при разложении материалов древесных отходов. В результате молярное соотношение O/C в биоугле снижается, а, следовательно, снижается и содержание кислородсодержащих функциональных групп, являющихся активными сорбционными центрами.

Физико-химические характеристики биоуглей до и после активации КОН представлены в табл. 1.

Отмечается возрастание насыпной и истинной плотности в образцах биоуглей после модификации. В работе [16] выявлены эффекты существенного влияния дисперсного состава угольной пыли на ее насыпную и истинную плотность. Модификация щелочью приводит к уменьшению размера частиц биоугля в целом и уменьшению размера частиц преобладающей фракции (рис. 1). Для активированного березового биоугля максимальный размер частиц уменьшался со 160 мкм до 100 мкм по сравнению с исходным ББ, а размер преобладающей фракции частиц – с 20-80 мкм до 20-60 мкм. Для биоугля из сосны после активации максимальный размер частиц изменялся с 350 до 300 мкм, размер основной фракции – с 50-250 до 50-150 мкм. С этим связано возрастание насыпной и истинной плотностей, причем для соснового угля это более выражено (табл. 1).

Методом энергодисперсионного анализа установлена углеродная основа исходного и активированного биоуглей из березы и сосны (табл. 2). После физико-

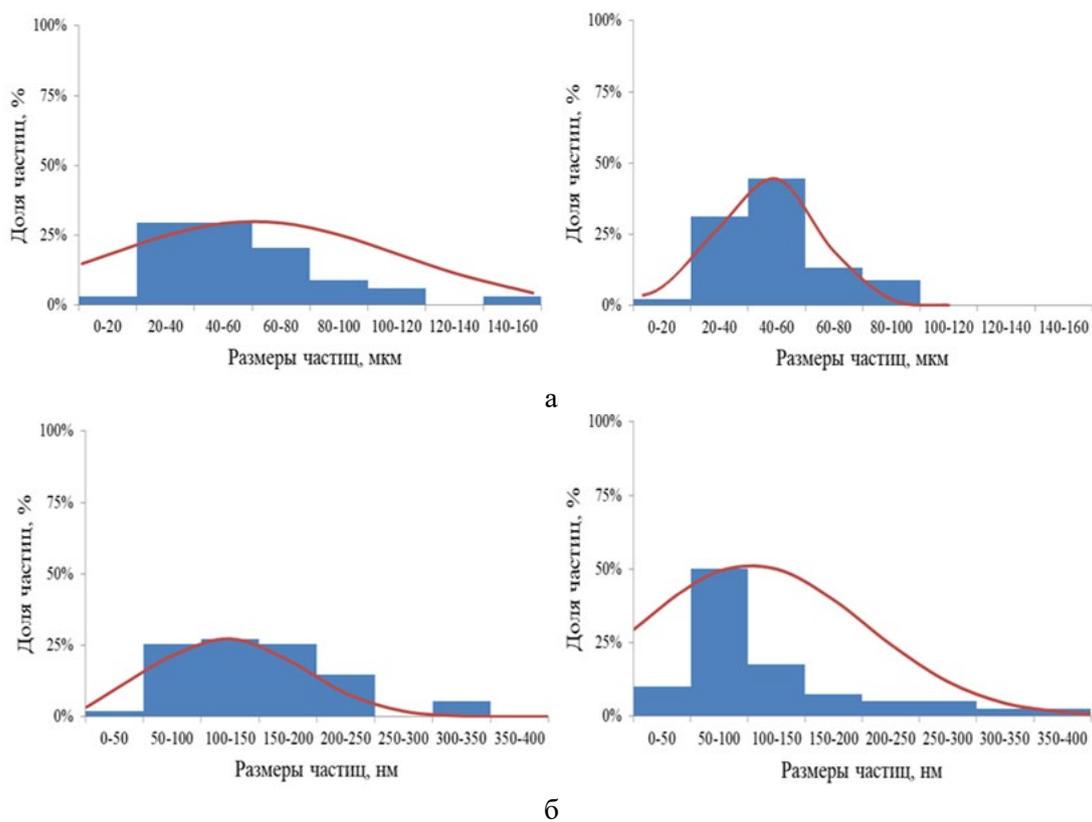


Рис. 1. Гистограммы распределения частиц биоуглей по размерам: (а) березового биоугля до и после модификации КОН и (б) соснового биоугля до и после модификации КОН.  
 Fig. 1 Histograms of biochar particle size distribution: (a) birch biochar before and after KOH modification and (b) pine biochar before and after KOH modification.

Таблиц. 2. Элементный состав образцов  
 Table 2. Elemental composition of the samples

Образец	Элемент, ат.%						
	C	O	K	Ca	P	Mg	S
БС	76.38	23.17	0.25	0.08	-	0.04	0.08
БС+КОН	79.84	19.48	0.29	0.13	-	0.15	0.11
ББ	76.46	23.22	0.02	0.27	0.03	-	-
ББ+КОН	79.04	20.37	0.05	0.50	0.04	-	-

ББ, БС – биоуголь береза, сосна; ББ+КОН (БС+КОН) - биоуголь, модифицированный раствором КОН

химической активации березового биоугля содержание углерода несколько увеличивается с 76.46 до 79.04 ат.%, тогда как содержание кислорода немного снижается с 23.22 до 20.37 ат.%. Такая же тенденция наблюдается и для соснового биоугля: содержание С до и после активации составляет 76.38 и 79.84 ат.%, содержание О – 23.17 и 19.48 ат.% соответственно. В древесных биоуглях установлено наличие таких биогенных элементов как кальций, калий, фосфор, магний, сера.

Для биоугля, полученного карбонизацией опилок березы, отношение О/С составляет 0.304. После активации этот параметр уменьшается до 0.258, что, связано с увеличением числа двойных связей С=С и уменьшением содержания кислорода. Для соснового биоугля после карбонизации отношение О/С составляет 0.303, после активации О/С уменьшается до 0.243. Это указывает на увеличение ароматичности угля после активации, что со-

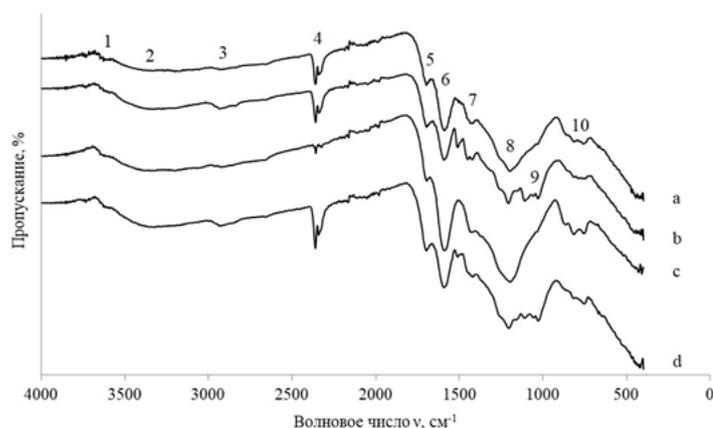


Рис. 2. ИК спектры образцов биоуглей: а – БС, b – БС + КОН, с – ББ, d – ББ + КОН (минимумы пропускания: 1– 3770, 2 – 3660, 3 – 2950, 4 – 2370, 5 – 1700, 6 – 1600, 7 – 1450, 8 – 1200, 9 – 1060, 10 – 820  $\text{cm}^{-1}$ ).

Fig. 2. IR spectra of samples

гласуется с данными ИКС (рис. 2), и гидрофобности поверхности угля с высоким адсорбирующим средством к органическим загрязнителям.

Методом ИКС (рис. 2) установлен полифункциональный характер поверхности биоугля (основные группы -ОН, -СН<sub>2</sub>, С=О, С=С и -СН<sub>3</sub>). Широкий минимум пропускания в интервале 3250-3500  $\text{cm}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям ОН-группы, в том числе и в карбоксильных группах [17]. На спектрах биоуглей в районе 3660  $\text{cm}^{-1}$  дифференцируется минимум малой интенсивности, который авторы [18] связывают с колебаниями ОН-группы в неорганическом минерале. Полоса при 2950  $\text{cm}^{-1}$  может быть отнесена к валентным колебаниям С-Н связи в СН<sub>3</sub>- и СН<sub>2</sub>- группах. Минимум с частотой 2370  $\text{cm}^{-1}$  обусловлен адсорбцией углекислого газа из атмосферы. Полоса в районе 1700  $\text{cm}^{-1}$  отвечает С=О связи в карбоксильных группах ароматических кислот. Наличие разнообразных хиноидных группировок на поверхности сорбента подтверждается интенсивным и широким минимумом в районе 1600  $\text{cm}^{-1}$ . К этой же области относятся и колебания связей С=С [19]. Достаточно большая доля ароматической составляющей в биоугле может быть связана с дегидролизом и ароматизацией углеводных колец во

время пиролиза. Возможна дополнительная циклизация алифатических углеводов, образующихся в результате крекинга, с последующим преобразованием их в ароматические углеводороды. Связи С=О дополнительно могут возникать при взаимодействии различных форм кислорода с атомами углерода в процессе пиролиза. Связи С-ОН соответствуют минимумы пропускания в интервале частот 1450...1460  $\text{cm}^{-1}$ . Асимметричные и симметричные колебания связи С-О в эфирных и карбоксильных группах обуславливают перекрывающиеся полосы в области 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Полосы в районе 1060  $\text{cm}^{-1}$  соответствуют колебаниям растяжения связи С-О на арильном кольце [18]. Минимумы пропускания при 600-800  $\text{cm}^{-1}$  соответствуют деформационным колебаниям С-Н – заместителей в арильных группах.

Необходимо отметить большую интенсивность минимума пропускания, отвечающего связи С=О, для исходного и активированного березовых биоуглей. Для этих же образцов более ярко выражен широкий и глубокий минимум в районе 1200  $\text{cm}^{-1}$ , что указывает на большее содержание кислородсодержащих функциональных групп со связью С-О. В целом данные ИКС коррелируют с результатами энергодисперсионного анализа, подтверждающего большее содержание

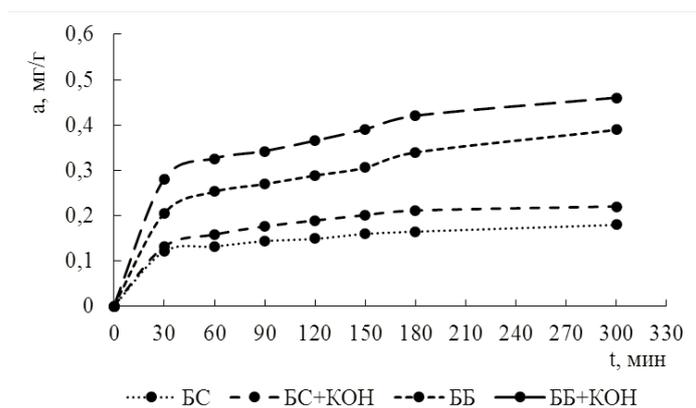


Рис. 3. Кинетические кривые исходных и модифицированных образцов биоуглей.  
 Fig. 3. Kinetic curves of initial and modified biochar samples.

Таблица 3 Параметры кинетической модели и величина сорбции МГ на биоуглях.  
 Table 3. Parameters of the kinetic model and the value of MB sorption on biochars

Образец	A <sub>p</sub> , мг/г	R <sup>2</sup>		k <sub>1</sub> , мин <sup>-1</sup>	k <sub>2</sub> , г·мг <sup>-1</sup> ·мин <sup>-1</sup>
		Псевдо-первый порядок	Псевдо-второй порядок		
BC	0.18	0.9440	0.9808	0.0017	0.0005
BC+KON	0.22	0.8427	0.8716	0.0024	0.0007
BB	0.39	0.9789	0.9868	0.0066	0.0046
BB+KON	0.46	0.9796	0.9902	0.0133	0.0082

кислорода в исходном и активированном березовом биоугле в сравнении с образцами биоугля из сосны.

Поскольку поверхность биоугля вследствие наличия большого числа кислородсодержащих функциональных групп имеет отрицательный заряд в качестве преимущественного сорбата был выбран катионный краситель метиленовый голубой (рН его раствора составляла 6.8). Кинетические кривые сорбции МГ для исходных и модифицированных образцов биоуглей представлены на рис. 3.

Кинетические кривые имеют схожий вид для всех образцов. Однако необходимо отметить, что на всем протяжении кинетической кривой величина сорбционной емкости исходного и активированного образцов березового биоугля в 2 раза выше, чем емкость образцов соснового биоугля, что указывает на большее сродство поверхности ББ и ББ+KON к красителю.

Для характеристики механизма сорбционного извлечения МГ из раствора исследуемыми сорбентами, экспериментальные кинетические кривые были описаны с привлечением моделей псевдо-первого и псевдо-второго порядка [20, 21]. Линейная аппроксимация экспериментальных данных показала, что модель псевдо-второго порядка наилучшим образом ( $R^2=0.99$ ) описывает кинетику исследуемого процесса (табл. 3). Следовательно, можно предположить, что скорость адсорбции красителя на поверхности исследованных сорбентов зависит от количества адсорбционных центров и контролируется вкладом химической реакции [22]. Однако в [23] отмечается, что возможность использования для описания кинетики уравнения псевдо-второго порядка не указывает однозначно на механизм процесса. В данном случае вероятно значительная доля электростатических взаимодействий катионного красителя с отрицательно заряженной поверхностью биоуглей.

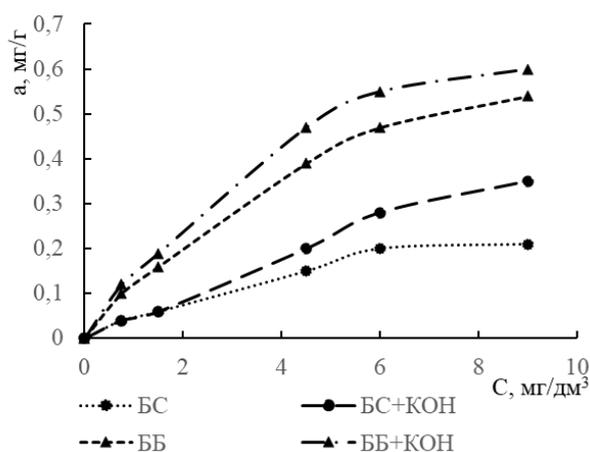


Рис. 4. Изотермы сорбции МС на полученных образцах биоуглей.  
Fig. 4. The sorption isotherms of MB on the obtained biochar samples

Значения константы скорости псевдотретьего порядка, рассчитанные из кинетических уравнений, для образцов ББ и ББ+КОН в 9-11 раз выше, чем для образцов БС и БС+КОН соответственно, что свидетельствует о более низкой скорости сорбционного процесса с участием исходного и активированного сосновых биоуглей.

Изотермы сорбции МГ на всех биоуглях из опилок сосны и березы имеют S-образную форму, значения сорбции МГ на исходных и активированных углях (попарно сосновых и березовых) близки в области низких концентраций (рис. 4). С ростом концентрации раствора МГ сорбция на активированных образцах возрастает быстрее, чем на исходных, что согласуется с данными [24]. Модификация раствором КОН увеличивает сорбцию красителя на биоуглях в 1.1-1.7 раза. Согласно [25] максимум оптической плотности МГ при длине волны 660 нм в области рН=2-6 является «маркером» присутствия красителя в окисленной окрашенной форме. Структурная формулы метиленового голубого позволяет предположить наличие ряда активных центров, которые могут участвовать во взаимодействии с поверхностью сорбента: диметиламиногруппы, гетероатомы азота и серы и  $\pi$ -систему гетероцикла. В случае катионной формы красителя локализация избыточного заряда происходит на атоме

азота в ненасыщенной диметиламиногруппе  $=N(CH_3)_2$  и в меньшей степени локализация избыточного заряда может осуществляться вблизи гетероатомов азота и серы [26]. Эти электронодонорные центры МГ могут участвовать в образовании водородной связи с активными О-Н группами сорбента. Это объясняет возрастание сорбции красителя на активированных щелочью биоуглях в сравнении с исходными карбонизатами.

Для метиленового голубого в растворе характерна тенденция к образованию ассоциатов за счет сил Ван-дер-Ваальса и водородных связей. При увеличении концентрации красителя возрастают размеры ассоциатов и уменьшается содержание катионов, поскольку резко подавляется диссоциация полярных групп, прежде всего, сульфогрупп, в молекуле МГ. Вследствие этого с ростом концентрации раствора МГ влияние на адсорбцию электростатического взаимодействия с поверхностью биоугля ослабевает. Преобладающим фактором становится увеличение площади удельной поверхности и пористости активированных биоуглей. Исходный сосновый биоуголь при концентрации красителя 6 мг/дм<sup>3</sup> достигает предела насыщения, для остальных углей изотермы плавно возрастают.

Таблица 4. Параметры уравнения модели адсорбции Ленгмюра, определенные для сорбции красителя метиленового голубого исследованными сорбентами

Table 4. Parameters of the Langmuir adsorption model equation determined for the sorption of methylene blue dye using the studied sorbents

Образец	Предельная сорбция, $A_{max}$ , мг/г	Константа равновесия, $K_p$
БС	0.4	0.148
БС+КОН	0.8	0.072
ББ	1.0	0.154
ББ+КОН	1.2	0.145

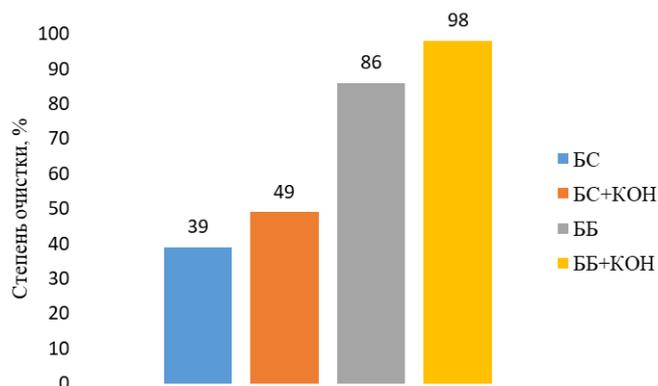


Рис. 5. Диаграмма эффективности очистки в зависимости от вида биоугля

Fig. 5. Purification efficiency diagram depending on the type of biochar

Для характеристики сорбционного равновесия, экспериментальные изотермы были аппроксимированы линейным уравнением модели адсорбции Ленгмюра.

Высокие значения коэффициентов корреляции подтверждают корректность описания данной моделью сорбции МГ на биоуглях. Значения констант сорбционного равновесия  $K_p$ , определенные из модели Ленгмюра, свидетельствуют о том, что в случае образца БС+КОН энергия сорбционного взаимодействия ниже, чем в случае стальных образцов, имеющих близкие значения  $K_p$  (табл. 4). Предварительная щелочная активация способствует возрастанию предельной сорбции на всех образцах.

Необработанные сосновый и березовый биоугли поглощают 39 и 86% красителя МГ (рис. 5). Эффективность очистки воды от катионного красителя метиленового голубого сорбцией на активированных биоуглях из сосны и березы достигает

49 и 98 % соответственно. Большая сорбционная емкость и практически в 2 раза большая степень очистки раствора от МГ для березового биоугля в сравнении с сосновым биоуглем связаны, видимо, с большим содержанием кислородсодержащих функциональных групп, а, следовательно, и с большим отрицательным зарядом поверхности и большей концентрацией активных центров сорбции. Свой вклад в уменьшение сорбционной емкости соснового биоугля может вносить и частичное закрытие пор продуктами пиролиза смолистых веществ, содержащихся в древесине сосны.

### Заключение

Установлены оптимальные скорость нагрева древесных материалов и температура пиролиза, позволяющие при высоких для медленного пиролиза значениях выхода биоугля получать образцы с максимальным размером частиц 160-350 мкм и соотношением О/С, равным 0.303-0.304 в зависимости от вида древесины. Проведение щелочной активации приводит к



гидрофобизации поверхности биоуглей, способствует уменьшению размера частиц и повышает сродство углеродных сорбентов к органическим загрязнителям, что проявляется в возрастании сорбционной способности модифицированных образцов биоуглей в отношении красителя метиленового голубого в 1.1-1.7 раза. Биоуголь на основе опилок березы, как после пиролиза, так и активированный, демонстрирует большую сорбционную емкость в отношении катионного красителя метиленового голубого, что связывается с большим содержанием кислородсодержащих групп на поверхно-

сти и ее большим отрицательным зарядом. Эффективность очистки от метиленового голубого сорбцией на активированном березовом биоугле достигает 98% и практически в два раза превышает такую для активированного соснового биоугля (49%).

### 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. Winsley C. Biochar and Bionenergy Production for Climate Change. *New Zealand Science Review*. 2007; 1: 1-10.
2. Sizmur T., Fresno T., Akgül G., Frost H., MorenoJiménez E. Biochar modification to enhance sorption of inorganics from water. *Bioresource Technology*. 2017; 246: 34-47. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.082>
3. Yur'ev Yu. L. Charcoal. Directory. Ekaterinburg: Socrates. 2007, 1: 184. (In Russ.)
4. Mahmoudi K., Hamdi N., Kriaa A., Srasra E. Adsorption of Methyl Orange using Activated Carbon Prepared from Lignin by ZnCl<sub>2</sub> Treatment. *Russian Journal of Physical Chemistry*. 2012; 86(8): 1294-1300. <https://doi.org/10.1134/S0036024412060180>
5. Feng-Chin W., Pin-Hsueh W., Ru-Ling T., Ruey-Shin J. Preparation of Novel Activated Carbons from H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Pretreated Corn-cob Hulls with KOH Activation for Quick Adsorption of Dye and 4-chlorophenol. *Journal of Environmental Management*. 2011; 92(3): 708-713. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.003>
6. Cazetta A.L., Vargas A.M.M., Nogami E.M., Kunita M.H., Guilherme M.R., Martins A.C., Silva T.L., Moraes J.C.G., Almeida V.C. NaOH-activated Carbon of High Surface Area Produced from Coconut Shell: Kinetics and Equilibrium Studies from the Methylene Blue Adsorption. *Chemical Engineering Journal*. 2011; 174(1): 117-125. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.08.058>
7. Prahas D., Kartika Y., Indraswati N., Ismadji S. Activated Carbon from Jackfruit Peel Waste by H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> Chemical Activation: Pore Structure and Surface Chemistry Characterization. *Chemical Engineering Journal*. 2008; 140(1-3): 32-42. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.08.032>
8. Ferrera-Lorenzo N., Fuente E., Suárez-Ruiz I., Ruiz B. KOH Activated Carbon from Conventional and Microwave Heating System of a Macro Algae Waste from the Agar-Agar industry. *Fuel Processing Technology*. 2014; 121: 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.12.017>
9. Kim, W.-K., Shim, T., Kim, Y.-S., Hyun, S., Ryu, C., Park, Y.-K., Jung, J. Characterization of cadmium removal from aqueous solution by biochar produced from a giant Miscanthus at different pyrolytic temperatures. *Bioresource technology*. 2013; 138: 266-270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.186>
10. Tan X., Liu Y., Zeng G., Wang X., Hu X., Gu Y., Yang Z. Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. *Chemosphere*. 2015; 125: 70-85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.058>
11. Ashleigh J. Fletcher, Yaprak Uygur, K. Mark Thomas. Role of surface functional



- groups in the adsorption kinetics of water vapour on microporous carbons. *Journal of Physical Chemistry*. 2007; 111: 8349-8359. <https://doi.org/10.1021/jp070815v>
12. Lee J.W., Kidder M., Evans B.R., Pik S., Buchanan Iii, A., Garten C.T., Brown R.C. Characterization of biochars produced from cornstovers for soil amendment. *Environmental Science & Technology*. 2010; 44(20): 7970-7974. <https://doi.org/10.1021/es101337x>
13. GOST 4453-74 Active charcoal brightening wood powder. M. 1993. <http://gost.gtsever.ru/Data/414/41448.pdf> (In Russ.)
14. Janos P., Buchtova H., Ryznarova M. Sorption of dyes from aqueous solutions onto fly ash *Water Research*. 2003; 37(20): 4938-4944. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.08.011>
15. Xie Ya., Wang L., Li H., Westholm L.J., Carvalho L., Thorin E., Yu Zh., Yu X., Skreiberg Ø. A critical review on production, modification and utilization of biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2022; 161: 105405. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105405>
16. Romanchenko S.B., Trubicin A.A., Kubrin S.S. Problems of determining the actual density of coal particles in the processes of hovering and sedimentation. *BULLETIN of the Scientific Center for Work Safety in the Coal Industry*. 2020; 1: 6-14.
17. Xie Ya., Wang L., Li H., Westholm L.J., Carvalho L., Thorin E., Yu Zh., Yu X., Skreiberg Ø. A critical review on production, modification and utilization of biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2022; 161: 105405. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105405>
18. Xin Zhang, Baowei Zhao, Hui Liu, Yue Zhao, Liujun Li. Effects of pyrolysis temperature on biochar's characteristics and speciation and environmental risks of heavy metals in sewage sludge biochars. *Environmental Technology & Innovation*. 2022; 26: 102288. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102288>
19. Zawadzki J. Infrared Spectroscopy in Surface Chemistry of Carbons. In: Thrower, P.A., Ed., *Chemistry and Physics of Carbon*. N.Y. Marcel Dekker. 1989; 21: 147-369.
20. León, G.; Hidalgo, A.M.; Martínez, A.; Guzmán, M.A.; Miguel, B. Methylparaben Adsorption onto Activated Carbon and Activated Olive Stones: Comparative Analysis of Efficiency, Equilibrium, Kinetics and Effect of Graphene-Based Nanomaterials Addition. *Applied Sciences*. 2023; 13: 9147. <https://doi.org/10.3390/app13169147>
21. Sahoo T.R.; Prelot B. Chapter 7 - Adsorption processes for the removal of contaminants from wastewater: the perspective role of nanomaterials and nanotechnology. In *Micro and Nano Technologies, Nanomaterials for the Detection and Removal of Wastewater Pollutants*. 2020: 161-222. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818489-9.00007-4>
22. Fito J., Tibebu S., Nkambule T.T.I. Optimization of Cr (VI) removal from aqueous solution with activated carbon derived from *Eichhornia crassipes* under response surface methodology. *BMC Chemistry*. 2023; 17: 4. <https://doi.org/10.1186/s13065-023-00913-6>
23. Azizian S. Kinetic Models of Sorption: A Theoretical Analysis. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004; 276: 47. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.048>
24. Tomina E.V., Khodosova N.A, Manukovskaya V.E., Zhuzhukin K.V Effect of physico-chemical activation on sorption activity of bio-coal from pine sawdust. *Ecology And Industry Of Russia*. 2023; 27(6): 67-71. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2023-6-67-71>
25. Nayanova E.V., Elipasheva E.V., Sergeev G.M., Sergeeva V.P. Redox properties of methylene blue as a promising photometric reagent for determination of halogen oxidants. *Analytics and Control*. 2015; 19(2): 154-160. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.2.005>
26. Ovchinnikov O.V., Vorob'eva R.P., Evlev A.B., Kvashnina N.V., Latyshev A.N., Utekhin A.N., Chernykh S.V.,



Smirnov M.S. Anti-stokes luminescence of microcrystals of AGCL<sub>0.95</sub>I<sub>0.05</sub> solid solutions with adsorbed organic dye molecules. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2006; 73(5): 662-666. <https://doi.org/10.1007/s10812-006-0136-7>

### Информация об авторах / Information about the authors

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

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

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

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

**Нгуен Ань Тьен** – к.х.н., доцент, заведующий кафедрой неорганической химии, Педагогический университет Хошимина, Хошимин, Вьетнам

**Nguyen Anh Tien** – Ph.D. Sc., Associate Professor, Head of the Department of Inorganic Chemistry, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam; e-mail: [tienna@hcmue.edu.vn](mailto:tienna@hcmue.edu.vn); ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4396-0349>

**В.Е. Мануковская** – студентка 3 курса лесопромышленного факультета, Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

**V.E. Manukovskaya** – 3rd year student of the Faculty of Forestry of the Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Voronezh, Russian Federation; e-mail: [varvaramanukovskaya19@gmail.com](mailto:varvaramanukovskaya19@gmail.com)

**Нгуен Хоанг Хай** – бакалавр химии, Педагогический университет Хошимина, Хошимин, Вьетнам

**Nguyen Hoang Huy** – Bachelor of Chemistry, Ho Chi Minh City University of Education, Ho Chi Minh City, Vietnam, e-mail: [hoanhuy4102001@gmail.com](mailto:hoanhuy4102001@gmail.com)

*Статья поступила в редакцию 20.12.2023; одобрена после рецензирования 18.01.2024; принята к публикации 07.02.2024.*

*The article was submitted 20.12.2023; approved after reviewing 18.01.2024; accepted for publication 07.02.2024.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.51

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12021

### Определение несгораемых примесей в нанопорошке детонационного алмаза

Даниил Игоревич Ярыкин<sup>✉</sup>, Олег Павлович Горелков,  
Иван Сергеевич Пыцкий, Борис Владимирович Спицын,  
Алексей Константинович Буряк

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия,  
d.yarykin@rambler.ru<sup>✉</sup>

**Аннотация.** Изучение физико-химических (в том числе адсорбционных) свойств наноалмаза требует возможности воспроизводимого получения углеродной поверхности индивидуальной частицы без металлических примесей неизвестного состава. Получение такой поверхности может быть достигнуто посредством дополнительной процедуры глубокой очистки коммерчески доступного образца. Работа посвящена исследованию состава несгораемых примесей нанопорошка детонационного алмаза. Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой железо и титан определены как основные металлические компоненты несгораемого остатка, качественно установлено присутствие Cr, Ni, Zr, As и Sb. Представлен предполагаемый состав основных молекулярных ионов, образующихся на поверхности несгораемого остатка в условиях масс-спектрометрии с лазерной десорбционной ионизацией. На основе результатов масс-спектрометрического анализа предложен вариант двухстадийной химической обработки нанопорошка детонационного алмаза, позволивший понизить массовую долю несгораемых примесей при отжиге на воздухе с 2.0 до 0.1%.

**Ключевые слова:** детонационный наноалмаз, несгораемый остаток, масс-спектрометрия с лазерной десорбционной ионизацией, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой.

**Благодарности:** работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122011300053-8).

**Для цитирования:** Ярыкин Д.И., Горелков О.П., Пыцкий И.С., Спицын Б.В., Буряк А.К. Определение несгораемых примесей в нанопорошке детонационного алмаза // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 56-62. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12021>

Original article

### Determination of non-combustible impurities in detonation nanodiamond powder

Daniil I. Yarykin<sup>✉</sup>, Oleg P. Gorelkov,  
Ivan S. Pytskii, Boris V. Spitsyn, Aleksey K. Buryak

Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences,  
Moscow, Russian Federation, d.yarykin@rambler.ru<sup>✉</sup>

**Abstract.** The study of the physicochemical (including adsorption) properties of nanodiamond requires the possibility of reproducible generation of the carbon surface of an individual particle without metal impurities of unknown composition. This kind of surface can be obtained through an additional deep cleaning of a com-



mercially available sample. This article is dedicated to the study of the composition of non-combustible impurities of detonation nanodiamond powder. Using inductively coupled plasma mass spectrometry, iron and titanium were identified as the main metal components of the unburned residue, and the presence of Cr, Ni, Zr, As, and Sb was qualitatively established. The expected composition of the main molecular ions formed on the surface of the unburned residue in the course of laser desorption/ionisation mass spectrometry was presented. Based on the results of mass spectrometry analysis, a method of two-stage chemical treatment of detonation nanodiamond powder was proposed, which allowed reducing the mass fraction of non-combustible impurities during annealing in air from 2.0 to 0.1%.

**Keywords:** detonation nanodiamond, non-combustible residue, laser desorption/ionisation mass spectrometry, inductively coupled plasma mass spectrometry.

**Acknowledgements:** the research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 122011300053-8).

**For citation:** Yarykin D.I., Gorelkov O.P., Pytskii I.S., Spitsyn B.V., Buryak A.K. Determination of non-combustible impurities in detonation nanodiamond powder. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 56-62. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12021>

## Введение

Развитие технологий получения углеродных наноматериалов является одним из приоритетных направлений науки в последние годы. Наноалмаз (НА) занимает особое место среди них благодаря своим уникальным свойствам и множеству различных применений [1-3]. НА представляет собой дисперсию наночастиц со средним размером около 4.2 нм, в кристаллической решётке которых атомы расположены так же, как и в алмазе. Внешне НА представляет собой светлосерый порошок, состоящий из агрегатов размером от десятков до тысяч нм [4]. Порошки НА можно рассматривать как сложный по структурному и элементному составу материал, включающий разные формы углерода (80-88%), кислород (до 10%), азот (2-3%), водород (0.5-1.5%) и несгораемый остаток (0.5-8.0%) [5], который присутствует, несмотря на используемые на производстве технологии очистки [6]. Впервые примененный еще в середине 1980-х годов [7] детонационный синтез НА развивается и по сей день: продолжается отработка технологии подрыва взрывчатых веществ, которая позволила бы получение НА с меньшим количеством несгораемых примесей. Содержание неуглеродных примесей алмазсодержащей шихты, первоначально образующейся при детонационном синтезе, в значительной мере зависит от ма-

териала стенок взрывной камеры и соотношения массы взрывчатого вещества и объема камеры [8]. По данным рентгенофлуоресцентного анализа на поверхности детонационного НА содержатся примеси железа, кремния, кальция, титана, хрома и меди [9]. Содержание несгораемых примесей в наноалмазах детонационного синтеза существенно различается у различных производителей и даже у одного и того же производителя в разных сериях. В свою очередь, в последние годы был выполнен ряд исследований для создания способа финишной доочистки НА [10-14].

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) на сегодняшний день является одним из основных методов элементного анализа. Сигналы элементов регистрируются масс-спектрометром после ионизации образца в результате воздействия высокотемпературной аргоновой плазмы [15, 16].

Метод масс-спектрометрии с лазерной десорбционной ионизацией (ЛДИ-МС) основан на использовании коротких лазерных импульсов для возбуждения атомов, молекул или иных ассоциатов на поверхности исследуемого образца и их последующем детектировании в виде ионов. ЛДИ-МС характеризуется простотой подготовки проб и высокой скоростью анализа. Особым достоинством метода ЛДИ-МС является возможность исследования поверхности твердых образцов [17, 18].

Изучение физико-химических (в том числе адсорбционных) свойств НА требует возможности воспроизводимого получения углеродной поверхности индивидуальной частицы без металлических примесей неизвестного состава. Получение такой поверхности может быть достигнуто посредством дополнительной процедуры глубокой очистки образца. Целью настоящей работы было определение несгораемых примесей нанопорошка детонационного алмаза и проведение химической очистки коммерчески доступного образца.

### Экспериментальная часть

Исходный наноалмаз был получен детонационным методом (Марка УДА-СП, НП ЗАО «СИНТА»). В предварительном эксперименте путем взвешивания на аналитических весах (Sartorius MC1 AC 210 S) образца до и после отжига на воздухе при 850 °С до постоянной массы было установлено, что исходный образец НА содержит около 2.0 % несгораемых примесей. Для очистки нанопорошка детонационного алмаза от примесей была предложена методика двухстадийной химической очистки подобно той, что применялась для изучения углеродных наноструктур шунгита [19].

На первой стадии обработку образца нанопорошка детонационного алмаза проводили расплавленным NaOH (ч.д.а., ГОСТ 4328-77) в стеклоуглеродном тигле в течение 1 часа. После охлаждения образец многократно промывали дистиллированной водой (Milli-Q), осаждая частицы центрифугированием при 3000 об/мин. в течение 10 минут и высушивали на воздухе при 50°С. На второй стадии образец подвергли кипячению в смеси соляной (х.ч., ГОСТ 3118-77) и азотной кислот (ч.д.а., ГОСТ 4461-77) в соотношении 3:1 в течение 1 часа. После охлаждения образец вновь многократно промывали дистиллированной водой, центрифугировали и высушивали на воздухе при 50°С.

Для изучения природы несгораемых примесей образец исходного нанопорошка детонационного алмаза отжигали на воздухе при 850°С до постоянной массы. Образующийся остаток разделили на две части. Первую часть поместили на мишень из нержавеющей стали и исследовали методом ЛДИ-МС. Вторую часть исследовали методом ИСП-МС.

Анализ методом ИСП-МС проводился на масс-спектрометре ICP-MS Agilent 7500. Для калибровки прибора использовался стандартный раствор 30 элементов (ICP multi-element standard solution VI, Merk, Германия), для метрологического контроля выполнен анализ холостого раствора. Результаты анализов представляют собой среднеарифметические значения по 6 измерениям.

Анализ методом ЛДИ-МС проводился на масс-спектрометре Bruker Daltonics Ultraflex 2 (Bruker, Германия), со встроенным времяпролетным масс-анализатором и азотным лазером (длина волны лазера – 337 нм, максимальная энергия – 110 мкДж, частота импульсов – 20 Гц, время между импульсами – 1 мкс). Спектры регистрировались в диапазоне  $m/z$  0 – 500. Исследование проводилось в режиме регистрации положительных ионов. Сбор и обработка данных проводились с помощью программ FlexControl 3.4, FlexAnalysis 3.4 (Bruker, Германия). Идентификация сигналов проводилась с помощью программы IsoPro 3.0.

### Обсуждение результатов

Исследуемый несгораемый остаток нанопорошка детонационного алмаза имеет темно-красный цвет, характерный для ржавчины, что позволяет предполагать присутствие оксида железа (III).

Методом масс-спектрометрии ИСП-МС установлено, что наиболее значимыми металлическими примесями исследуемого нанопорошка являются железо и титан. Результат анализа приведен в таблице 1. Полученные данные представляют собой величины того же порядка,

Таблица 1. Результаты определения железа и титана методом масс-спектрометрии ИСП-МС в пересчете на массу нанопорошка детонационного алмаза

Table 1. Results of iron and titanium determination by ICP-MS in terms of the weight of detonation nanodiamond powder

Элемент	Содержание (масс. %) в промышленном НА	Содержание (масс. %) в очищенном НА
Fe	0.114	0.037
Ti	0.038	0.013

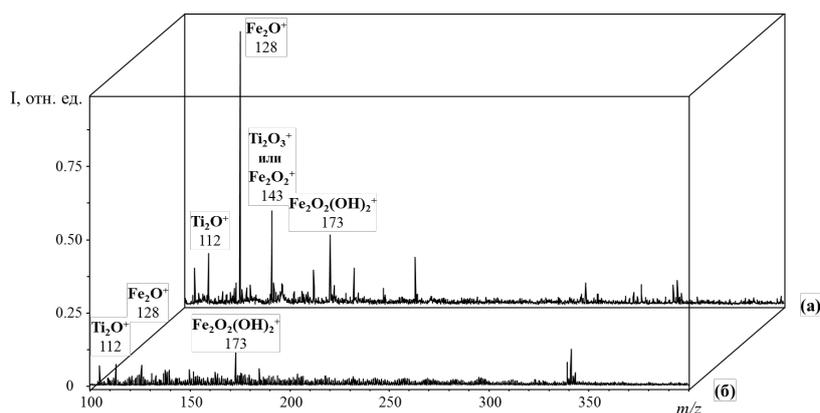


Рис. 1. Масс-спектры ЛДИ-МС несгораемого остатка нанопорошка детонационного алмаза в режиме регистрации положительных ионов: (а) промышленного образца, (б) очищенного образца.

Fig. 1. LDI-MS mass spectra of the non-combustible residue of detonation nanodiamond powder in the mode of registering positive ions: (a) industrial sample, (b) purified sample

Таблица 2. Молекулярные ионы, десорбируемые с поверхности несгораемого остатка в условиях ЛДИ-МС.

Table 2. Molecular ions desorbed from the surface of unburned residue using LDI-MS

Сигнал $m/z$	Промышленный НА	Очищенный НА
112		$Ti_2O^+$
128		$Fe_2O^+$
143	$Ti_2O_3^+$ или $Fe_2O_2^+$	На уровне фона
173		$Fe_2O_2(OH)_2^+$
215	Не идентифицировано	На уровне фона
339, 341, 343	Не идентифицировано	Не идентифицировано

что и в литературе [1]. Вследствие проведенной химической очистки поверхности частиц наблюдается уменьшение содержания железа и титана. Помимо этого, методом ИСП-МС качественно обнаружено присутствие Cr, Ni, Zr, As и Sb.

Далее были исследованы формы молекулярных ионов, десорбируемых с поверхности несгораемого остатка в условиях лазерной ионизации. Масс-спектры ЛДИ-МС приведены на рис. 1. Предполагаемый состав ионов приведен в таблице 2.

Недостатком метода ЛДИ-МС является качественный (в лучшем случае полуколичественный) характер получаемых величин ввиду плохой воспроизводимости, которая, в свою очередь, связана с плохо предсказуемой морфологией поверхности. Поэтому мы считаем, что имеет смысл рассмотрение интенсивностей сигналов внутри каждого спектра, которое показывает значительную роль очистки НА. Для более однозначной идентификации рассмотрены изотопные распределения с помощью программы IsoPro 3.0 (рис. 2).

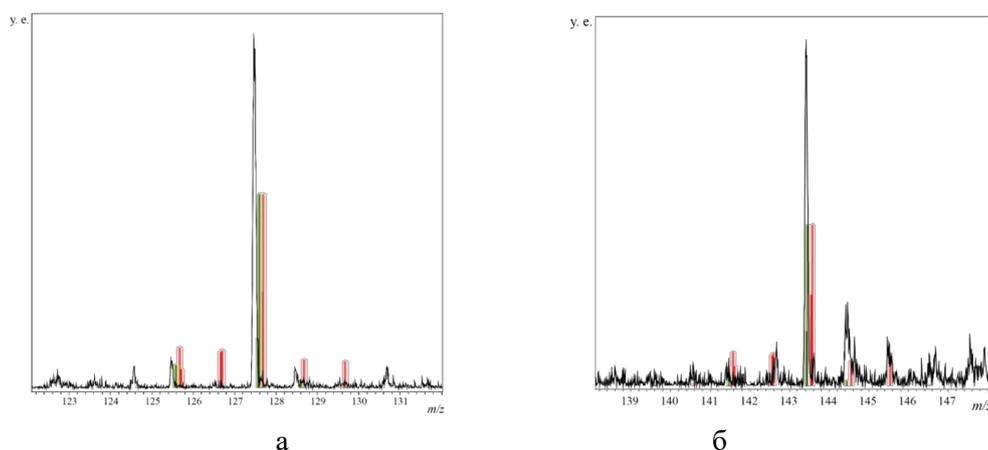


Рис. 2 Фрагменты масс-спектров ЛДИ-МС несгораемого остатка нанопорошка детонационного алмаза в режиме регистрации положительных ионов с изотопными распределениями IsoPro 3.0: (а)  $m/z$  128, (б)  $m/z$  143. Зеленым цветом показаны ионы, содержащие железо, красным цветом – содержащие титан. Изотопные распределения показаны таким образом, чтобы интенсивности центральных максимумов совпадали.

Fig. 2. LDI-MS mass spectra of the non-combustible residue of detonation nanodiamond powder in the mode of registering positive ions with isotopic distribution of IsoPro 3.0: (a)  $m/z$  128, (б)  $m/z$  143. Ions containing iron are green, ions containing titanium are red. Isotopic distributions are presented so that the intensities of the central peaks coincide.

К некоторым сигналам и 143 могут быть одновременно отнесены молекулярные ионы, содержащие железо или титан: к сигналу  $m/z$  128 подходят  $\text{Fe}_2\text{O}^+$  и  $\text{Ti}_2\text{O}_2^+$ , а к сигналу  $m/z$  143 –  $\text{Fe}_2\text{O}_2^+$  или  $\text{Ti}_2\text{O}_3^+$ . Для более однозначной идентификации рассмотрены изотопные распределения с помощью программы IsoPro 3.0.

Посредством визуальной оценки установлено, что сигнал  $m/z$  128 в большей мере соответствует составу  $\text{Fe}_2\text{O}^+$ , а сигнал  $m/z$  143 – составу  $\text{Ti}_2\text{O}_3^+$ , хотя в последнем случае нельзя исключить одновременное присутствие  $\text{Fe}_2\text{O}_2^+$ .

Полностью избавиться от примесей невозможно, так как они распределены не только на обрабатываемой поверхности, но и в объеме индивидуальной частицы НА [1]. Предложенная химическая обработка включает две стадии. Обработка расплавленной щелочью призвана удалить примеси титана и его соединений, а также кремния, который, согласно литературным данным, также присутствует в образцах НА, хотя в рамках данного исследования обнаружить его не удалось. Обработка смесью кислот предназначена

для очистки НА от примесей таких металлов как железо, хром, никель и т.д. Благодаря проведению такой двухстадийной очистки наблюдается снижение массовой доли несгораемого остатка при отжиге на воздухе с 2.0 до 0.1 %.

### Заключение

Несгораемые примеси нанопорошка детонационного алмаза исследованы масс-спектрометрическими методами ИСП-МС и ЛДИ-МС. Методом ИСП-МС определены Fe и Ti как основные металлические компоненты несгораемого остатка. Качественно установлено присутствие Cr, Ni, Zr, As и Sb. Представлен предполагаемый состав основных молекулярных ионов несгораемого остатка, образующихся в условиях ЛДИ-МС. На основе результатов масс-спектрометрического анализа предложен вариант двухстадийной химической обработки нанопорошка детонационного алмаза, позволивший понизить массовую долю несгораемых примесей при отжиге на воздухе с 2.0 до 0.1%.



### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые

### Список литературы/References

1. Dolmatov V.Ju. Ul'tradispersnyye almazy detonacionnogo sinteza: svoystva i primeneniye. *Uspehi himii*. 2001; 70(7): 687-708. (In Russ.)

2. Toropov A.D., Detkov P.Ja., Chuhaeva S.I. Poluchenie i svoystva kompozitsionnykh nikel'nykh pokrytij s ul'tradispersnyimi almazami. *Gal'vanotekhnika i obrabotka poverhnosti*. 1999; 7(3): 14-19. (In Russ.)

3. Dolmatov V.Ju., Burkat G.K. Ul'tradispersnyye almazy detonacionnogo sinteza kak osnova novogo klassa kompozitsionnykh metall-almaznykh gal'vanicheskikh pokrytij. *Sverhtverdye materialy*. 2000;1: 84-95. (In Russ.)

4. Spitsyn B.V., Davidson J.L., Gradoboev M.N., Galushko T.B., Serebryakova N.V., Karpukhina T.A., Kulakova I.I., Melnik N.N. Inroad to modification of detonation nanodiamond. *Diam. Relat. Mater.* 2006; 15: 296-299. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2005.07.033>

5. Kulakova I.I. Khimija poverhnosti nanoalmazov. *Fizika tverdogo tela*. 2004; 46(4): 621-628. (In Russ.)

6. Gorbachev V.A., Shevchenko N.V., Mironov S.I. Nanoalmaznye komponenty jenergoemkikh kondensirovannykh sistem. M., Granica, 2022, 296 p. (In Russ.)

7. Dolmatov V.Yu. Patent RF, № 2348580, 2009. (In Russ.)

8. Dolmatov V.Yu. Detonacionnyye nanoalmazy. Poluchenie, svoystva, primeneniye. Sankt-Peterburg, Professional, 2011, 536 p. (In Russ.)

9. Yarykin D.I., Konyukhov V.Yu., Gegova R.S., Spitsyn B.V. Investigation of the Adsorption Properties of a Nanodiamond Surface after Liquid-Phase Oxidation. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2022; 58(6): 1206-1211. <https://doi.org/10.1134/S2070205122060211>

могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

10. Ovcharenko A.G., Ignatchenko A.V., Sataev P.P., Brylyakov P.M. Patent RF, № 1815933, 1990. (In Russ.)

11. Gordeev S.K., Korchagina S.B., Zhukova N.A., Dolmatov V.YU. Patent RF, № 2244679, 2002. (In Russ.)

12. Novikov N.V., Bogatyreva G.P., Voloshin M.N. Tekhnologiya polucheniya i ochistki detonacionnykh nanoalmazov. Detonacionnyye almazy v Ukraine. *Fizika tverdogo tela*. 2004; 46(4): 585-590. (In Russ.)

13. Denisov S.A., Spitsyn B.V. Gazofaznyj metod ochistki produktov detonacionnogo sinteza nanoalmaza ot nealmaznykh form ugleroda i neuglerodnykh primesej. *Uspekhi v himii i himicheskoy tekhnologii*. 2009; 23(9): 71-76. (In Russ.)

14. Solovyeva K.N., Petrov E.A., Belayev V.N. Research of properties of detonation nanodiamond depending on deep cleaning technology. *South-Siberian Scientific Bulletin*. 2020; 3(31): 62-67.

15. Karnaeva A., Kulikova O., Mazlova E., Buryak A. Aged diesel and heavy metal pollution in the Arctic tundra (Yamal Peninsula, Russia). *Science of total environment*. 2021; 792:148471. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148471>

16. Khesina Z.B., Karnaeva A.E., Pytskii I.S., Buryak A.K. The mysterious mass death of marine organisms on the Kamchatka Peninsula: A consequence of a technogenic impact on the environment or a natural phenomenon? *Marine Pollution Bulletin*. 2021; 166: 112175. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112175>

17. Kuznecova E.S., Pyckij I.S., Burjak A.K. Obnaruzhenie i kolichestvennoe opredelenie adsorbirovannogo hlora na poverhnostyah konstruktsionnykh materialov. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2020; 20(5): 602-607. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2020.20/3051> (In Russ.)



18. Sholokhova A.Yu, Malkin A.I., Buryak A.K. Mass Spectrometric Study of Products of Teflon Degradation via Surface-Activated Laser Desorption/Ionization. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2020; 94(10): 2135-2140. <https://doi.org/10.1134/s003602442010026x>

19. Charykov N.A., Alekseev N.I., Arapov O.V., Alekhin O.S., Gerasimov V.I., Nekrasov K.V., Polekhovskii Yu.S., Semenov K.N. Modification of natural shungites to obtain a mixed nanocarbon material (MNS). *Russ. J. Appl. Chem.* 2005; 78(6); 865-869. <https://doi.org/10.1007/s11167-005-0411-z>

### Информация об авторах / Information about the authors

**Д.И. Ярыкин** – инженер-исследователь, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**D.I. Yarykin** – engineer-researcher, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: d.yarykin@rambler.ru

**О.П. Горелков** – лаборант, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**O.P. Gorelkov** – laboratory assistant, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: oleg.gorelkov@gmail.com

**И.С. Пыцкий** – ведущий научный сотрудник, к.х.н., Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**I.S. Pytskii** – senior researcher, Ph.D., A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: ivanpic4586@gmail.com

**Б.В. Спицын** – главный научный сотрудник, д.х.н., Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**B.V. Spitsyn** – chief researcher, Ph.D., A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: bvspitsyn@gmail.com

**А.К. Буряк** – директор института, д.х.н., чл.-корр. РАН, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**A.K. Buryak** – the Director of the Institute, Ph.D., corresponding member of the Russian Academy of Sciences, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: dir@phyche.ac.ru

*Статья поступила в редакцию 14.07.2023; одобрена после рецензирования 31.01.2024; принята к публикации 07.02.2024.*

*The article was submitted 14.07.2023; approved after reviewing 31.01.2024; accepted for publication 07.02.2024.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.726+547.466

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12022

### Взаимодействие меланоидинов, пролина и валина с сорбентами различной природы

Владимир Федорович Селеменев<sup>1✉</sup>, Наталья Анатольевна Беланова<sup>1</sup>,  
Наталья Владимировна Мироненко<sup>1</sup>, Анастасия Алексеевна Беланова<sup>2</sup>,  
Виктор Николаевич Семенов<sup>1</sup>, Александр Анатольевич Волков<sup>1</sup>,  
Людмила Николаевна Коломиец<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, common@chem.vsu.ru<sup>✉</sup>

<sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

<sup>3</sup>Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**Аннотация.** Одной из важных производственных задач является выделение чистых аминокислот из промышленных растворов. Полученные в результате химической или микробиологической обработки растворы аминокислот имеют ряд примесей, преимущественно органических. Микробиологическому синтезу пролина сопутствует наличие в культуральной жидкости валина, лейцина, аланина и окрашенных высокомолекулярных компонентов, относящихся к группе меланоидинов. Меланоидины пролино-кислого производства являются высокомолекулярными соединениями, содержащими аминокислотные фрагменты, гетероциклические структуры и имеющими в составе амидные связи. Меланоидины в растворах способны существовать в катионной, биполярной и анионной формах. Они отличаются по молекулярным массам, размерам молекул и изоэлектрическому состоянию.

Для выделения целевой аминокислоты возможно применение различных ионообменных способов. Следует заметить, что взаимодействие аминокислот с ионообменными материалами является сложным процессом, зависящим от электролитических свойств сорбата и сорбента и сопровождается множеством побочных эффектов. Знание особенностей взаимодействия в системе «аминокислота-сорбент» и факторов, оказывающих влияние на транспорт ионов сорбата в фазе сорбента, является необходимым условием при выборе способа выделения целевого продукта. Целью данной работы было установление влияния pH на процесс сорбции пролина и валина высокоосновными ионообменниками, выявление особенностей их взаимодействия и использование полученных результатов для оптимизации условий разделения аминокислот.

Изучен процесс взаимодействия биполярных ионов и анионов пролина (Про<sup>±</sup>, Про<sup>o</sup>) и валина (Вал<sup>±</sup>, Вал<sup>o</sup>) с анионитами АВ-17-8 и АВ-17-2П. Установлено, что механизм переноса ионов аминокислот в гранульных сорбентах зависит от величины pH в системе «анионит-внешний раствор». На основании изученных взаимодействий предложены способы анионообменного разделения пролина и валина. Выбраны условия разделения пролина и валина на анионите АВ-17-2П в ОН-форме (pH исходного раствора 6.6-6.7; скорость пропускания растворов 2 см<sup>3</sup>/мин). Результаты по разделению аминокислот свидетельствуют о том, что даже в одноактном процессе сорбции в пяти-семи фракциях, содержащих пролин, отсутствуют ионы валина, а концентрация пролина в 2.0-2.7 раза превышает таковую в исходном растворе.

**Ключевые слова:** аминокислоты, валин, пролин, меланоидины, иониты, разделение, сорбция.

**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:** Селеменев В.Ф., Беланова Н.А., Мироненко Н.В., Беланова А.А., Семенов В.Н., Волков А.А., Коломиец Л.Н. Взаимодействие меланоидинов, пролина и валина с сорбентами различной природы // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 63-75. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12022>



Original article

## Interaction of melanoidins, proline, and valine with sorbents of various nature

Vladimir F. Selemenev<sup>1</sup>✉, Natalia A. Belanova<sup>1</sup>, Natalia V. Mironenko<sup>1</sup>,  
Anastasia A. Belanova<sup>2</sup>, Viktor N. Semenov<sup>1</sup>,  
Alexander A. Volkov<sup>1</sup>, Ludmila N. Kolomiets<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russia, common@chem.vsu.ru✉

<sup>2</sup>Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

<sup>3</sup>Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Abstract.** The isolation of pure amino acids from industrial solutions is one of the important tasks of production. Solutions of amino acids obtained as a result of chemical or microbiological treatment contain a number of impurities, mostly organic ones. The microbiological synthesis of proline is accompanied by the presence of valine, leucine, alanine, and coloured high-molecular components in the culture liquid that belong to the melanoidin group. Melanoidins of proline acid production are high-molecular compounds containing amino acid fragments, heterocyclic structures, and amide bonds. Melanoidins in solutions can exist in cationic, bipolar, and anionic forms. They have different molecular weights, molecular sizes, and isoelectric states. Various ion exchange methods can be used to isolate the target amino acid. It should be noted that the interaction of amino acids with ion-exchange materials is a complex process depending on the electrolytic properties of the sorbate and sorbent and accompanied by multiple side effects. It is necessary to know the specific features of interaction in the “amino acid - sorbent” system and the factors that affect the transport of sorbate ions in the sorbent phase when choosing an isolation method for the target product. The goal of this work was to determine the impact of pH on the sorption process of proline and valine by high-basic ion exchangers, to identify the features of their interactions, and to use the obtained results to optimise the conditions for the separation of amino acids.

We studied the process of interaction of bipolar ions and anions of proline (Pro<sup>±</sup>, Pro<sup>-</sup>) and valine (Val<sup>±</sup>, Val<sup>-</sup>) with anionites AV-17-8 and AV-17-2P. It was established that the mechanism of amino acid ion exchange in granular sorbents depended on the pH value in the “anionite - external solution” system. Based on the studied interactions, we suggested the methods of the anion-exchange separation of proline and valine. The selected conditions of separation of proline and valine were on anionite AV-17-2P in OH-form (pH of the initial solution was 6.6-6.7; the solution flow rate was 2 cm<sup>3</sup>/min). The results of separation of proline and valine indicated that even in a one-step sorption process, five to seven fractions with proline contained no valine ions, while the concentration of proline was 2.0-2.7 times higher as compared to the original solution.

**Keywords:** amino acids, valine, proline, melanoidins, ion exchangers, separation, sorption.

**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.

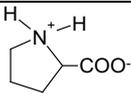
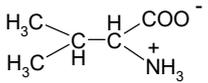
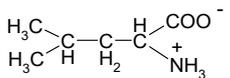
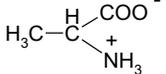
**For citation:** Selemenev V.F., Belanova N.A., Mironenko N.V., Belanova A.A., Semenov V.N., Volkov A.A., Kolomiets L.N. Interaction of melanoidins, proline, and valine with sorbents of various nature. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 63-75. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12022>

### Введение

Разработка эффективных способов извлечения чистых аминокислот из производственных растворов является актуальной задачей. Полученные химическим или микробиологическим способом аминокислоты содержат целый ряд органических примесей. Поэтому выделение целе-

вой аминокислоты невозможно без применения различных ионообменных способов. Следует заметить, что взаимодействие аминокислот с ионообменными материалами является сложным процессом, зависящим от многих факторов, в частности от электролитических свойств сорбата и сорбента и сопровождается рядом побочных эффектов [1-6]. Микробиологическому синтезу пролина сопутствует

Таблица 1. Свойства моноаминомонокарбоновых кислот и меланоидинов, содержащихся в ферментационной среде при синтезе пролина  
 Table 1. Properties of monoaminomonocarboxylic acids and melanoidins contained in the fermentation medium in the course of proline synthesis

Компонент	Формула	pI	pK протолиза		Содержание, г/дм <sup>3</sup>
			pK <sub>1</sub> COOH	pK <sub>2</sub> (N <sup>+</sup> H <sub>3</sub> (N <sup>+</sup> H <sub>2</sub> ))	
Пролин		6.30	2.00	10.60	12.0
Валин		6.00	2.29	9.72	6.0
Лейцин		6.04	2.33	9.75	1.9
Аланин		6.11	2.35	9.87	1.3
Меланоидины	(C <sub>12</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> N <sub>2</sub> ) <sub>28</sub>	4.80	2.66 7.12*	8.63	29.4

\*Меланоидины содержат COOH-группы разной основности

наличие в культуральной жидкости валина, лейцина, аланина и окрашенных высокомолекулярных компонентов, относящихся к группе меланоидинов (табл. 1). В особом положении при этом находятся моно-аминомонокарбоновые кислоты, константы протолиза которых близки. Поэтому знание особенностей взаимодействия в системе «аминокислота-сорбент» и факторов, оказывающих влияние на транспорт ионов сорбата в фазе сорбента, является необходимым условием при выборе способа выделения целевого продукта.

Целью данной работы было установление влияния pH на процесс сорбции пролина и валина высокоосновными ионообменниками, выявление особенностей их взаимодействия и использование полученных результатов для оптимизации условий разделения аминокислот.

Опыт эксплуатации пилотных ионообменных установок по выделению смеси аминокислот из мелассы и других отходов свеклосахарного производства показал, что для эффективного использования ионообменников типа КУ-2, АВ-17 и КБ-4 необходимо предварительное удаление

окрашенных компонентов [7-10]. Поэтому представляется обоснованным привести данные (наряду с табл. 1) по физико-химическим свойствам аминокислот и меланоидинов (рис. 1), которые содержат как карбоксильные, так и аминокислотные группы (рис. 1).

Меланоидины в растворах способны существовать в катионной, биполярной и анионной формах. Они отличаются по молекулярным массам, размерам молекул и изоэлектрическому состоянию. В наших исследованиях использовались меланоидины с молекулярной массой  $M=11.4 \cdot 10^3$  (табл. 1) и радиусом 12.6 Å [11]. Максимум поглощения в УФ-области спектра для меланоидинов находится при  $\lambda=290$  нм.

Для установления состава функциональных групп и структуры меланоидинов проведен анализ ИК-спектров меланоидинов пролиноукислого производства (рис. 2), выделенных в виде индивидуальной зоны с помощью бумажной и гелевой хроматографии [7-11]. Полосы поглощения 3660-3476 см<sup>-1</sup> обусловлены валентными колебаниями слабо ассоциированных с H<sub>2</sub>O ионов H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>; а также связями

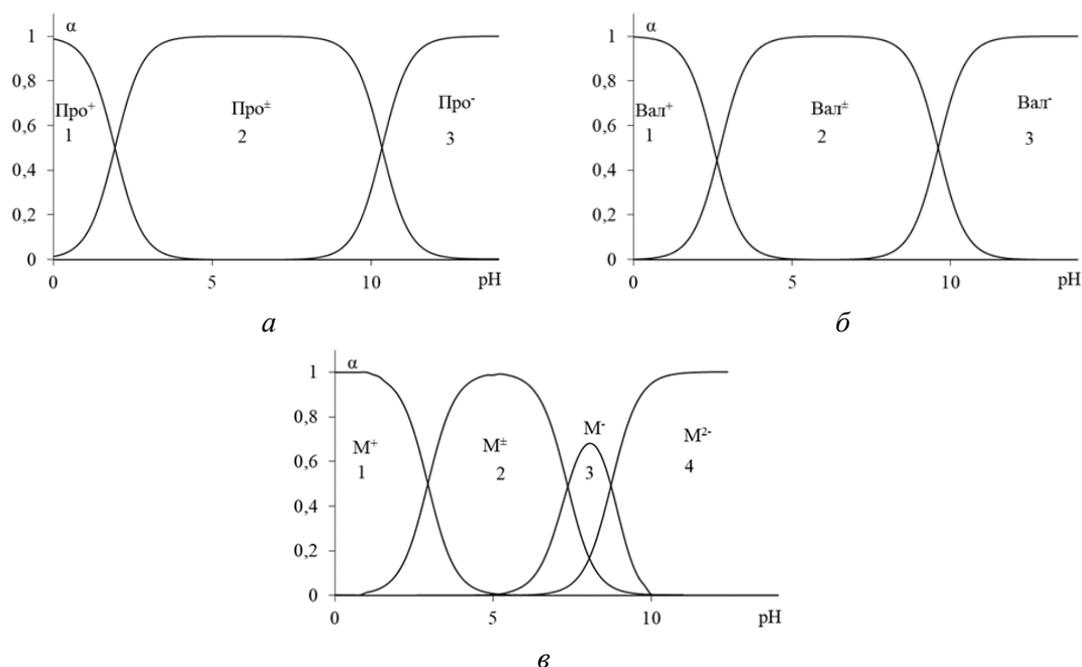


Рис. 1. Диаграммы ионных равновесий в растворах пролина (а), валина (б) и меланоидинов пролинового производства (в). 1, 2, 3, 4 – катион; цвиттер-ион; однозарядный и двухзарядный анионы соответственно.

Fig. 1. Diagrams of ionic equilibria in solutions of proline (a), valine (b), and melanoidins of proline production (c).

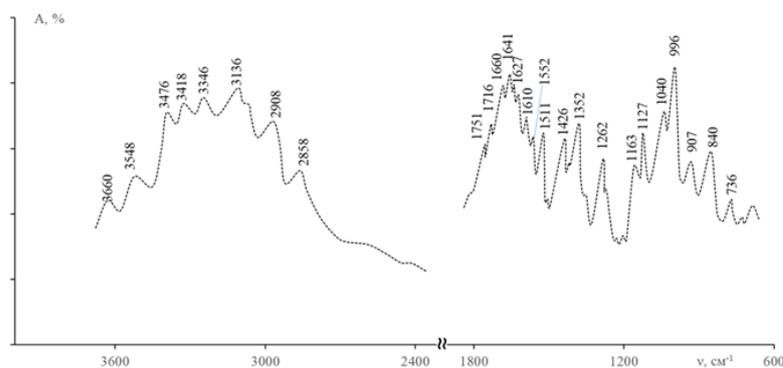


Рис. 2. ИК-спектр меланоидинов пролинокислотного производства

Fig. 2. IR spectrum of melanoidins of proline acid production

$\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}-\text{N}^+\equiv$  с малой энергией [12-17]. Максимумы  $3418-3136\text{ см}^{-1}$  характерны  $\nu$  колебаниям  $\text{H}_3\text{O}_2^-\cdots\text{H}_2\text{O}$  (или  $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N}^-$ ), а также валентным колебаниям в стабильных ассоциатах  $-\text{N}^+\text{H}_3\cdots-\text{OOC}^-$  цвиттер-ионного типа (рис. 2, табл. 2). Пики  $2858\text{ см}^{-1}$  принадлежат ассиметричным  $\nu_{\text{as}}$  и симметричным  $\nu_{\text{s}}$  колебаниям  $\text{CH}$ - и  $\text{CH}_2$ -групп. Максимум  $1751\text{ см}^{-1}$  характерен для колебаний  $\text{C}=\text{O}$  (Амид I) в циклических  $\beta$ -лактамах, а также колебаниям  $\text{C}=\text{O}$  в аминокислотных группировках

(в виде неионизированного карбоксила). Полоса при  $1716\text{ см}^{-1}$  обусловлена колебаниями  $\text{C}=\text{O}$  в недиссоциированных  $\text{COOH}$ -группах. Группа полос поглощения  $1660, 1641, 1627, 1610\text{ см}^{-1}$  соответствует составным колебаниям, включающих деформационные колебания  $\text{N}^+\text{H}_3$  (аминокислотная полоса I); колебания ионного карбоксила  $\text{COO}^-$  (возможно сопряженного с  $>\text{C}=\text{C}<$  группировками) и колебания  $\text{C}=\text{O}$  в амидных структурах (полоса Амид I). Максимумы  $1552, 1511\text{ см}^{-1}$  также обусловлены составными



Таблица 2. Отнесение максимумов поглощения в ИК-спектрах меланоидинов пролинокислого производства

Table 2. Assignment of absorption peaks in the IR spectra of melanoidins of proline acid production

Частота колебаний $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Характер колебаний
3630 3548 3476	Валентные колебания $\nu$ слабо ассоциированных с $\text{H}_2\text{O}$ ионов $\text{H}_3\text{O}_2^+$ ; а также ионов $-\text{N}^+\text{H}_3$ с $\text{H}_2\text{O}$ .
3418 3348 3136	Валентные колебания в стабильных ассоциатах $\text{H}_3\text{O}_2^+\cdots\text{H}_2\text{O}$ ; $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N}^-$ ; $-\text{N}^+\text{H}_3\cdots\text{OOC}^-$ ; $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{HOOC}$
2908 2858	Валентные ассиметричные $\nu_{\text{as}}$ и симметричные $\nu_{\text{s}}$ колебания $\text{CH}_2$ - и $\text{CH}$ -групп
1758 1716	Колебания $\text{C}=\text{O}$ в амидах (Амид I); $\text{C}=\text{O}$ в неионизированных $\text{COOH}$ группах
1660 1641 1627 1610	Составные колебания: деформационные колебания $\sigma^+\text{NH}_3$ ; валентные $\nu_{\text{as}}$ колебания ионного карбоксила $\text{COO}^-$ ; колебания $\text{C}=\text{O}$ в амидах (Амид I)
1582 1552 1511	Составные колебания: деформационные колебания $\sigma^+\text{NH}_3$ (аминокислотная полоса II); колебания $\text{C}-\text{N}$ и $\text{N}-\text{H}$ в амидах (Амид II)
1426 1352	Валентные колебания $\nu_{\text{s}}$ $\text{COO}^-$ -групп; веерные $\gamma_{\text{w}}$ $\text{CH}_2$ - и $\text{CH}$ -групп; $\sigma_{\text{as}}$ $\text{H}_2\text{O}$
1262	Колебания в амидных группах (Амид III)
1163 1127 1040	Составные колебания: ассиметричные $\nu_{\text{as}}$ $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -групп; симметричные $\nu_{\text{s}}$ ( $\text{C}_\alpha-\text{N}$ ); валентные колебания $\nu$ $\text{C}-\text{O}$ в спиртовых группах
996 907	Колебания в пиранозных кольцах (тип 2 и тип 1); связи $\Delta(\text{CONH})$ в Амид IV
840 763	Колебания $\text{C}-\text{O}$ и $\text{N}$ - вициальные; пульсационные колебания пиранозных и фуранозных колец

колебаниями: деформационными  $\text{N}^+\text{H}_3$  (аминокислотная полоса II), колебаниями ионного карбоксила  $\text{COO}^-$ , колебаниями полосы Амид II. Полосы при 1426, 1352  $\text{cm}^{-1}$  принадлежат симметричным валентным колебаниям  $\nu_{\text{s}}$   $\text{COO}^-$  групп, а также колебаниям  $\text{CH}_2$  (метильных групп). При 1262  $\text{cm}^{-1}$  наблюдается пик, который принадлежит колебаниям в амидных группах (полоса Амид III).

Группа полос 1163, 1127, 1040  $\text{cm}^{-1}$  свидетельствует об ассиметричных валентных колебаниях  $[-\text{C}-\text{O}-\text{C}-]$ , симметричных колебаниях  $\nu$  ( $\text{C}_\alpha-\text{N}$ ) в амидных группировках, валентных колебаниях  $\text{C}-\text{O}$  в спиртовых или в  $\text{COOH}$  группах. По-

лосы при 996, 907  $\text{cm}^{-1}$  обусловлены колебаниями в пиранозных кольцах (тип 2) и (тип 1), а также наличием связей  $\Delta(\text{CONH})$  в структуре Амид IV. Максимумы 840, 763  $\text{cm}^{-1}$  свидетельствуют о наличии пульсационных колебаний пиранозных и фуранозных колец или  $\text{CO}$ - в вициальных фрагментах.

Таким образом, исходя из результатов спектральных исследований, меланоидины пролинокислого производства можно охарактеризовать как высокомолекулярные соединения, содержащие аминокислотные фрагменты и гетероциклические структуры, имеющие в составе амидные связи.

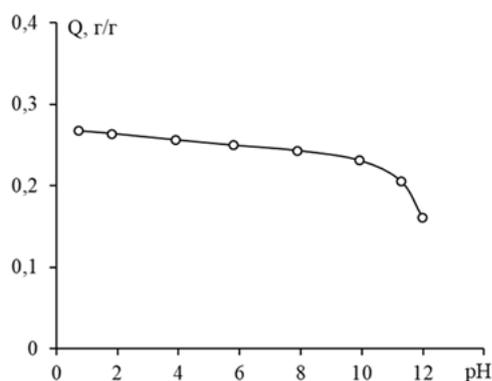


Рис. 3. Влияние pH раствора на поглощение меланоидинов пролинокислого производства ( $C_{12}H_3O_{14}N_2$ )<sub>28</sub>

Fig. 3. Influence of solution pH on the absorption of melanoidins of proline acid production ( $C_{12}H_3O_{14}N_2$ )<sub>28</sub>

### Экспериментальная часть

Для разделения аминокислот использованы аниониты АВ-17-8, АВ-17-2П (фракция 0.25-0.50 мм) в ОН-форме, КУ-2-8 и КУ-23 в Н-форме (фракция 0.25-0.50 мм) [11, 18]. Для выделения меланоидинов из ферментационных растворов пролинокислого производства использован изопористый неионогенный сорбент МХДЭ×100 [5-6]. Неионогенный сорбент Стиросорб МХДЭ-100 относится к типу сверхсшитых сорбентов. Полистирольная сетка получена сшиванием цепей полистирола в набухшем состоянии и при высушивании обладает небольшой плотностью. Внутренняя удельная поверхность Стиросорба МХДЭ-100 составляет 440 м<sup>2</sup>/г.

В работе использовали аминокислоты – пролин, валин (фирмы «Reanal» классификации «ч.д.а.»). Структурные формулы приведены в таблице 1. Концентрация растворов АК определялась нингидриновым методом с предварительным разделением их на хроматографической бумаге «Filtrak» №3 (Германия) [19], а также на аминокислотном анализаторе ААА-339 (Чехия).

Сорбцию на ионитах проводили в статических и динамических условиях. Пропускание растворов через колонки проводилось с использованием водоструйного

насоса. Отобранные пробы затем центрифугировали. При проведении эксперимента использовали модельные смеси аминокислот и их смеси, выделенные из культуральных жидкостей.

Образцы сорбционных материалов для ИК-спектроскопии готовили в виде таблеток с КВг (1:100). Колебательные спектры регистрировали на спектрометре «Vertex-70» (Bruker, Германия).

### Обсуждение результатов

Обесцвечивание свеклосахарных растворов и сахарорафинадных сиропов наиболее эффективно осуществляется неионогенным изопористым сорбентом на основе полистирола МХДЭ×100 [10-11]. На первом этапе исследована возможность удаления пигментов из пролинсодержащих растворов с использованием вышеназванного сорбента. Структура сорбента характеризуется однородностью, большой емкостью к пигментам (до 0.2-0.3 г/г сорбента) и избирательностью к ним (рис. 3). Из рис. 3 следует, что поглощение меланоидинов неионогенным сорбентом зависит от pH раствора.

Это связано с тем, что меланоидины пролинокислого производства в своей структуре наряду с моносахаридными фрагментами содержат пептидные группировки в виде цепочек с различной конформацией. При контакте меланоидинов

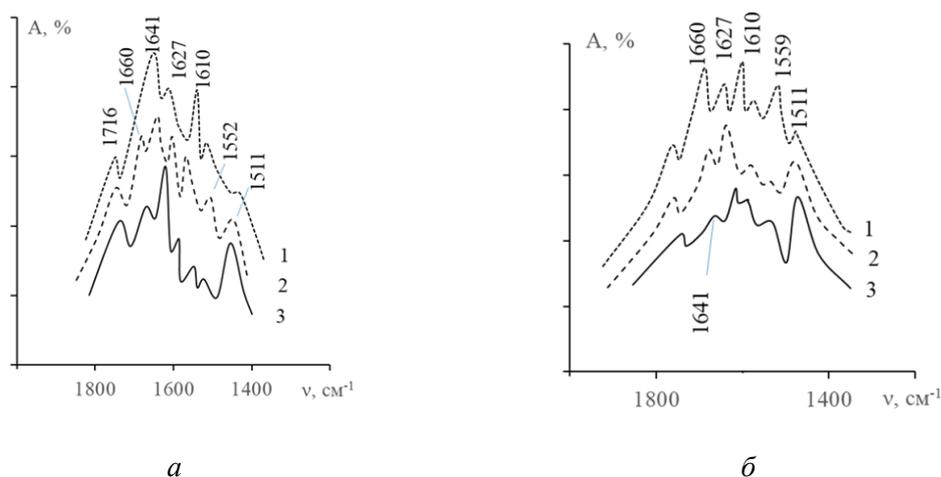


Рис. 4. ИК-спектры меланоидинов пролинокислого производства (а) и сорбента Стиросорб МХДЭ×100, насыщенного меланоидинами (б): 1; 2; 3 – рН равно 12.0; 6.1; 2.0 соответственно

Fig. 4. IR spectra of melanoidins of proline acid production (a) and the Stirosorb MХДЭ×100 sorbent saturated with melanoidins (b): 1; 2; 3 – pH is 12.0; 6.1; 2.0, respectively

с сорбентом при высоких значениях рН в ИК-спектрах доминирующими являются максимумы при 1641 см<sup>-1</sup> (Амид I) и 1552 см<sup>-1</sup> (Амид II), характерные для α-спиральных конформационных участков [11, 13] при невысоких значениях рН. Полосы при 1627 и 1511 см<sup>-1</sup>, характеризующие колебания групп Амид I и Амид II в полипептидных фрагментах β-формы в виде вытянутых цепочек проявляются при рН=12.0 только в виде порогов (рис.4б).

Однако, в нейтральной области (рН=6.1) интенсивность полос поглощения 1627 и 1511 см<sup>-1</sup> растет, что свидетельствует о появлении в пигментах значительного количества участков в виде вытянутых цепочек. При значениях рН=2.0 (рис. 4; кривая 3) β-форма в меланоидинах становится доминирующей, в то время как α-спиральных участков становится меньше, что подтверждается малой интенсивностью максимумов при 1641 и 1552 см<sup>-1</sup>. Таким образом, в области 2.7>рН>6.5 (рис. 1), когда меланоидины находятся преимущественно в биполярной форме, происходит переход в их отдельных фрагментах к β-форме, которая сопровождается переориентацией макромолекул и появлением значительного числа гидрофобных участков на поверхности пигмента.

В связи с тем, что Стиросорб МХДЭ×100 имеет гидрофобный каркас, появление на поверхности гидрофобных групп способствует связыванию окрашенных веществ за счет дисперсионных сил. При этом в колебательных спектрах наблюдается увеличение интенсивности в области 1627 и 1522 см<sup>-1</sup>, характерных для β-формы меланоидинов. Следует заметить, что при высоких значениях рН (рис. 4б кривая 1) происходит переход части меланоидинов из β- в α-форму, о чем свидетельствует усиление пиков 1660 и 1559 см<sup>-1</sup>. Последнее объясняет хорошую регенерацию сорбента от меланоидинов растворами гидроксида натрия. Регенерация Стиросорба МХДЭ×100 полностью осуществляется при пропускании 0.5 объема 1 М гидроксида натрия к одному объему сорбента.

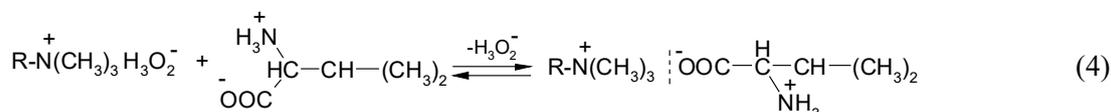
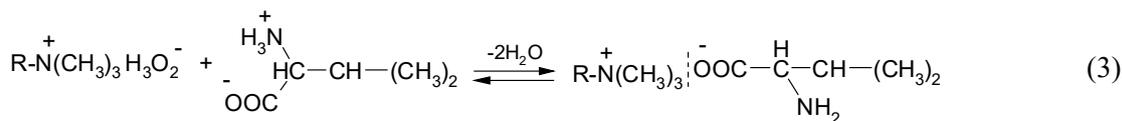
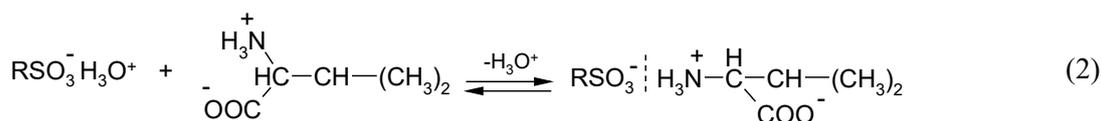
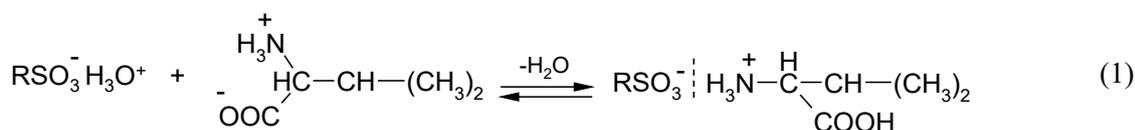
На втором этапе исследования изучена возможность разделения пролина и валина с использованием катионитов КУ-2 и анионитов АВ-17 гелевой и макропористой структуры. Как известно, соотношение констант протолиза карбоксильной группы К<sub>1</sub> и заряженной аминогруппы К<sub>2</sub> в зависимости от рН растворов (табл. 1,

Таблица 3. Емкость ионитов при насыщении их различными ионными формами пролина и валина

Table 3. Capacity of ion exchangers saturated with various ionic forms of proline and valine

Ион- ная форма сорбата	Анионит АВ-17*			Катионит КУ-2**		
	рН раствора		Е, мг-экв/г	рН раствора		Е, мг-экв/г
	исходн.	равнов.		исходн.	равнов.	
Про <sup>+</sup>	1.09/0.88	1.22/0.96	0.44/0.60	1.05/1.49	0.82/1.44	3.80/3.19
Про <sup>±</sup>	5.70/5.46	7.20/7.08	2.90/2.28	6.80/6.69	5.99/6.15	5.50/4.93
Про <sup>-</sup>	12.10/12.20	12.18/12.26	1.63/1.50	11.89/12.22	11.50/12.09	2.63/1.64
Вал <sup>+</sup>	0.50/0.33	0.67/0.46	0.50/0.83	1.92/1.40	1.62/1.26	3.86/2.09
Вал <sup>±</sup>	6.80/6.90	7.38/7.79	3.21/2.93	5.81/6.00	3.28/2.89	5.28/2.87
Вал <sup>-</sup>	12.06/12.10	12.50/12.48	2.64/2.26	12.11/12.00	10.45/12.00	1.61/0.95

\* в числителе АВ-17-8; в знаменателе АВ-17-2П; \*\* в числителе КУ-2-8; в знаменателе КУ-23 (30/100)



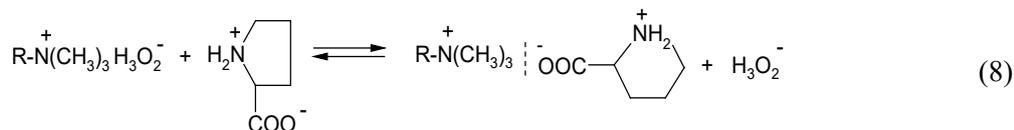
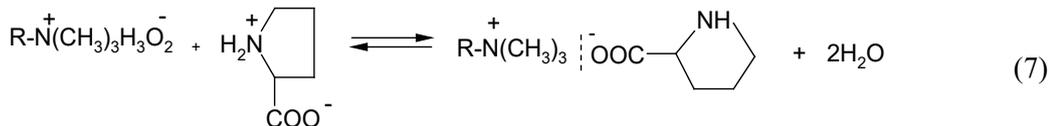
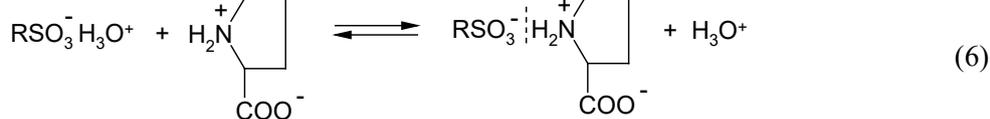
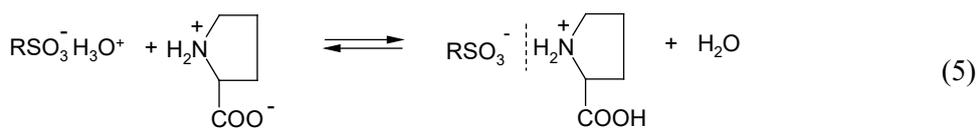
Схемы взаимодействия 1-4

рис. 1) определяет области существования различных ионных форм аминокислот [3, 11, 20-21]. Аналогичное положение справедливо и для внутренних растворов в фазе ионообменников. Отличие в соотношении ионных форм рассматриваемых аминокислот наблюдается при высоких значениях рН, так как рK<sub>a(1)</sub> для пролина (рK<sub>a(1)</sub> = 2.0) и валина (рK<sub>a(2)</sub> = 2.29) близки, а рK<sub>a(2)</sub> отличаются почти на единицу (10.60 и 9.72 соответственно).

Исследование сорбции пролина и валина в статических условиях на Н-катионитах и ОН-анионитах показали, что наибольшее поглощение сорбатов наблюдается в том случае, когда аминокислоты находятся в исходных растворах в виде биполярных ионов (табл. 3).

Повышение значений рН при сорбции на анионитах и их понижение при сорбции на катионитах свидетельствует о смешанном механизме сорбции аминокислот. При этом схемы превращения цвиттер-ионов в фазе катионитов в Н-форме и анионитов в ОН-форме могут быть представлены следующим образом. Для валина (схемы 1-4). Пролин сорбируется на катионите в Н-форме по схемам (5-6), а на анионите в ОН-форме по схемам (7-8).

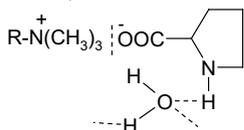
Следовательно, и пролин и валин в фазе ионообменников будут находиться преимущественно в двух ионных формах: в катионитах в виде катионов и цвиттер-ионов, а в анионитах – в виде анионов и цвиттер-ионов [3, 11]. Полученные с помощью колебательной спектроскопии



Схемы взаимодействия 5-8

данные подтверждают предлагаемые схемы сорбции пролина и валина. Поглощение цвиттерионов Н-сульфокатионитом сопровождается превращением их в катионы. Об этом свидетельствует наличие не только полос поглощения при  $1622 \text{ см}^{-1}$  (для валина) и  $1619 \text{ см}^{-1}$  (для пролина), характерных колебаниям С-О в  $\text{COO}^-$ -группах; но и появление максимумов в области  $1740 \text{ см}^{-1}$  (для валина) и  $1728 \text{ см}^{-1}$  (для пролина), обусловленных колебаниями С=О в неионизированных карбоксилах (табл. 4).

В фазе ОН-анионитов биполярные ионы пролина и валина превращаются в анионы аминокислот, что подтверждается наличием не только полос поглощения при  $2544 \text{ см}^{-1}$  ( $\nu\text{NH}_2$ ) и при  $1619 \text{ см}^{-1}$  ( $\sigma\text{NH}_2$ ) сорбированного пролина, а также  $1647 \text{ см}^{-1}$  ( $\sigma\text{NH}_2$ ) сорбированного валина; но и максимумов при  $3386 \text{ см}^{-1}$  (незаряженные амино- и иминогруппы, ассоциированные с водой).



Кроме того, в спектре анионита АВ-17-2П проявляется максимум поглощения пролина при  $973 \text{ см}^{-1}$  за счет валентных колебаний пролинового цикла.

Следует заметить, что сорбция ионов валина и пролина ионообменниками способствует образованию в фазе сорбентов гидратных ассоциатов различной стабильности, о чем свидетельствуют максимумы в ИК-спектрах в области  $3450\text{-}3230 \text{ см}^{-1}$  (табл. 4). Энергия водородных связей в этих ассоциатах может достигать  $120\text{-}130 \text{ кДж/моль}$  [3, 11].

Результаты по изучению сорбции биполярных пролина и валина анионообменниками в статических условиях показали, что наибольшее отличие в значениях вторых констант протолиза может быть положено в основу разделения данных аминокислот в динамических условиях. Это послужило основой проведения третьего этапа исследований. Проведенные в динамических условиях эксперименты позволили выбрать условия разделения пролина и валина на анионите АВ-17-2П в ОН-форме (рН исходного раствора 6.6-6.7; соотношение пролина и валина 2:1 (масс. %); скорость пропускания растворов  $2 \text{ см}^3/\text{мин}$ ). Результаты по разделению аминокислот представлены в табл. 5. Результаты (представленные графически (рис. 5)) свидетельствуют о том, что даже в одноактном процессе сорбции в пяти-семи фракциях, содержащих про-

Таблица 4. Полосы поглощения в ИК-спектрах ионообменников, насыщенных пролином и валином

Table 4. Absorption bands in the IR spectra of ion exchangers saturated with proline and valine

Анионит АВ-17-2П			Катионит КУ-23 (30/100)		
Про <sup>±</sup>	Вал <sup>±</sup>	Отнесение полос	Про <sup>±</sup>	Вал <sup>±</sup>	Отнесение полос
3450	3420	$\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$	3427	3418	$\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$
3386	3373	$\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H-N}<$	3370	3391	$\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{N-}$
3343	-	$\nu\text{COO}\cdots\text{H}_2\text{O}$	3318	3341	$\nu\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H-N}^+\equiv$
3290	3213	$\nu\text{COO}\cdots\text{H-N}<$	3263	3200	$\nu\text{COO}\cdots\text{H-N}<$
2943	2961	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2; \text{CH}$	2960	2944	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2; \text{CH}$
2816	2833	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2; \text{CH}$	2839	2851	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2; \text{CH}$
2544	-	Валентные $\nu\text{N}^+\text{H}_2$	1728	1740	$\nu\text{C}=\text{O}$ в $\text{COOH}$
1619	1647	$\text{N}^+\text{H}_3$ полоса I в АК	1619	1602	$\nu\text{C-O}$ в $\text{COOH}$
1579	1548	$\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ в $\text{COOH}$	1601	1590	$\sigma\text{N}^+\text{H}_3; \nu_{\text{as}}\text{C-O}$ в $\text{COO}^-$
1440	1427	$\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ в $\text{COOH}$	1477	1482	$\sigma\text{N}^+\text{H}_3; \nu_{\text{s}}\text{C-O}$ в $\text{COO}^-$
1314	1326	$\sigma_{\text{as}}\text{H}_2\text{O}; \sigma_{\text{s}}\text{CH}_2$	1362	1371	$\sigma_{\text{as}}\text{H}_2\text{O}; \sigma_{\text{s}}\text{CH}_2$
1269	1277	$\gamma_{\text{w}}$ веерные $\text{CH}; \text{CH}_2$	1230	1261	$\gamma_{\text{w}}$ веерные $\text{CH}; \text{CH}_2$
1160	1183	$\nu_{\text{s}}\text{H}_3\text{O}_2^+$ в $\text{H}_2\text{O}$	1141	1159	$\nu_{\text{s}}\text{H}_3\text{O}_2^+$ в $\text{H}_2\text{O}$
1022	1014	$\nu_{\text{as}}(\text{O}\cdots\text{H-O})$ в $\text{H}_3\text{O}_2^+$	1032	1026	$\gamma_{\text{r}}$ маятник. $\text{CH}_2$
973	-	$\nu_{\text{as}}$ пролин. цикла	959	-	$\nu_{\text{as}}$ пролин. цикла
-	881	$\gamma_{\text{r}}$ маятник. $\text{CH}$	719	749	$\gamma_{\text{t}}$ крутильн. $\text{CH}$

Таблица 5. Разделение пролина и валина в динамических условиях на анионите АВ-17-2П. (Состав исходного раствора: 12 г/дм<sup>3</sup> пролина; 6 г/дм<sup>3</sup> валина; объем фракций 20 см<sup>3</sup>; объем анионита 20 см<sup>3</sup>; диаметр колонки 1.2 см)

Table 5. Separation of proline and valine in dynamic conditions on anionite AV-17-2P

Фракция	рН	Пролин		Валин	
		С, г/дм <sup>3</sup>	С/С <sub>0</sub>	С, г/дм <sup>3</sup>	С/С <sub>0</sub>
1	7.40	-	-	-	-
2	7.65	-	-	-	-
3	7.77	-	-	-	-
4	7.82	4.2	0.41	-	-
5	7.90	18.3	1.72	-	-
6	7.75	21.0	1.94	-	-
7	7.62	22.4	2.41	-	-
8	7.49	17.9	1.73	-	-
9	7.45	16.3	1.56	0.9	0.14
10	7.30	13.2	1.27	2.7	0.41
11	7.28	10.1	0.83	4.8	0.73
12	7.28	10.1	0.83	7.2	1.30

лин, отсутствуют ионы валина, а концентрация пролина в 2.0-2.7 раза превышает таковую в исходном растворе.

Следует отметить, что в интервале рН раствора 7.6-8.7 цвиттер-ионы пролина

присутствуют в максимальном количестве. Для валина при рН=8.0-9.1 характерно наличие заметных количеств аниона, что соответствует присутствию Вал<sup>-</sup> и Про<sup>±</sup> в ОН-анионите. В этом случае про

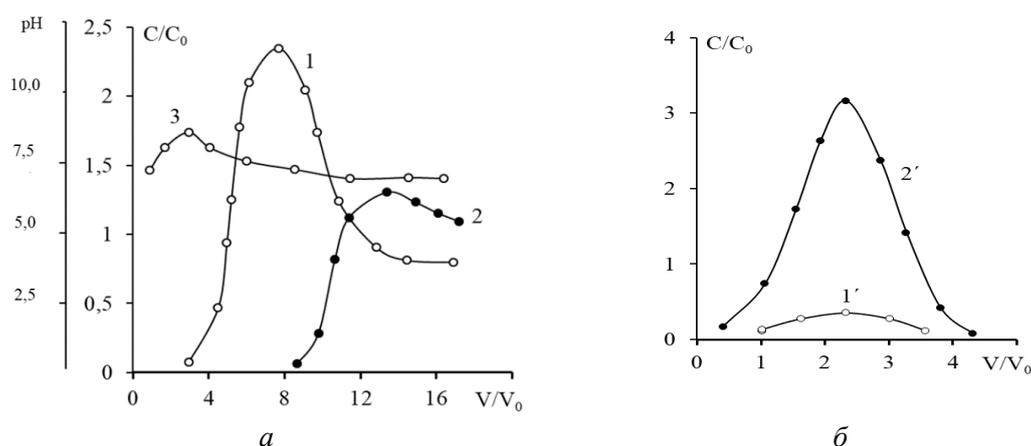


Рис. 5. Выходные кривые сорбции (а) и десорбции (б) пролина (1, 1') и валина (2, 2') на ОН-анионите АВ-17-2П. Кривая 3 – pH раствора.

Fig. 5. Resulting curves of sorption (a) and desorption (b) of proline (1, 1') and valine (2, 2')

лин по высоте колонки практически движется в виде цвиттер-иона, затем валин – в виде аниона (рис. 3).

Каждый цикл выделения пролина и валина из смесей включает следующие последовательно выполняемые операции: 1 – сорбция смеси аминокислот ОН-анионитом; 2 – отмывка анионита водой; 3 – десорбция аминокислот водой; 5 – перевод С1-ионита в ОН-форму.

Для отмывки анионита после выделения пролина достаточно 2.0-2.5 объема воды по отношению к объему анионита. Кривые десорбции показывают, что в регенератах присутствуют лишь следовые

количества пролина, в то время как концентрация валина превышает исходную. Поэтому может иметь практическое применение регенератов для выделения валина после фракционирования пролина (рис. 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/References

1. Murav'ev D.N., Obrezkov O. N. Issledovanie sverhjekvivalentnoj sorbcii cvitterlitov. *Zhurn. fiz. himii*. 1986; 60 (2): 396-401. (In Russ.).
2. Davankov V. A., Navratil Dzh., Uolton H, Ligandoobmennaja hromatografija. M., Mir, 1990, 294 p. (In Russ.).
3. Selemenev V.F. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija i obrazovanie peresyshhenyh rastvorov aminokislot v faze vysokoosnovnogo anionita / V.F. Selemenev, O.B. Rudakov, D.L. Kotova, T.V. Eliseeva, I.V. Voronyuk, S.I. Karpov, N.A. Belanova et al. V kn. «Nasledie M.S. Cveta v trudah voronezhskih himikov». V.I. Voronezh, Nauchnaja kniga, 2021: 89-131. (In Russ.).

4. Lindenmeier M., Faist V., Hormann T. Structural and functional characterization of prolyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing in vitro antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *J. Agricultural and food chemistry*. 2002; 50: 6697-7006.

5. Sapronov A.R., Sapronova L.A., Ermolaev S.V. Tehnologija saharnogo proizvodstva. Sankt-Peterburg, ID «Professija», 2015, 296 p. (In Russ.).

6. Ponomareva A.M. Reakcija melanoidinoobrazovanija i ee rol' v processe prigotovlenija hleba. *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija*. 1965; 1 (5): 566-584. (In Russ.).

7. Selemenev V.F. Melanoidiny. Voronezh: Izd. VGU, 2004, 195 p. (In Russ.).



8. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Slavinskaja G.V., Drozdova N.V. Pigmenty pishhevyykh proizvodstv (melanoidiny). M., DeLi print, 2008. 246 p. (In Russ.).
9. Tarasova I.A. Issledovaniya saharosoderzhashchih krasnykh rastvorov metodom differentsial'no skaniruyushchey kalorimetrii. *Sahar*. 2017; 3: 48-49. (In Russ.).
10. Sjurupa M.P. Pogloshhenie okrashennykh veshchestv iz fermentatsionnykh rastvorov lizina «sverhshchitym» polistirol'nym sorbentom. *Prikladn. biokhimiya i mikrobiologiya*. 1985; 21 (1): 72-77.
11. Selemenev V.F. Obmennye processy i mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija v sisteme anionit-voda-aminokislota: Diss...d-ra him. nauk. Voronezh, 1993. 596 p.
12. Pimentel Dzh., Mak-Klellan O. Vodorodnaja svyaz'. M., Mir, 1964, 462 p.
13. Dehant I. Infrakrasnaja spektroskopija polimerov. M., Himija, 1976, 471 p.
14. Zagorodni A.A., Kotova D. L., Selemenev V.F. Infrared spectroscopy of ion exchange resins: chemical deterioration of the resins. *Reactive and Functional Polymers*. 2002; 53: 157-171.
15. Borrelli R.C., Viscontu A., Mennella C., et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50 (22): 6527-6533.
16. Martins S.J.F.S., Van Boekel M.A.H.S. Melanoidins extinction coefficient on the glucose/glycine Maillard reaction. *Food Chemistry*. 2003; 83 (1): 135-142.
17. Patil P.U., Kapadnis B.H., Dhamankar V.S. Decolorisation of synthetic melanoidin and biogas effluent by immobilised fungal isolate of *Aspergillus niger* UM2. *Internat. sugar Journal*. 2003; 105: 1249.
18. Chikin G.A., Mjagkoj O. N. Ionoobmennye metody ochistki veshchestv. Voronezh, Izd. VGU, 1984, 372 p. (In Russ.).
19. Hajs N. M., Macek K. M. Hromatografija na bumage. Moskva, IL, 1962, 831 p.
20. Selemenev V.F. Bezreagentnye ionoobmennye metody vydelenija fiziologicheski aktivnykh veshchestv. Vedushhie nauchno-pedagogicheskie kollektivy. Voronezh, Voronezh. un-t, 2003, 588 p. (In Russ.).
21. Obretenov C., Demyttenaere J., Tehrani K.A., et al. Flavor release in the presence of melanoidins prepared from L-(+)-ascorbic acid and amino acids. *J. Agricultural Food Chemistry*, 2002; 50 (15): 4244-4250.

### Информация об авторах / Information about the authors

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

**Н.А. Беланова** – к.х.н., ст. преп. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

**Н.В. Мироненко** – к.х.н., ассистент каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

**А.А. Беланова** – студент, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», Воронеж, Россия

**В.Н. Семенов** – д.х.н., заведующий кафедрой общей и неорганической химии ВГУ, Воронеж, Российская Федерация

**V.F. Selemenev** – DSc in chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: [common@chem.vsu.ru](mailto:common@chem.vsu.ru)

**N.A. Belanova** – PhD in Chemistry, the assistant of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation; e-mail: [belanovana@mail.ru](mailto:belanovana@mail.ru)

**N.V. Mironenko** – PhD in Chemistry, Assistant of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, E-mail: [natashamir@yandex.ru](mailto:natashamir@yandex.ru)

**A.A. Belanova** – Student, Burdenko Voronezh State Medical University, Russian Federation

**V.N. Semenov** – Dr Sci (Chem), head of common and inorganic chemistry chair of Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: [office@chem.vsu.ru](mailto:office@chem.vsu.ru)



**А.А. Волков** – студент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация

**A.A. Volkov** – Student, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

**Л.Н. Коломиец** – к.х.н., старший научный сотрудник, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

**L.N. Kolomiets** – researcher, Ph.D. Frumkin Institute of Physical and Electrochemistry, Moscow, Russia; e-mail: [kolom\\_moscow@mail.ru](mailto:kolom_moscow@mail.ru)

*Статья поступила в редакцию 16.02.2024; одобрена после рецензирования 20.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.*

*The article was submitted 16.02.2024; approved after reviewing 20.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.42

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12029

### **Синтез и физико-химические свойства 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтана при сорбции тяжелых, благородных и редкоземельных элементов**

**Ольга Д. Хорозова<sup>1</sup>, Юлия С. Дальнова<sup>1,2</sup>, Александр В. Бабкин<sup>3✉</sup>,  
Ирина М. Мельникова<sup>1,4</sup>, Анастасия С. Трящина<sup>1,3</sup>, Елизавета С. Шукман<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Государственный научно-исследовательский и проектный институт редкометаллической промышленности, Москва, Россия

<sup>3</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

A.V.Babkin93@yandex.ru✉

<sup>4</sup>Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии Российской академии наук, Москва, Россия

**Аннотация.** В работе предложена лабораторная методика синтеза сорбента 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтана (КПДЭ). С использованием различных методов зарегистрирован ИК-спектр полученного соединения. Выявлены спектральные признаки для идентификации структуры 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтана в продуктах синтеза. Состав целевого соединения подтвержден также методом ЯМР-спектроскопии на ядрах <sup>13</sup>C и <sup>15</sup>N. Получена порошковая рентгенограмма 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтана. На основе проведенных сорбционных экспериментов показана возможность эффективного применения синтезированного сорбента в процессах селективного извлечения тяжелых, благородных и редкоземельных металлов из модельных и реальных многокомпонентных растворов. Проведена оценка возможности применения синтезированного сорбционного материала при адсорбции благородных металлов из реальных отработанных растворов аффинажного производства. Доказано, что присутствует выраженная селективность синтезированного материала, так как концентрации тяжелых металлов (например, никеля и свинца) в процессе сорбции при различных температурах изменяются незначительно, в то время как например золото, палладий и платина сорбируются практически со 100% эффективностью.

**Ключевые слова:** 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтан, селективность, аминотиоэфирные сорбенты, тяжелые и благородные металлы, редкоземельные элементы.

**Благодарности:** Авторы выражают благодарность коллективу Испытательного аналитико-сертификационного центра АО «Гиредмет» за проведение анализов на содержания компонентов в растворах. Также признательны Маричеву Г.В. из ИАТЭ НИЯУ МИФИ за помощь в проведении рентгенофазового анализа. Исследования методом ЯМР-спектроскопии соединений, синтезированных в данной работе, выполнен на приборе AVANCE II 300 МГц (BRUKER) в ЦКП «Центр исследования полимеров» ИСПМ РАН при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (тема № FFSM-FFSM-2021-0004)

**Для цитирования:** Хорозова О.Д., Дальнова Ю.С., Бабкин А.В., Мельникова И.М., Трящина А.С., Шукман Е.С. Синтез и физико-химические свойства 1-карбоксии-2-пергидро(1,3,5-дигиазин)/-5-илэтана при сорбции тяжелых, благородных и редкоземельных элементов // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 76-87.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12029>



Original article

## Synthesis and physicochemical properties of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane during the sorption of heavy, noble, and rare earth elements

Olga D. Khorozova<sup>1</sup>, Julia S. Dalnova<sup>1,2</sup>, Alexander V. Babkin<sup>3</sup>✉, Irina M. Melnikova<sup>1,4</sup>, Anastasia S. Tryastina<sup>1,3</sup>, Elizaveta S. Shukman<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Leading Research Institute of Chemical Technology, Moscow, Russia

<sup>2</sup>State Research and Design Institute of Rare Metal Industry, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Lomonosov Moscow State University, Russia, A.V.Babkin93@yandex.ru✉

<sup>4</sup>Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy and Geochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Abstract.** This study proposes a laboratory procedure for the synthesis of the 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane (CPDE) sorbent. The IR spectrum of the resulting compound was recorded using various methods. Spectral features were revealed for the identification of the structure of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane in the synthesis products. The composition of the target compound was also confirmed by <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMP-spectroscopy. An X-ray powder diffraction pattern of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane was obtained. Based on the sorption experiments, the potential for effective use of the synthesized sorbent in the processes of selective extraction of heavy, noble, and rare earth metals from model and real multicomponent solutions was shown. The possibility of using the synthesized sorption material for the adsorption of noble metals from real waste solutions of industries production was assessed. The significant selectivity of the synthesized material has been proven, since the concentrations of heavy metals (such as nickel and lead) during sorption at different temperatures changed slightly, while, for example, gold, palladium and platinum were sorbed with almost 100% efficiency.

**Keywords:** 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane, selectivity, aminothioether sorbents, heavy and noble metals, rare earth elements.

**Acknowledgments:** The authors express their gratitude to the team of the Testing Analytical and Certification CenterCentre of AO Giredmet for conducting analyses of the content of components in solutions. We are also grateful to G.V. Marichev from the Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering of the National Research Nuclear University MEPhI for assistance in conducting X-ray phase analysis. NMR spectroscopy studies of the compounds synthesized in this work were performed using an AVANCE II 300 MHz device (BRUKER) of the Centre for Collective Use “Centre for Polymer Research” of Enikolopov Institute of Synthetic Polymeric Materials of the Russian Academy of Sciences with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (topic No. FFSM-FFSM-2021-0004)

**For citation:** Khorozova O.D., Dalnova Yu.S., Babkin A.V., Melnikova I.M., Tryastina A.S., Shukman E.S. Synthesis and physicochemical properties of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane during the sorption of heavy, noble, and rare earth elements. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 76-87. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12029>

### Введение

На сегодняшний день вопросы эффективной комплексной очистки сточных вод различных технологических производств являются крайне актуальными [1]. При этом, в современных условиях редкоземельные металлы и материалы на их основе являются ключевым фактором в успешном развитии многих отраслей высокотехнологичного промышленного производства [2]. Редкоземельные и благородные металлы широко применяются

в различных сплавах, катализаторах, постоянных магнитах и многих других материалах и устройствах, принципы работы которых лежат в основе функционирования сенсоров, химических источников тока, объектов ядерной энергетики, современных медицинских устройств, систем навигации и позиционирования, оптических приборов и т.д. [3,4]. Современный спрос на редкоземельные металлы и материалы на их основе постоянно возрастает, и в ближайшие годы такая тенденция будет только усиливаться

[5,6]. Среди известных методов концентрирования редкоземельных элементов из водных растворов наиболее широко применяемыми являются флокуляция, коагуляция, ионный обмен, адсорбция, мембранная фильтрация, химическое осаждение, адсорбция и др. [7-10]. Именно применение методов сорбционного концентрирования позволяет наиболее эффективно извлекать целевые компоненты, особенно при низких начальных концентрациях в водных растворах [11].

В последние несколько лет динамичное развитие получили направления получения высокоэффективных сорбционных материалов для селективного извлечения ценных металлов из водных растворов [12]. Наиболее широко применяемыми из них являются наноструктурированные углеродные материалы (графен в различных степенях окисления и углеродные нанотрубки) и композиты на их основе [13-15], композиционные материалы на основе металлоорганических каркасов [16], цеолиты [17], различные полимерные материалы и композиты на их основе [2,18,19].

Ранее авторами уже была показана возможность эффективного применения дешевых и простых в получении материалов для предварительного сорбционного концентрирования редких и благородных металлов, что позволяло существенно повысить чувствительность современных аналитических методов анализа [5,20]. Используя различные сорбенты аминотиоэфирного ряда возможно производить селективное разделение на группы благородных металлов (БМ), тяжелых металлов (ТМ) и редкоземельных элементов (РЗЭ) в различных объектах техногенного и естественного происхождения. В связи с доказанной эффективностью практического применения аминотиоэфирных сорбентов [20] представляется важным проведение дальнейшей работы по расширению круга получаемых сорбционных материалов, а также оптимизации

методик их синтеза. Особенно важное значение при целевом формировании селективной адсорбционной структуры синтезируемых материалов имеет применение методов молекулярной спектроскопии на всех промежуточных этапах синтеза. Это позволяет характеризовать механизмы взаимодействия исходных компонентов и прогнозировать структуру целевого вещества. Именно поэтому целью настоящей работы являлось исследование строения и сорбционных свойств получаемого сорбента комплексом различных методов анализа.

### Экспериментальная часть

Синтез 1-карбоксит-2-/пергидро(1,3,5-дифтиазин)/-5-илэтана. Получение аминотиоэфирного сорбента проводили по следующей методике: в четырехгорлую колбу объемом 3 дм<sup>3</sup>, снабженную погружным термометром, обратным холодильником, мешалкой, капельной воронкой, вносят 300 см<sup>3</sup> (3 М) перегнанного водного раствора формальдегида с концентрацией 30%, при постоянном перемешивании добавляют 75 г (1 М) глицина, вносят насыщенный раствор 480 г (2 М) кристаллического девятиводного сульфида натрия, выдерживают 20 часов при комнатной температуре, затем медленно, при перемешивании, по каплям добавляют концентрированную соляную кислоту до полной нейтрализации реакционной смеси, контролируя процесс таким образом, чтобы температура в реакционной смеси не была выше 40°C. Схематично процесс синтеза представлен на рисунке 1.

Полученную смесь выдерживают сутки при комнатной температуре, после чего выделившийся осадок отфильтровывают, промывают водой на фильтре, высушивают на воздухе при комнатной температуре. Получают ~38 г (21%) 1-карбоксит-2-/пергидро(1,3,5-дифтиазин)/-5-илэтана с температурой плавления (разло

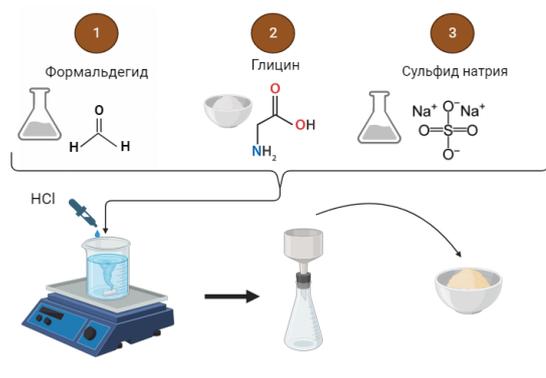


Рис. 1. Схема синтеза сорбента КПДЭ  
Fig. 1. The scheme for the synthesis of CPDE sorbent

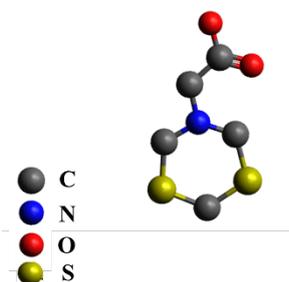


Рис. 2. Структура 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дитиазин)/-5-илэтана  
Fig. 2. Structure of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane

жения) 105-107°C. Структура синтезированного соединения представлено на рисунке 2.

Характеризация сорбента и промежуточных продуктов синтеза. Регистрация ИК-спектров была выполнена с помощью Фурье – спектрометра Prestige-21 фирмы «SHIMADZU» в диапазоне 4000-400 см<sup>-1</sup>. Проведение калибровки прибора, регистрация спектров, обработка результатов осуществлялась при помощи программного обеспечения IR Solution. Калибровка прибора по волновым числам осуществлялась с использованием полистирольной пленки. Перед началом работы регистрировали «фоновый» спектр в режиме ВКГ. Получение ИК спектров образцов осуществляли следующими способами:

-регистрировали ИК спектр пропускания в виде суспензии в нуйоле между оптическими окнами из NaCl в диапазоне частот 4000-600 см<sup>-1</sup>;

-методом таблетирования с оптически чистым бромидом калия;

-методом диффузного отражения с помощью приставки производства «PIKE TECHNOLOGIES».

Количество сканов варьировали от 60 до 100. Положение узких и одиночных полос определяли с точностью ±2см<sup>-1</sup>, для сложных полос с широким максимумом ±5см<sup>-1</sup>.

Фазовый состав образца исследовали методом рентгенофазового анализа на автоматизированном дифрактометре «ДРОН-4.0», в монохроматическом Cu k<sub>α</sub>-излучении. Съёмка проводилась в диапазоне углов 2θ от 10 до 95°. Расшифровка рентгенодифракционных данных, математическая обработка и фазовая диагностика образцов проводилась с использованием специализированного программного обеспечения «Match!» с открытой базой дифракционных данных COD, а также программного обеспечения «Diffrac.suite» с органической базой данных PDF-2.

Подтверждение предполагаемой структурной формулы осуществляли по ЯМР спектрам. Анализ выполнен на приборе AVANCE II 300 МГц (BRUKER). Измерения проводили для раствора в диметилсульфоксиде.

Сорбционные эксперименты проводили как с использованием модельных растворов (0.1M HCl) для оценки степени извлечения группы тяжелых металлов, так и с использованием реальных отработанных растворов аффинажного производства, предоставленных АО «Приокский завод цветных металлов» (г. Касимов). Время контакта сорбат/сорбент – 120 минут, соотношение массы навески к объёму раствора (Т:Ж) = 1:10000. Темпера-

ратура растворов варьировалась в диапазоне от 20 до 100°C. Концентрацию извлекаемых компонентов в растворе до и после адсорбции оценивали методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (iCAP 6300, Thermo Fisher Scientific).

### Обсуждение результатов

На рисунке 3 представлен ИК-спектр полученного сорбента КПДЭ.

В таблице 1 приведены основные частоты поглощения в ИК спектрах синтезированного соединения, подготовленного по разным методикам.

Как видно из таблицы 1, все основные частоты поглощения в ИК спектрах образца, подготовленного к анализу по различным методикам, совпадают в пределах точности регистрации ИК спектров, что не только свидетельствует об идентичности образцов, подготовленных с использованием разных методик пробоподготовки, но и дополнительно подтверждает выдвинутые предположения о структуре полученного соединения.

Интенсивная полоса поглощения средней ширины с максимумом при 1736 см<sup>-1</sup> отнесена к поглощению валентных колебаний группы С=О. Валентные антисимметричные колебания карбонильных групп в насыщенных алифатических кислотах проявляются вблизи 1760 см<sup>-1</sup> для мономеров и в диапазоне 1715-1680 см<sup>-1</sup> для димеров. В ИК спектрах 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана значение валентных колебаний группы С=О существенно выше значений, характерных для димеров предельных алифатических карбоновых кислот, что может быть обусловлено более высокой прочностью связи С=О в сравнении с димерами насыщенных алифатических кислот.

В области проявления гидроксильных групп (2700-2500 см<sup>-1</sup>) наблюдаются малоинтенсивные полосы, что характерно для «связанных» карбоксильных группировок. Наблюдаются интенсивные полосы в диапазоне 1300-1200 см<sup>-1</sup>, которые

могут быть отнесены к поглощению валентных колебаний связей С-О в кислотах, а также в области поглощения деформационных колебаний связей ОН-групп в кислотах (970-840 см<sup>-1</sup>). Данная группа полос исчезает в ИК-спектрах образца после декарбонизации.

Наличие интенсивных полос ниже 1600 см<sup>-1</sup> в ИК спектре 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана, может свидетельствовать о присутствии функциональных групп, содержащих гетероатомы. Интенсивные линии с максимумами при 1424, 1410 см<sup>-1</sup>, по-видимому, могут быть отнесены к валентным колебаниям С-N связей ввиду их высокой интенсивности. Колебания С-S проявляются в области 750-550 см<sup>-1</sup> в виде малоинтенсивных полос [28].

В области спектра 1300-625 см<sup>-1</sup> проявляются валентные колебания групп С-С, С-О, С-N, а также деформационные колебания. В результате сильного взаимодействия этих колебаний отнесение полос поглощения к отдельным связям зачастую проблематично. В то же время представленная совокупность характеристических полос позволила надежно идентифицировать 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана в продуктах синтеза по различным методикам, определить отдельные примеси, установить методики, которые обеспечивают максимальный выход целевого продукта и минимальное содержание сторонних компонентов в целевом продукте.

В рамках работы был также проведен рентгенофазовый анализ синтезированного материала, представленный на рисунке 4.

Анализ дифрактограммы позволяет утверждать, что синтезированный сорбент имеет выраженную кристаллическую структуру. При определении фазового состава и сопоставлении рентгенограммы с органическими базами данных – идентификацию с имеющимися эталонными дифрактограммами провести не удалось. Таким образом можно говорить

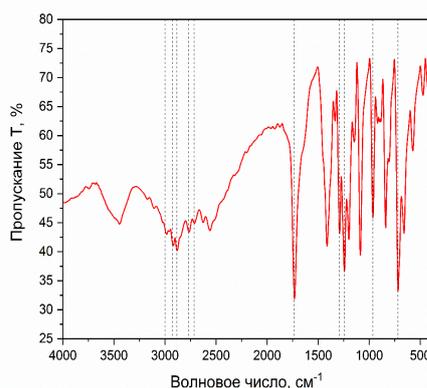


Рис. 3. ИК-спектр 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дитиазин)/-5-илэтана (суспензия в нуйоле)  
 Fig. 3. IR spectrum of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane (Nujol suspension)

Таблица 1. Основные частоты поглощения в ИК спектрах 1-карбокси-2-/пергидро(1,3,5-дитиазин)/-5-илэтана, подготовленного по разным методикам регистрации спектров  
 Table 1. Main absorption frequencies in the IR spectra of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane, prepared using different methods for recording spectra

Методика «пасты» в нуйоле	Методика прессования с KBr	Методика с использованием приставки диффузного отражения	Отнесение
Полосы поглощения нуйола	3000	3000	Валентные колебания С-Н-групп [21]
Полосы поглощения нуйола, 2770	2926	2926	Валентные колебания С-Н-групп [21]
	2885	2885	
2770	2770	2770	Валентные колебания «связанных» карбоксильных группировок [22]
2716	2716	2716	Валентные колебания «связанных» карбоксильных группировок [23]
2628	2628	2628	
2561	2561	2561	
1736	1737	1737	Валентные колебания группы С=О [24]
1350	1350	1350	Валентные колебания С-N [25]
1297	1296	1296	Валентные колебания связей С-О в кислотах [26]
1249	1250	1250	Валентные колебания связей С-О в кислотах [26]
965	964	965	Деформационные колебания связей ОН-групп в кислотах [27]
715	715	715	Валентные колебания С-Н [25]

о том, что синтезированная структура имеет смешанную кристаллическую фазу и потому не может быть отнесена к ранее исследованным методом рентгеновской дифракции соединениям.

Структура синтезированного сорбента была исследована при различных температурах методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса, результаты представлены на рисунке 5.

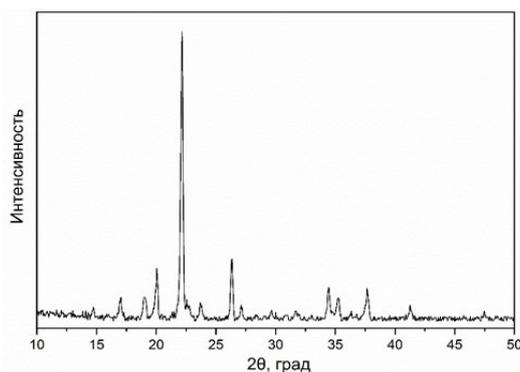


Рис. 4. Дифрактограмма порошка 1-карбоксы-2-/пергидро(1,3,5-дитиазин)/-5-илэтана  
Fig. 4. X-ray diffraction pattern of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane powder

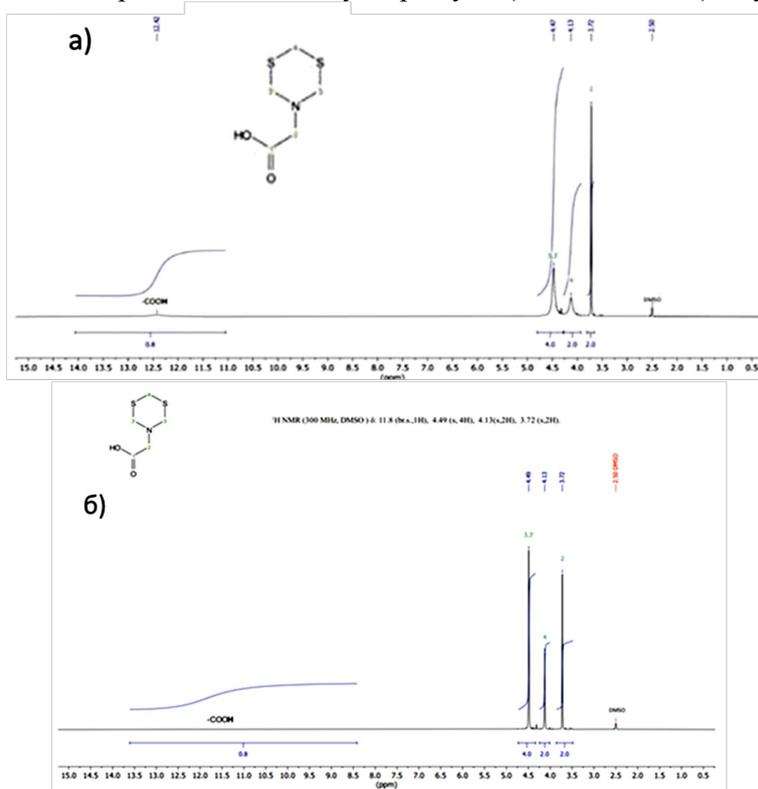


Рис. 5. Протонный спектр 1-карбоксы-2-/пергидро(1,3,5-дитиазин)/-5-илэтана при комнатной температуре (а) и при 323К (б)

Fig. 5. Proton spectrum of 1-carboxy-2-/perhydro(1,3,5-dithiazine)/-5-ylethane at room temperature (a) and at 323 K (b)

В спектре ЯМР-1H в области сильного поля наблюдается 3 синглета. Сигнал при 3.72 м.д. отвечает протонам, связанным с атомом углерода 2, расположенного между карбоксильной группой и третичным атомом азота. Сигналы при 4.13 и 4.47 м.д. соответствуют протонам при атомах углерода гетероцикла (атомы 4 и атомы 3,3' соответственно). Сигнал в области слабого поля при 12.42 м.д. соответствует протону карбоксильной

группы и уширен вследствие способности этого протона к обмену. В спектре при повышенной температуре (323 К) наблюдается аналогичный набор сигналов, однако мы можем наблюдать более сильное уширение пика протона карбоксильной группы. По-видимому, это связано со смещением равновесия реакции обмена протона. Предположительно это может свидетельствовать о возмож-

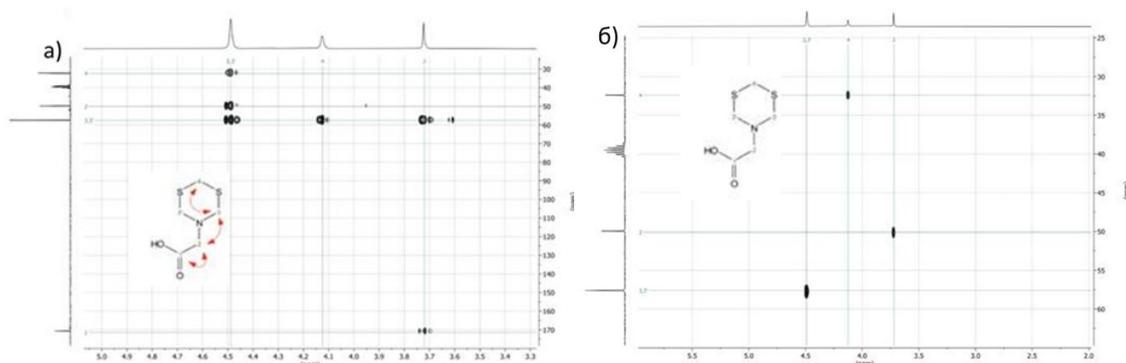


Рис. 6. Корреляция через несколько связей для углерода-13 (а) и корреляция углерода и протонов через прямые связи (б)

Fig. 6. Correlation via multiple bonds for carbon-13 (a) and correlation of carbon and protons via direct bonds (b)

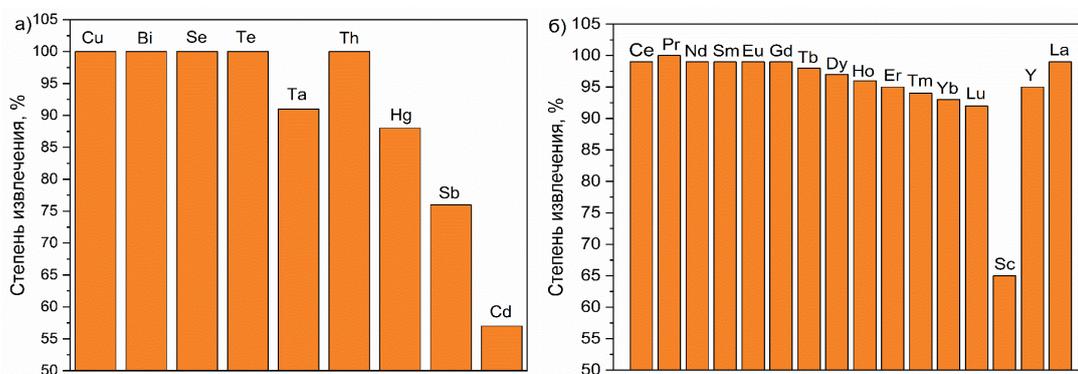


Рис. 7. Степень извлечения некоторых тяжелых металлов (а) и РЗЭ (б) сорбентом КПДЭ.

Условия извлечения тяжелых металлов: концентрация HCl (0.1 M);  $m_{\text{сорбента}}=0.1$  г;  $V_{\text{р-ра}}=10$  см<sup>3</sup>, время сорбции – 1.5 часа,  $T=80^{\circ}\text{C}$ , концентрация каждого элемента=0.2 ppm. Условия извлечения РЗЭ: концентрация (HF)= $10^{-3}$  масс.%,  $m_{\text{сорбента}}=0.1$  г,  $V_{\text{р-ра}}=10$  см<sup>3</sup>, время сорбции – 1.5 часа,  $T=80^{\circ}\text{C}$ , концентрация каждого элемента=0.5 ppm.

Fig. 7. The degree of extraction of some heavy metals (a) and REE (b) by the CPDE sorbent.

ности интенсификации процесса сорбционного концентрирования целевых компонентов путем повышения температуры раствора при сорбции.

Отнесение пиков было подтверждено с помощью двумерных спектров HSQC (корреляция через одну связь) и HMBS (корреляция через несколько связей). По представленной выборке спектров однозначно устанавливается набор «соседей» для каждого из атомов в исследуемой структуре (рисунок 6).

Анализ представленных спектров подтверждает предположения о расположении атомов и природе образуемых связей в структуре синтезированного сорбента. Таким образом, с использованием раз-

личных взаимодополняющих методов характеристики были подтверждены предположения о структуре и составе синтезированного материала.

Полученный сорбент испытывали на сорбцию благородных металлов, группы тяжелых металлов, группы редкоземельных элементов. По предварительному анализу структуры полученного адсорбента предполагалось, что механизм его действия будет подобен комплексообразованию катионов металлов с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТУК) за счет наличия карбоксильной группы в составе молекулы.

В рамках работы были проведены исследования возможности эффективного

Таблица 2. Извлечение БМ сорбентом КПДЭ из реальных отработанных растворов аффинажных производств.

Table 2. Extraction of NM using CPDE sorbent from real waste solutions of refining industries.

Концентрация	Ag	Au	Pd	Pt	Rh	Ir	Ru	Fe	Ni	Zn	Mn	Pb
в исходном растворе, мг/дм <sup>3</sup>	23.4	19.8	46.4	69.7	15.1	21.0	4.5	9.8	42.5	9.6	4.2	3.9
в растворе после сорбции, (T=20°C), мг/дм <sup>3</sup>	0.00	0.01	0.00	14.8	15.0	20.9	4.2	9.9	42.5	9.5	4.2	3.9
в растворе после сорбции, T=100°C, мг/дм <sup>3</sup>	0.00	0.00	0.00	0.08	<1.0*	<1.0*	1.3	9.6	42.5	9.5	4.2	3.8

\*меньше предела обнаружения

извлечения тяжелых металлов и редкоземельных элементов из модельных слабокислых водных растворов. Результаты представлены на рисунке 7.

Результаты проведенных экспериментов позволяют утверждать, что использование синтезированного сорбента позволяет крайне эффективно извлекать благородные и редкоземельные металлы из слабокислых водных растворов. Степень извлечения по многим целевым компонентам превышает 95%. Наименьшую степень извлечения среди некоторых типов тяжелых металлов (рисунок 7 (а)) демонстрирует кадмий, а в ряду редкоземельных элементов все компоненты (кроме скандия) извлекаются с эффективностью более 90%. Дальнейший этап работ был направлен на оценку возможности применения синтезированного сорбента в реальных условиях эксплуатации.

В таблице 2 представлены результаты адсорбции различных металлов из отработанных растворов аффинажных производств. Установлено, что синтезированный сорбент – КПДЭ способен эффек-

тивно образовывать комплексные соединения с благородными металлами при сорбции.

Очевидна выраженная селективность синтезированного материала, так как концентрации тяжелых металлов (например, никеля и свинца) в процессе сорбции при различных температурах изменяются незначительно, в то время как, например, золото, палладий и платина сорбируются практически со 100% эффективностью. Важно также отметить, что при повышении температуры раствора все представители группы благородных металлов демонстрируют значительное увеличение степени извлечения. Это дополнительно подтверждает выдвинутые предположения о увеличении активности протона карбоксильной группы, что может способствовать интенсификации процессов комплексообразования и росту сорбционных характеристик.

### Заключение

В лабораторных условиях авторами разработана оригинальная технология получения сорбентов на основе реакции тиометилирования аминсоединений,



позволяющая получать продукты гетероциклического строения, содержащие серу и азот. Сорбционные свойства полученных таким методом сорбентов соответствуют ведущим мировым аналогам. Изучение процессов сорбции РЗЭ из модельных растворов показало эффективность применения сорбента 1-карбоксии-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана. Использование разработанного типа сорбента позволяет производить достаточно четкое разделение на группы БМ, ТМ, РЗЭ в различных объектах техногенного и естественного происхождения, что потенциально имеет уникальное значение для эффективного решения многих практических задач.

Для полученного нового сорбента 1-карбоксии-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана зарегистрированы ИК спектры. Установлен набор частот поглощения в ИК-диапазоне для использования в качестве спектрального признака 1-карбоксии-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана

#### Список литературы/References

1. Ioannis Anastopoulos, Amit Bhatnagar, Eder C. Lima Adsorption of rare earth metals: A review of recent literature. *Journal of Molecular Liquids*. 2016; 221: 954-962. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.06.076>
2. Negrea A., Gabor A., Davidesc, C.M. Rare Earth Elements Removal from Water Using Natural Polymers. *Sci Rep*, 2018; 8: 316 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18623-0>
3. Ashour Radwa M., El-sayed Ramy, Abdel-Magied Ahmed F., Abdel-khalek Ahmed A., Ali M.M., Forsberg Kerstin, Uheida A., Muhammed Mamoun, Dutta Joydeep Selective separation of rare earth ions from aqueous solution using functionalized magnetite nanoparticles: kinetic and thermodynamic studies. *Chemical Engineering Journal*. 2017; 327: 286-296, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.101>
4. Simon M. Jowitt, Timothy T. Werner, Zehan Weng, Gavin M. Mudd, Recycling of the rare earth elements, *Current Opinion in*

применительно к идентификации целевого соединения в продуктах синтеза. Зарегистрированы протонный спектр при комнатной температуре, протонный спектр при температуре 50°C и ЯМР спектр на ядрах  $^{13}\text{C}$ . Методом ЯМР-спектроскопии подтверждено предполагаемое строение 1-карбоксии-2-/пергидро(1,3,5-дифтазин)/-5-илэтана. Получена рентгенограмма синтезированного соединения. Показана возможность эффективного применения синтезированного материала в сорбционных процессах для извлечения тяжелых, благородных и редкоземельных элементов.

#### 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.

- Green and Sustainable Chemistry*, 2018; 13: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.02.008>
5. Dal'nova O.A., Baranovskaya V.B., Dal'nova Y.S. New Complexing Polymer Aminothioether Sorbents in the Analytical Control of Recyclable Metal-Containing Raw Material of Rare and Noble Metals. *J Anal Chem*. 2018; 73: 221-227. <https://doi.org/10.1134/S1061934818030036>
  6. Galhoum A.A., Mafhouz M.G., Abdel-Rehem S.T., Gomaa N.A., Atia A.A., Vincent T., Guibal E. Cysteine-Functionalized Chitosan Magnetic Nano-Based Particles for the Recovery of Light and Heavy Rare Earth Metals: Uptake Kinetics and Sorption Isotherms. *Nanomaterials* 2015; 5: 154-179. <https://doi.org/10.3390/nano5010154>
  7. Yanfei Xiao, Li Huang, Zhiqi Long, Zongyu Feng, Liangshi Wang Adsorption ability of rare earth elements on clay minerals and its practical performance. *Journal of Rare Earths*, 2016; 34(5): 543-548. [https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(16\)60060-1](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(16)60060-1)
  8. Feiping Zhao, Eveliina Repo, Yong Meng, Xueting Wang, Dulin Yin, Mika Sillanpää, An EDTA- $\beta$ -cyclodextrin material for the



- adsorption of rare earth elements and its application in preconcentration of rare earth elements in seawater. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016; 465: 215-224. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.11.069>
9. Yoshio Takahashi, Xavier Châtellier, Keiko H. Hattori, Kenji Kato, Danielle Fortin, Adsorption of rare earth elements onto bacterial cell walls and its implication for REE sorption onto natural microbial mats. *Chemical Geology*, 2005; 219(1-4): 53-67. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2005.02.009>
10. Khawassek Y.M., Eliwa A.A., Haggag E.S.A. Adsorption of rare earth elements by strong acid cation exchange resin thermodynamics, characteristics and kinetics. *SN Appl. Sci.* 2019; 1: 51. <https://doi.org/10.1007/s42452-018-0051-6>
11. Talles Barcelos da Costa, Meuris Gurgel Carlos da Silva, Melissa Gurgel Adeodato Vieira, Recovery of rare-earth metals from aqueous solutions by bio/adsorption using non-conventional materials: a review with recent studies and promising approaches in column applications, *Journal of Rare Earths*, 2020; 38(4): 339-355. <https://doi.org/10.1016/j.jre.2019.06.001>
12. Xia Xu, Jiao Zou, Xiao-Ru Zhao, Xin-Yu Jiang, Fei-Peng Jiao, Jin-Gang Yu, Qi Liu, JieTeng, Facile assembly of three-dimensional cylindrical egg white embedded graphene oxide composite with good reusability for aqueous adsorption of rare earth elements, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019; 570: 127-140. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.03.022>
13. Shuangyou Bao, Yingjun Wang, Zongsu Wei, Weiwei Yang, Yongsheng Yu, Highly efficient recovery of heavy rare earth elements by using an amino-functionalized magnetic graphene oxide with acid and base resistance, *Journal of Hazardous Materials*, 2022; 424(A): 127370. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127370>
14. Babkin A.V., Zakharchenko E.A., Neskornomnaya E.A., Ryzhenkova M.A. Composite aerogels based on reduced graphene oxide decorated with iron oxide nanoparticles for the sorption of heavy and rare earth metals from multicomponent solutions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022; 22(5): 650-658. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10686>
15. Zhang Y., Zheng X., Bian T. Phosphorylated-CNC/MWCNT thin films-toward efficient adsorption of rare earth La(III). *Cellulose*, 2020; 27: 3379-3390. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03012-0>
16. Liang Zhao, Xiaoguang Duan, Muhammad R. Azhar, Hongqi Sun, Xiangchen Fang, Shaobin Wang, Selective adsorption of rare earth ions from aqueous solution on metal-organic framework HKUST-1, *Chemical Engineering Journal Advances*, 2020; 1: 100009. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.100009>
17. Bin Ji, Wencai Zhang, Adsorption of cerium (III) by zeolites synthesized from kaolinite after rare earth elements (REEs) recovery, *Chemosphere*, 2022; 303(1): 134941. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134941>
18. Md Lutfor Rahman, Tapan Kumar Biswas, Shaheen M. Sarkar, Mashitah M. Yusoff, Mohd Sani Sarjadi, Sazmal E. Arshad, Baba Musta, Adsorption of rare earth metals from water using a kenaf cellulose-based poly(hydroxamic acid) ligand, *Journal of Molecular Liquids*, 2017; 243: 616-623. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.08.096>
19. Donatien Gomes Rodrigues, Sophie Monge, Stéphane Pellet-Rostaing, Nicolas Dacheux, Denis Bouyer, Catherine Faur, A new carbamoylmethylphosphonic acid-based polymer for the selective sorption of rare earth elements, *Chemical Engineering Journal*, 2019; 371: 857-867. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.04.026>
20. Afonin M.V., Simanova S.A., Burmistrova N.M. Sorption recovery of platinum(II) and platinum(IV) chloro complexes with a heterochain sulfur-containing sorbent. *Russ J Appl. Chem.*, 2008; 81: 1933-1938. <https://doi.org/10.1134/S1070427208110128>
21. Grinvald I.I., Kalagae, I.Y., Petukhov A.N. Association of Haloforms in Condensed and Gas Phases. Ir Spectroscopy and Dft Calculations. *J Struct Chem.*, 2018; 59: 313-320. <https://doi.org/10.1134/S0022476618020087>
22. Wenhua Geng, Tsunenori Nakajima, Hirokazu Takanashi, Akira Ohki, Analysis of carboxyl group in coal and coal aromaticity by



Fourier transform infrared (FT-IR) spectrometry, *Fuel*, 2009; 88(1): 139-144. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.07.027>

23. Neskornomnaya E.A., Khamizov R.K., Melezhyk A.V., Memetova A.E., Mkrchan E.S., Babkin A.V. Adsorption of lead ions ( $Pb^{2+}$ ) from wastewater using effective nanocomposite GO/CMC/FeNPs: Kinetic, isotherm, and desorption studies, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022; 655: 130224. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.130224>

24. Anna Pielesz, Dorota Biniś, Wioletta Waksmańska, Rafał Bobiński, Lipid bands of approx.  $1740\text{ cm}^{-1}$  as spectral biomarkers and image of tissue oxidative stress, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023; 286: 121926. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121926>

25. Wahyuningsih et al. Indigo Dye Derived from Indigofera Tinctoria as Natural

Food Colorant. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2017; 193: 012048. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012048>

26. Moore M.H., Khanna R.K., Infrared and mass spectral studies of proton irradiated  $H_2O + CO_2$  ice: Evidence for carbonic acid, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 1991; 47(2): 255-262. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(91\)80097-3](https://doi.org/10.1016/0584-8539(91)80097-3)

27. Cassanas G., Morssli M., Fabrègue E., Bardet L. Vibrational spectra of lactic acid and lactates. *J. Raman Spectrosc.*, 1991; 22: 409-413. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250220709>

28. Mezzetti A., Seo D., Leibl W. Time-resolved step-scan FTIR investigation on the primary donor of the reaction center from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Photosynthesis Research*. 2003; 75: 161-169. <https://doi.org/10.1023/A:1022867317267>

### Информация об авторах / Information about the authors

**О.Д. Хорозова** – к.х.н., в.н.с. АО «Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии», Москва, Россия

**Ю.С. Дальнова** – ведущий инженер-технолог, АО «Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии», Москва, Россия

**А.В. Бабкин** – к.т.н., н.с., Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

**И.М. Мельникова** – младший научный сотрудник, АО «Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии» Москва, Россия

**А.С. Тряцкина** – стажер-исследователь, АО Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии, Москва, Россия

**Е.С. Шукман** – к.х.н., начальник испытательного аналитико-сертификационного центра АО «Гиредмет», Москва, Россия

**O.D. Khorozova** – Ph.D., leading researcher JSC “Leading research institute of chemical technology”, Moscow, Russia, e-mail: [horozova.olga@mail.ru](mailto:horozova.olga@mail.ru)

**Yu.S. Dalnova** – Leading Process Engineer JSC “Leading research institute of chemical technology”, Moscow, Russia, e-mail: [u.dalnova@mail.ru](mailto:u.dalnova@mail.ru)

**A.V. Babkin** – Ph.D. Researcher, Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Moscow, Russia, ORCID: 0000-0001-9786-1998, e-mail: [A.V.Babkin93@yandex.ru](mailto:A.V.Babkin93@yandex.ru)

**I.M. Melnikova** – junior researcher JSC “Leading research institute of chemical technology”, Moscow, Russia, e-mail: [irina.sokolova95@yandex.ru](mailto:irina.sokolova95@yandex.ru)

**A.S. Tryastsina** – trainee researcher, JSC “Leading research institute of chemical technology”, Moscow, Russia, e-mail: [anastasi.tryastsina@gmail.com](mailto:anastasi.tryastsina@gmail.com)

**E.S. Shukman** – Ph.D., Head of the Testing Analytical and Certification Center of Giredmet JSC, Moscow, Russia, e-mail: [ESKoshel@rosatom.ru](mailto:ESKoshel@rosatom.ru)

Статья поступила в редакцию 09.08.2023; одобрена после рецензирования 06.11.2023; принята к публикации 15.11.2023.

The article was submitted 09.08.2023; approved after reviewing 06.11.2023; accepted for publication 15.11.2023.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12026

### **Жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой в неорганическом анализе**

**Татьяна Анатольевна Марютина<sup>✉</sup>, Елена Юрьевна Савонина**

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук,  
Москва, Россия, [tatiana@maryutina.ru](mailto:tatiana@maryutina.ru)<sup>✉</sup>

**Аннотация.** Описаны отличительные особенности и основные вехи развития и применения метода жидкостной хроматографии со свободной неподвижной фазой (ЖХСНФ) в неорганическом анализе. Под действием асимметричного поля сил, возникающих при планетарном движении разделительной колонки, одна из фаз двухфазной жидкостной системы удерживается в колонке без специального носителя при непрерывном прокачивании второй фазы. Сочетание принципов жидкость-жидкостной экстракции и хроматографии в методе ЖХСНФ позволяет проводить концентрирование, разделение и выделение целевых компонентов из различных матриц за один цикл. Отмечено, что именно российские исследователи в 1986 г впервые в мире предложили использовать метод для разделения неорганических веществ с близкими свойствами. Обзор содержит краткую информацию об аппаратном оформлении метода ЖХСНФ и областях его применения. Приведены отдельные примеры использования метода в аналитической химии неорганических веществ (анализ особо чистых веществ, разделение редкоземельных элементов, радионуклидов, металлов платиновой группы, анализ нефти и технологических растворов). Показано, что метод ЖХСНФ весьма перспективен в анализе широкого спектра образцов и может стать надежным инструментом в арсенале химиков-аналитиков.

**Ключевые слова:** жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой, противоточная хроматография, вращающиеся спиральные колонки, разделение и концентрирование, РЗЭ (редкоземельные элементы), анализ нефти

**Благодарности:** работа выполнена в рамках госзадания ГЕОХИ РАН.

Посвящается памяти д.х.н., член-корр. РАН Бориса Яковлевича Спивакова.

**Для цитирования:** Марютина Т.А., Савонина Е.Ю. Жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой в неорганическом анализе // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 88-100. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12026>

Original article

### **Liquid chromatography with a free stationary phase in an inorganic analysis**

**Tatiana A. Maryutina<sup>✉</sup>, Elena Yu. Savonina**

Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, [tatiana@maryutina.ru](mailto:tatiana@maryutina.ru)<sup>✉</sup>

**Abstract.** Specific features and main milestones in the development and application of liquid chromatography with a free stationary phase (LCFSP) in an inorganic analysis were described. Under the action of an asymmetric field of forces occurring over the course of the planetary movement of the separation column, one of the phases of the two-phase liquid system was held in the column without a special carrier during continuous pumping of the second phase. The combination of the principles of liquid-liquid extraction and chromatography in the LCFSP method allowed concentrating, separating, and isolating target components from various matrices in one cycle. It was noted that in 1986 Russian researchers were the first in the world to suggest the method



for separating inorganic substances with similar properties. The brief overview contains information on the equipment required for LCFSP and areas of its application. We also provided examples of how the method can be used in analytical chemistry of inorganic substances (analysis of highly purified materials, separation of rare earth elements, radionuclides, and platinum group metals, analysis of oil and technological solutions). It was shown that LCFSP is a promising method for the analysis of a wide range of samples and can become a reliable tool for analytical chemists.

**Keywords:** liquid chromatography with a free stationary phase, counter-current chromatography, rotating coiled columns, separation and concentration, rare earth elements (REE), oil analysis.

**Acknowledgments:** the work was carried out within the framework of the state task of the Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences.

Dedicated to the memory of Boris Spivakov, DSc in Chemistry, Associate Member of the Russian Academy of Sciences.

**For citation:** Maryutina T.A., Savonina E.Yu. Liquid chromatography with a free stationary phase in an inorganic analysis. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 88-100. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12026>

## Введение

В конце 1960-х гг. американским ученым Ито [1] был предложен метод противоточной хроматографии (countercurrent chromatography, CCC) для разделения органических и биоорганических веществ в препаративных и полупрепаративных целях. В РФ данный метод известен под названием жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой (ЖХСНФ) поскольку, по сути, в разделительной колонке не наблюдается противоточного движения фаз. Напротив, в отличие от других хроматографических методов, в ЖХСНФ неподвижная фаза в разделительной колонке удерживается, не вытесняясь, в виде небольших фрагментов по всей длине колонки за счет планетарного вращения колонки, а не за счет твердого носителя или сорбента. Реализация метода осуществляется в планетарной центрифуге (рис. 1), обеспечивающей синхронное планетарное вращение разделительной колонки вокруг своей оси и вокруг центральной оси устройства (гидродинамический вариант), что позволяет добиться эффективного смешивания фаз хроматографической системы [2]. Разделительная колонка представляет собой тефлоновый или стальной капилляр с внутренним диаметром до 10 мм, спирально намотанный на жесткий цилиндрический сердечник. Одна из фаз двухфазной жидкостной системы (неподвиж-

ная фаза) может удерживаться во вращающейся спиральной колонке (ВСК) за счет воздействия поля массовых сил, возникающего в ней при вращении, при непрерывном прокачивании второй (подвижной) фазы [3]. Подробно теория метода описана в [2-4].

Аппаратурное оформление метода CCC весьма разнообразно и выбирается в зависимости от поставленных аналитических задач и варианта реализации метода. Подробно схемы реализации метода и соответствующее оборудование описаны в [2]. Что касается неорганического анализа методом ЖХСНФ, наибольшее распространение получила схема организации процесса, основанная на планетарном движении ВСК, обеспечивающим стабильное удерживание в ней неподвижной фазы и достаточно интенсивное перемешивание двух фаз, ускоряющее процесс распределения [1].

Наиболее удачным из предложенных устройств, обеспечивающих стабильное удерживание неподвижной фазы в колонке в поле сил, возникающих в ВСК при ее вращении, является планетарная центрифуга, особенности которой подробно описаны ранее [4]. В англоязычной литературе вариант CCC, реализованный в планетарной центрифуге, называют высокоскоростной противоточной хроматографией (high-speed CCC, HSCCC) [5].

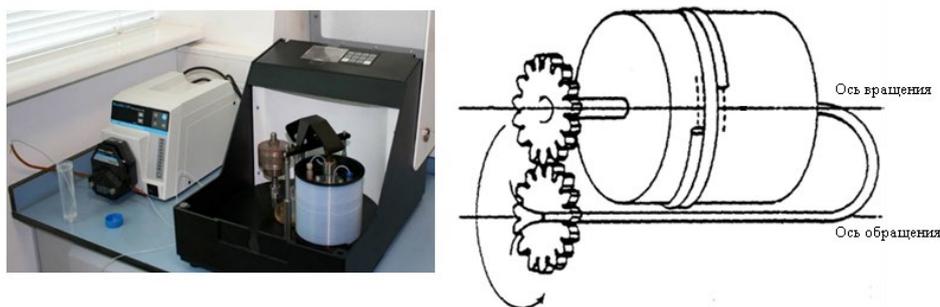


Рис. 1. Фотография планетарной центрифуги (слева) и схема вращения ВСК (справа).  
Fig. 1. Photograph of a planetary centrifuge (left) and RCC rotation diagram (right).



д.х.н., член-корр. РАН Борис Яковлевич Спиваков (1941-2022)

В нашей стране метод ЖХСНФ начал активно развиваться с 1986 г. в лаборатории концентрирования Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН (ГЕОХИ РАН) как способ разделения и концентрирования неорганических веществ. Академик Ю.А. Золотов (в то время заведующий лабораторией концентрирования) предложил исследовать принципиальную возможность использования метода ССС для разделения неорганических веществ в рамках кандидатской диссертации Т.А. Марютиной под руководством Б.Я. Спивакова. Тогда же и появилось более корректное с нашей точки зрения название метода – ЖХСНФ, которое используется в русскоязычной литературе. При этом термин ССС употребляется во всех зарубежных изданиях [6].

Таким образом, под руководством Б.Я. Спивакова было положено начало многолетних пионерских исследований в области применения метода ЖХСНФ для раз-

деления неорганических веществ с близкими свойствами с применением двухфазных жидкостных систем сложного состава (экстрагент в органическом растворителе – водный раствор соли, кислоты или комплексообразующего реагента) [7, 8]. Результаты совместных работ лабораторий концентрирования (Б.Я. Спиваков и Т.А. Марютина) и радиохимии ГЕОХИ (Б.Ф. Мясоедов, М.К. Чмутова) позволили впервые в мировой практике предложить использование метода ЖХСНФ для решения радиохимических задач [9].

Институт аналитического приборостроения РАН (ИАП РАН, С-Петербург) стал основной площадкой в РФ, на которой было сконструировано несколько поколений аналитических планетарных центрифуг с различной организацией планетарного вращения ВСК [10]. Совместно с научной группой Б.Я. Спивакова и Т.А. Марютиной в начале двухтысячных годов в ИАП РАН был разработан экспериментальный вариант проточного



хроматографа с вращающейся спиральной колонкой и спектрофотометрическим детектором.

Детектирование в методе ЖХСНФ может осуществляться двумя способами:

- в режиме off-line путем последовательного отбора фракций элюата на выходе из ВСК и последующего анализа отобранных фракций подходящим методом анализа (в зависимости от поставленной задачи и определяемых компонентов)

- в режиме on-line при подключении ВСК к проточному детектору.

В 2009 году по инициативе отделения аналитической химии ИЮПАК (Международный союз теоретической и прикладной химии, англ. International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) нами при участии коллег из Франции (Berthod A.) и Великобритании (Sutherland I.A.) впервые была разработана и опубликована номенклатура и терминология метода ССС [5], позднее переработанная и включенная в главу по методам разделения Оранжевой книги ИЮПАК (Orange Book, сборник аналитической номенклатуры) [11].

В период 1986-2023 годы в ГЕОХИ РАН были разработаны теоретические основы и апробированы варианты практического приложения метода ЖХСНФ в неорганическом анализе, защищено 8 кандидатских и 2 докторских (Т.А. Марютина и П.С. Федотов) диссертации.

### **Достоинства и недостатки метода ЖХСНФ**

Метод ЖХСНФ удачно сочетает в себе достоинства двух наиболее часто используемых для неорганического анализа способов концентрирования и разделения веществ - жидкость-жидкостной экстракции и хроматографии. Именно это и определяет его особенность и обеспечивает следующие возможности:

1) исключение потерь разделяемых веществ за счет взаимодействия с сорбентами;

2) разнообразие используемых двухфазных жидкостных систем (в том числе и водно-полимерных);

3) возможность динамического перемешивания двух фаз внутри колонки, облегчающего массообмен;

4) легкость перехода от одной двухфазной системы к другой;

5) отсутствие проблем заполнения и регенерации колонок;

6) возможность организации различных вариантов элюирования веществ из неподвижной фазы (ступенчатое и/или градиентное);

7) возможность создания градиента концентрации реагента в неподвижной фазе при вращении колонки;

8) возможность изменения объема разделяемых проб от 0,1 до 1000 мл и более.

Метод ЖХСНФ по сравнению с методом ВЭЖХ не позволяет добиться столь высокой эффективности (тысячи теоретических тарелок), но при этом обладает и неоспоримыми преимуществами:

- широкий спектр исследуемых образцов – от сложных и вязких матриц (например, сырая нефть) до особо чистых веществ;

- возможность выделения ультрамалых количеств за счет процесса многоступенчатой экстракции в закрытой системе (тефлоновой колонке).

Успех хроматографического разделения в методе ЖХСНФ во многом зависит от правильности выбора двухфазной жидкостной системы. Основными требованиями к системам являются:

- фазы системы не должны смешиваться между собой;

- неподвижная фаза должна стабильно удерживаться в ВСК;

- система должна обеспечивать коэффициент распределения аналита(ов) достаточный для эффективного разделения.

Ни один другой метод жидкостной хроматографии не может обеспечивать такой высокой емкости разделительной

колонки как ЖХСНФ – объем неподвижной фазы, удерживаемой в колонке, может значительно меняться и достигать более 90% от общего объема колонки. Высокие факторы удерживания неподвижной фазы в колонке дают возможность концентрировать целевые элементы из анализируемого раствора в неподвижную фазу (в большинстве случаев органическую). Из органической фазы сконцентрированные компоненты в дальнейшем элюируются в водную фазу (в ступенчатом и/или градиентном режиме).

Подробно критерии выбора двухфазных жидкостных систем описаны в [4].

### **Области применения ЖХСНФ в неорганическом анализе**

ЖХСНФ необходимо рассматривать как метод, дополняющий классические варианты жидкостной хроматографии, при этом занимающий отдельное место в области неорганического анализа. Среди основных направлений применения метода ЖХСНФ можно выделить следующие:

1. Определение следовых количеств элементов в сложных многокомпонентных растворах. За счет подбора состава фаз системы возможно варьировать значения коэффициентов распределения целевых компонентов, что позволяет концентрировать анализируемые элементы в неподвижной фазе при одновременном сбросе матричных элементов с потоком подвижной фазы. В данном случае метод ЖХСНФ можно рассматривать как эффективный и надежный способ подготовки пробы перед инструментальным определением элементов. В случае концентрирования для определения микропримесей используемая двухфазная система должна обеспечивать количественную реэкстракцию элементов для их последующего определения в водной фазе. Необходимо отметить гибкость применяемого подхода к комбинации хроматогра-

фического разделения с различными способами детектирования (масс-спектрометрией, УФ-спектроскопией и др.).

2. Очистка растворов реагентов и препаративное получение высокочистых веществ. Особенности реализации ЖХСНФ в ВСК позволяют свести к минимуму возможность загрязнения анализируемого раствора из внешних источников (сорбент, материал мембраны, материалы колонки и подводящих путей, растворы применяемых реагентов) – очищаемый или анализируемый раствор контактирует только с фторопластом одним из наиболее инертных из известных материалов.

3. Разделение и концентрирование веществ с близкими свойствами (радионуклиды, редкоземельные элементы). Применение ЖХСНФ в радиохимии является альтернативой использованию многоступенчатого экстракционного процесса разделения в лабораторных условиях.

Особенно интересно использование ЖХСНФ для выделения и концентрирования элементов (в том числе редкоземельных) из нефти и нефтепродуктов. Пожалуй, ЖХСНФ является единственным хроматографическим методом, позволяющим концентрировать микроэлементы из нефтяной фракции (подвижной фазы) в объем водной фазы (неподвижной), удерживаемой в колонке.

В отличие от традиционных хроматографических методов, метод ЖХСНФ позволяет организовать градиент концентрации экстрагента в неподвижной фазе за счет перемешивания внутри ВСК порций растворителя и раствора экстрагента в растворителе. Данная особенность метода открывает новые горизонты его использования.

Следует отметить, что все вышеперечисленные области применения метода ЖХСНФ были предложены в лаборатории концентрирования ГЕОХИ РАН. Ниже будут приведены некоторые при-



меры использования ЖХСНФ для выделения и разделения неорганических компонентов из различных матриц.

Анализ особо чистых веществ. Метод ЖХСНФ впервые был предложен для анализа высокочистых веществ. Для компании Merck (Германия) была разработана методика группового выделения микропримесей редкоземельных элементов (РЗЭ) и показана возможность группового выделения и концентрирования переходных и послепереходных элементов в высокочистом хлориде кальция методом ЖХСНФ. Было показано [12], что применение смесей групповых реагентов гексаметилендитиокарбамина гексаметиленаммония (ГМДТК ГМА), 8 оксихинолина и краун-эфиров, позволяет очищать растворы высокочистых неорганических солей ( $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{F}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) от примесей K, Fe, Cu, Zn, Co, Cd, Ni, Al, Mn и других элементов.

В качестве экстракционной системы при выделении группы РЗЭ из высокочистого  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  использована система 0.5 М раствор дифенил-(диалкилкарбамоилметил)фосфин оксида (КМФО) в хлороформе – смесь 3 М  $\text{HNO}_3$  и 0.1 М  $\text{HClO}_4$  [13]. С применением системы  $5 \cdot 10^{-2}$  М дигексилдитиофосфат тетрабутиламмония (ДГДТФ ТБА)-хлороформ – 3 М  $\text{HNO}_3$  удается количественно извлекать Zn, Cd, Cu, Pb, Ni, In, Tl из 5%-ного раствора  $\text{CaCl}_2$  [14].

Интересен пример применения метода ЖХСНФ для концентрирования и извлечения урана и тория из раствора античного (сверхчистого) свинца в системе 0.01 М раствор тетрафенилметиленидифосфиноксида (ДФО) в хлороформе – 1 М  $\text{HNO}_3$ . Для реэкстракции элементов использовали 0.01 М раствор этидроновой кислоты [15, 16]. Концентрирование урана и тория для последующего определения методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) позволило на 2-3 порядка снизить пределы обнаружения (по сравнению с прямым инструментальным определением) и

достичь уровня  $10^{-10}\%$  масс. при определении этих элементов в образце античного свинца.

Разделение и концентрирование веществ с близкими свойствами. Первые работы, посвященные разделению веществ с близкими свойствами, касались разделения радиоактивных кальция и стронция [6]. Как уже упоминалось выше, метод ЖХСНФ позволил решить многие радиохимические задачи, связанные с разделением радионуклидов. В качестве органической фазы двухфазных жидкостных систем использовали фосфорорганические и азотсодержащие органические соединения, например градиент концентрации три-*n*-трибутилфосфата (ТБФ) в уайт-спирите использован для хроматографического разделения U(VI) и Pu(IV) [17], а N,N'-диметил-N,N''-диоктилгексилэтоксималонамид (ДМДОГЭМА) в додекане – для разделения Am, U, Pu [18] в органическом экстракте ядерного топлива. В качестве подвижной фазы в обоих случаях использовали растворы азотной кислоты.

Известна работа, посвященная отделению радионуклида (Am) от РЗЭ [19] методом ЖХСНФ. Проблема отделения трансплутониевых трехвалентных элементов от лантаноидов обусловлена сходством их химического поведения. Двухфазная система на основе 5,8-диэтил-7-гидроксидодекан-6-оноксима (LIX 63) в гексане использована для отделения следовых концентраций Am от макрокonzентраций ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) лантаноидов.

Разделение РЗЭ наиболее распространенная область применения ЖХСНФ в неорганическом анализе. Для успешного разделения РЗЭ часто используют хроматографические системы на основе кислых фосфорорганических соединений, обладающих селективностью к РЗЭ: ди-2-этилгексилфосфорная кислота (Д2ЭГФК) [20], моно-2-этилгексилфосфовая кислота [21, 22], а также органические реагенты другой природы [4]. Впервые было

Таблица 1. Сравнительные результаты определения элементов (мкг/г) в Тенгизской нефти с использованием различных способов пробоподготовки [26].

Table 1. Comparative results of determination of elements ( $\mu\text{g/t}$ ) in Tengiz oil using various sample preparation methods [26].

Изотоп/элемент	Автоклавное разложение*	Озоление (пробоподготовка по UOP 391-91)**	ВСК**
$^{27}\text{Al}$	< ПО	0.08	$3.2 \pm 0.6$
$^{51}\text{V}$	$0.06 \pm 0.01$	0.03	$0.04 \pm 0.01$
$^{53}\text{Cr}$	$0.69 \pm 0.14$	0.003	$0.06 \pm 0.01$
$^{58}\text{Fe}$	< ПО	0.007	$0.017 \pm 0.003$
$^{59}\text{Co}$	$0.006 \pm 0.01$	0.004	$0.014 \pm 0.003$
$^{60}\text{Ni}$	< ПО	0.004	$0.014 \pm 0.003$
$^{63}\text{Cu}$	< ПО	0.007	$1.3 \pm 0.3$
$^{66}\text{Zn}$	$0.14 \pm 0.03$	0.09	$7.5 \pm 1.5$
$^{208}\text{Pb}$	$0.08 \pm 0.02$	0.04	$2.4 \pm 0.5$
Время анализа	~6 ч	6-20 ч	~30 мин

\*масса пробы нефти 0.5 г; \*\* объем пробы нефти 52 см<sup>3</sup>

предложено использовать водные растворы неорганических кислот для концентрирования РЗЭ, однако подвижной фазой в этом случае являлась органическая (нефть) [23].

Определение следовых количеств элементов в сложных многокомпонентных растворах.

Анализ нефти и нефтепродуктов. В 2009 году впервые было предложено использовать метод ЖХСНФ в качестве способа пробоподготовки для анализа нефти с целью определения ее элементного состава, включая микроэлементы [24]. Была показана возможность концентрирования и выделения ряда металлов (Al, V, Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb) из легких нефтей и дизельного топлива [25]. В данном случае нефть выступает в качестве подвижной фазы, в то время как разбавленные растворы неорганических кислот – неподвижной. Концентрирование элементов достигается за счет возможности прокачивания неограниченного объема нефти через фиксированный объем экстрагента (неподвижной фазы). Проведенное сравнение результатов содержания элементов в подготовленной Тенгизской нефти (табл. 1), полученных с применением различных способов пробоподготовки (автоклавное разложение, озоление

и концентрирование с применением ВСК), показало, что при использовании концентрирования микропримесей в ВСК во многих случаях были получены более высокие содержания определяемых элементов, что важно при определении «каталитических ядов» (Ni, W, Sn, Co и др.). В качестве неподвижной фазы использовали 0.5 М HNO<sub>3</sub> [26]. Необходимо отметить разницу в условиях пробоподготовки:

- при автоклавном разложении градиентный нагрев (1 ч – 160°C, 1 ч – 180°C, 2 ч – 200°C) с 10 мл HNO<sub>3</sub> (конц);

- озоление при 540°C после предварительного разложения образца в H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (конц.)

- концентрирование в ВСК при 25°C

Известно, что основная часть микроэлементов в нефти присутствует в виде комплексов в ее смолисто-асфальтеновой фракции. При этом определение микроэлементов, содержащихся в значительных концентрациях (до 10<sup>-3</sup>% масс.) не составляет труда, в то время как для определения микроэлементов (в том числе РЗЭ), содержащихся в нефтях в концентрациях до 10<sup>-9</sup>% масс., необходимо предварительное концентрирование. Так, в ряде работ по определению РЗЭ в нефтях



проводили анализ лишь их смолисто-асфальтеновой фракции как концентрата РЗЭ, предварительно выделенной из исследуемой нефти [27].

РЗЭ могут находиться в нефти как в виде водорастворимых солей, так и в составе солей органических кислот (нафтеновых, жирных, асфальтогеновых) и комплексных соединений (чаще всего порфиринаты). Вытяжку растворами разбавленных кислот обычно используют для выделения подвижных форм элементов, к которым, в частности, относятся водорастворимые соли. Авторы [23] предполагают, что с помощью водного раствора 0.5 М  $\text{HNO}_3$  из нефти происходит выделение элементов, находящихся в виде кислоторастворимых солей.

В лаборатории концентрирования РАН предложен новый комбинированный способ пробоподготовки сырой нефти, в том числе тяжелой, для определения содержания металлов [23, 28]. Способ заключается в сочетании двух вариантов пробоподготовки. Для определения элементов, содержащихся в нефтях в значительных количествах (до  $10^{-3}\%$ ) – V, Ni, Fe, Ca, Al и др. используют автоклавное разложение образца нефти, а для концентрирования микроэлементов (в т.ч. РЗЭ) применяют метод ЖХСНФ. Детектирование образцов можно проводить любым инструментальным методом анализа.

Возможность концентрирования микроэлементов из нефти методом ЖХСНФ позволяет снять ограничение по чувствительности современных методов анализа при определении РЗЭ. Объем анализируемого раствора нефти, прокачиваемого через ВСК, зависит от концентрации присутствующих в ней микроэлементов и от значений коэффициентов распределения элементов в системе нефть – водный раствор кислоты. Чем больше объем нефти, прокачиваемый через колонку, тем больше значение фактора концентрирования элементов в водном растворе кислоты. В отличие от пробоподготовки с

применением автоклавного разложения, использование приема концентрирования делает возможным определение элементов, присутствующих в нефтях в концентрациях ниже предела обнаружения метода анализа.

Метод был апробирован при анализе проб нефтей и нефтепродуктов, отличающихся по своим физико-химическим свойствам [23, 28, 29].

Разделение металлов платиновой группы в различных матрицах. Известно, что металлы платиновой группы обладают очень близкими коэффициентами распределения ( $D$ ). В хроматографии для улучшения эффективности разделения элементов с близкими значениями  $D$  используют градиентное элюирование. Впервые было показано [30], что специфика реализации метода ЖХСНФ позволяет изменять значения  $D$  разделяемых компонентов во время процесса разделения за счет создания градиента концентрации реагента в неподвижной фазе. Градиент концентрации реагента в неподвижной фазе достигается в результате возможности удерживания внутри ВСК отдельных порций растворителя (неподвижной фазы) и реагента, с их последующим перемешиванием в ходе эксперимента. При этом колонку последовательно заполняют несколькими порциями: растворитель – раствор реагента в растворителе определенной концентрации – растворитель – раствор реагента другой концентрации (или другого реагента) – растворитель. При вращении колонки и прокачивания через нее подвижной фазы органические сегменты в колонке начинают перемешиваться. При этом скорость перемешивания сегментов зависит от типа растворителя и рабочих параметров вращения колонки. При подборе оптимальных параметров градиент концентрации реагента в неподвижной фазе сохраняется в течение нескольких часов работы ВСК.

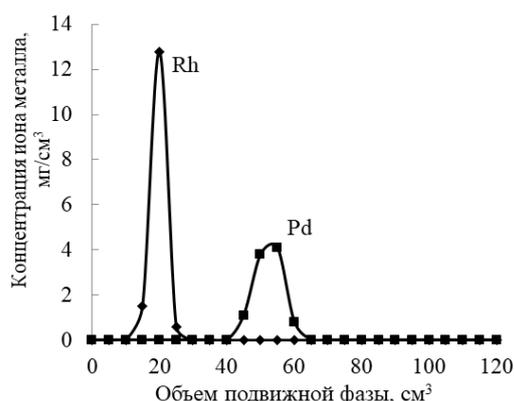


Рис. 2. Разделение Rh и Pd при создании градиента концентрации МТАА в неподвижной фазе системы 0.07 МТАА в толуоле – 6 М HCl – толуол – 1 М HCl. Объем вводимой пробы 10 см<sup>3</sup>,  $\omega=600$  об/мин,  $F - 0.5$  см<sup>3</sup>/мин [30].

Fig. 2. Separation of Rh and Pd when creating a concentration gradient of МТАА in the stationary phase of the 0.07 МТАА system in toluene – 6 М HCl – toluene – 1 М HCl.

Следует отметить, что ни один другой динамический метод разделения не позволяет формировать градиент концентрации реагента в неподвижной органической фазе в ходе процесса разделения.

На примере модельных растворов Pd(II) и Rh(III) в 6 М HCl впервые был продемонстрирован эффективный способ разделения данных металлов методом ЖХСНФ за счет создания градиента концентрации реагента в неподвижной фазе [30]. Рис. 2 иллюстрирует возможность полного разделения родия и палладия в ВСК с применением градиента реагента в неподвижной фазе в системе 0.7 М метилтриалкиламмоний хлорид (МТАА) в толуоле – 6 М HCl-толуол.

Экспериментальные исследования позволили предложить два принципиально разных способа экстракционного разделения платины(IV) и палладия(II) из технологических хлоридных растворов [31]:

1. за счет изменения состава подвижной фазы (элюента);
2. за счет создания градиента концентрации экстрагента в неподвижной фазе.

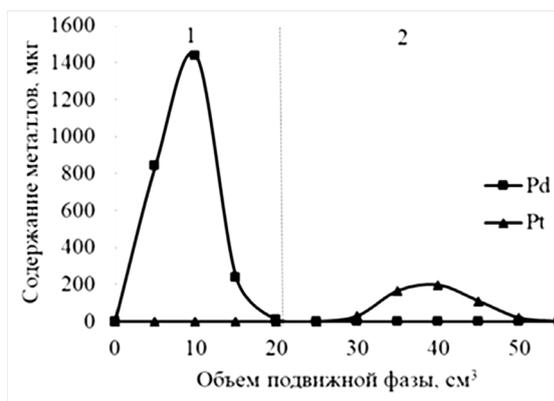


Рис. 3. Разделение Pt(IV) и Pd(II) в ВСК при ступенчатом элюировании [31].

Исходный раствор: 10 см<sup>3</sup> 1 М HCl + 30 г/дм<sup>3</sup> Cl<sup>-</sup>, [Pd]<sub>исх</sub> = 250 мкг/см<sup>3</sup>, [Pt]<sub>исх</sub> = 50 мкг/см<sup>3</sup>. Состав неподвижной фазы: 0.05 М МТАА в толуоле. Состав подвижной фазы: 1 – 20 см<sup>3</sup> 1 М HCl + 30 г/дм<sup>3</sup> Cl<sup>-</sup>, 2 – 25 см<sup>3</sup> 1 М NH<sub>2</sub>CSNH<sub>2</sub> в 0.5 М HCl.

Fig. 3. Separation of Pt(IV) and Pd(II) in RCC by stepwise elution [31].

За счет создания градиента концентрации реагента в неподвижной фазе можно добиться извлечения платины и палладия из колонки отдельными хорошо разрешенными пиками без взаимных примесей в индивидуальных фракциях. Уменьшение концентрации МТАА в органической фазе приводит к изменению коэффициентов распределения палладия от 110 до 0.014 при практически неизменных коэффициентах распределения платины в процессе экстракции, что делает возможным реэкстрагировать палладий(II) без использования комплексообразующих реагентов – он вымывается из колонки на стадии концентрирования платины. Платина элюируется из колонки при пропуске через нее раствора тиомочевин (рис. 3).

Для разделения и извлечения платины и палладия из технологических хлоридных растворов методом ЖХСНФ впервые было предложено также использовать водные двухфазные системы на основе водорастворимых полимеров, относящиеся к так называемой «зеленой химии». По сравнению с системами экс

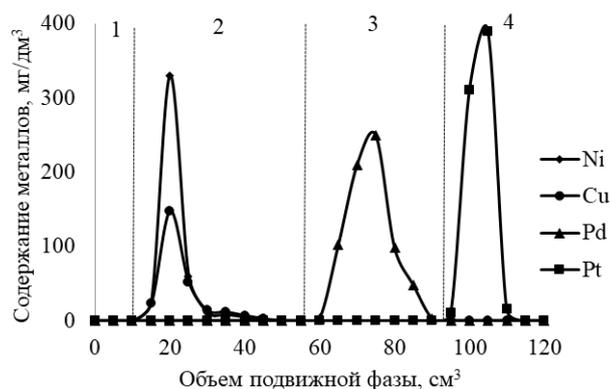


Рис. 4. Отделение Pt(IV) и Pd(II) от Cu(II) и Ni(II) во вращающейся спиральной колонке [32].  
Водная двухфазная система: (20% масс ПЭГ-1500 – 20% масс  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в  $(0.1 \text{ M HCl} + 50 \text{ г/дм}^3 \text{ NaCl})$ ). 1 – Модельный раствор в  $(0.1 \text{ M HCl} + 50 \text{ г/дм}^3 \text{ NaCl})$ , Металлы (мг/дм<sup>3</sup>): 738 Pd(II), 720 Pt(IV), 507 Cu(II), 342 Ni(II); 2 – 20% масс  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в  $(0.1 \text{ M HCl} + 50 \text{ г/дм}^3 \text{ NaCl})$ ; 3 – 28% масс  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH=5; 4 – 20% масс  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH = 9.

Fig. 4. Separation of Pt(IV) and Pd(II) from Cu(II) and Ni(II) in a rotating coiled column [32].

тракции растворителем водные двухфазные системы более привлекательны с точки зрения охраны окружающей среды и устойчивого развития. Фазообразующие компоненты этих систем являются водорастворимыми, биосовместимыми, нетоксичными и негорючими веществами, практически не имеющими запаха. Предложен простой и эффективный способ извлечения и разделения палладия и платины из технологических растворов с использованием водно-полимерных систем на основе ПЭГ-1500 и  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в отсутствие каких-либо вспомогательных компонентов [32].

Содержание металлов до и после экстракции определяли методом МС-ИСП.

Использование системы на основе ПЭГ позволяет выделить из анализируемого многокомпонентного раствора макроэлементы (Cu и Ni), которые не переходят в полимерную фазу и могут быть вымыты из колонки вместе с фазообразующим раствором соли, в то время как Pt(IV) и Pd(II) полностью переходят в обогащенную полимером фазу, удерживаемую в ВСК в качестве неподвижной фазы. Разделение экстрагированных платины и палладия может быть достигнуто путем последовательного пропускания

через ВСК соответствующих экстрагирующих растворов: 28 мас.%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  при pH=5 для Pd и 20 мас. %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  при pH=9 для Pt (рис. 4). Степень извлечения для Pd(II) составила 100%, для Pt(IV) – 97.2%. Чистота выделенных фракций целевых металлов составила  $\geq 99.9\%$ .

### Заключение

Таким образом, ЖХСНФ является уникальным методом разделения, выделения и концентрирования элементов, в том числе с близкими свойствами, из разнообразных объектов от природных образцов до технологических растворов и сверхчистых веществ благодаря сочетанию характерных особенностей экстракционной хроматографии и многоступенчатой экстракции при проведении процессов разделения и концентрирования в закрытой системе (тефлоновой спиральной колонке).

Необходимо отметить, что метод ЖХСНФ активно развивался в РФ в начале тысячелетия в непростой экономической обстановке и в настоящее время является крайне недооценённым. Метод ЖХСНФ позволяет в лабораторных условиях осуществлять процесс многоступенчатой экстракции и, учитывая развитие российского приборного парка,



может стать надежным инструментом в арсенале химиков, занимающихся анализом практически любых образцов (от объектов окружающей среды и природных ископаемых до особо чистых веществ, пищевых и лекарственных продуктов) на содержание неорганических веществ в следовых и ультранизких концентрациях.

### Список литературы/References

1. Ito Y., Bowman R.L. Countercurrent Chromatography: Liquid-Liquid Partition Chromatography without Solid Support, *Science*, 1970; 167: 281-283.
2. Ito Y. Recent advances in counter-current chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 1991; 538: 3-25.
3. Conway W.D. Counter-current chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 1991; 538: 27-35.
4. Rudenko B.A. 100 let chromatographii. M. Nauka Publ., 2003, 739 p. (In Russ.)
5. Berthod A., Maryutina T., Spivakov B., Shpigun O., Sutherland I. Countercurrent chromatography in analytical chemistry (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 2009; 81(2): 355-387.
6. Pavlenko I.V., Bashlov V.L., Spivakov B.YA., Zolotov YU.A. Zhidkost'-zhidkostnaya khromatografiya so svobodnoy nepodvizhnoy fazoy (khromatograficheskaya ekstraktsiya) v neorganicheskom analize. Obzor literatury i eksperimental'naya proverka. *Zhurn. analit. khimii*, 1989; 44(5): 827-833. (In Russ.)
7. Zolotov Yu.A., Spivakov B.Ya., Maryutina T.A., Bashlov V.L., Pavlenko I.V. Partition countercurrent chromatography in inorganic analysis, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1989; 335(8): 938-944.
8. Maryutina T.A., Fedotov P.S., Spivakov B.Ya. Application of Countercurrent Chromatography in Inorganic Analysis. Countercurrent Chromatography. Eds. Menet J.-M., Thiébaud D. Chromatographic Science Series. New York, Marcel Dekker Inc., 1999, Vol. 82. Ch. 6. 171-221.

### 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.

9. Chmutova M.K., Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Myasoedov B.F. Razdelenie ameritsiya (III) i evropiya (III) v sistemakh s neytral'nymi bidentantnymi fosfororganicheskimim ehkstragentami metodom zhidkostnoj khromatografii so svobodnoj nepodvizhnoj fazoj, *Radiokhimiya*, 1992; 34(6): 56-63. (In Russ.)
10. Knayz'kov N.N., Maryutina T.A. Planetarnayz tcentrifuga dlya metodom zhidkostnoj khromatografii so svobodnoj nepodvizhnoj fazoj, *Nauchnoe priborostroenie*, 2003; 13(3): 52-55. (In Russ.)
11. Maryutina T.A., Savonina E.Yu., Fedotov P.S., Smith R.M., Siren H., Hibbert D.B. Terminology of separation methods (IUPAC recommendations 2017), *Pure Appl. Chem.*, 2018, 90(1): 181-231.
12. Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Tschopel P. Application of countercurrent chromatography to the purification of chemical reagents, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1996; 356: 430-434.
13. Ignatova S.N., Maryutina T.A., Spivakov B.Ya., Karandashev V.K. Group separation of trace rare-earth elements by countercurrent chromatography for their determination in high-purity calcium chloride, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2001; 370: 1109-1113.
14. Spivakov B.Ya., Maryutina T.A., Fedotov P.S., Ignatova S.N., Katasonova O.N., Dahmen J., Wennrich R. Separation of substances in rotating coiled columns: from trace elements to microparticles, *J. Anal. Chem.*, 2002; 57(10): 928-934.
15. Fedyunina N.N., Fedotov P.S., Filosofov D.V., Yakushev E.A. Opredele niye ul'tranizkikh soderzhaniy urana i toriya



- v antichnom svintse metodom mass-spektrometrii s induktivno-svyazannoy plazmoy posle ikh vydeleniya metodom zhidkostnoy khromatografii so svobodnoy nepodvizhnoy fazoy, *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov*, 2018; 84(4): 12-15. (In Russ.)
16. Fedotov P.S., Fedyunina N.N., Filosofov D.V., Yakushev E.A., Warot G. A novel combined countercurrent chromatography – inductively coupled plasma mass spectrometry method for the determination of ultra trace uranium and thorium in Roman lead. *Talanta*. 2019; 192: 395-399. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.071>
17. Litvina M.N., Malikov D.A., Maryutina T.A., Kulyako Yu.M., Myasoedov B.F. Separation of U and Pu by countercurrent chromatography with support-free liquid stationary phase in the TBP-White spirit-nitric acid system, *Radiochemistry*, 2006; 48(3): 284-287. <https://doi.org/10.1134/S1066362206030143>
18. Litvina M.N., Malikov D.A., Maryutina T.A., Kulyako Yu.M., Myasoedov B.F. Separation of U, Pu and Am recovered from mixed oxide (MOX) fuel by countercurrent chromatography, *Radiochemistry*, 2007; 49(2): 162-165. <https://doi.org/10.1134/S1066362207020117>
19. Hoshi H., Tsuyoshi A., Akiba K. High-speed countercurrent chromatography for separation of americium from lanthanides, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2001; 249(3): 547-550.
20. Kitazume E., Bhatnagar M., Ito Y. Separation of rare earth elements by high-speed counter-current chromatography, *J. Chromatography A.*, 1991; 538: 133-140.
21. Nakamura Sh., Hashimoto H., Akiba K. Enrichment separation of rare earth elements by high-speed countercurrent chromatography in a multilayer coiled column, *J. Chromatogr. A.*, 1997; 789: 381-387.
22. Tsuyoshi A., Ogawa H., Akiba K., Hoshi H., Kitazume E. High-speed counter-current chromatography using a small coiled column, *J. Liq. Chrom. Rel. Tech.*, 2000; 23(13): 1995-2008. <https://doi.org/10.1081/JLC-100100468>
23. Maryutina T.A., Savonina E.Y., Katsasonova O.N. A combined method of sample preparation for the determination of the element composition of oils, *J. Anal. Chem*, 2016; 71(11): 1126-1130. <https://doi.org/10.1134/S1061934816110101>
24. Maryutina T.A., Soin A.V., Katsasonova O.N. Counter-current chromatography for oil analysis: retention features and kinetic effects, *J. Chromatogr. A.*, 2009; 1216(19): 4232-4236. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.01.080>
25. Maryutina T.A., Soin A.V. Novel Approach to the Elemental Analysis of Crude and Diesel Oil, *Anal. Chem.*, 2009; 81(14): 5896-5901. <https://doi.org/10.1021/ac900615t>
26. Soin A.V., Maryutina T.A., Arbuzova T.V., Spivakov B.Ya. Sample preparation in the determination of metals in oil and petroleum products by ICP MS, *J. Anal. Chem*, 2010; 65(6): 571-576. <https://doi.org/10.1134/S1061934810060043>
27. Gottikh R.P., Vinokurov S.F., Pitsotskii B.I. Rare-earth elements as geochemical criteria of endogenous sources of microelements contained in oil, *Dokl. Earth Sci.*, 2009; 425(1): 325-329. <https://doi.org/10.1134/S1028334X09020342>
- <sup>28</sup> Savonina E.Yu., Maryutina T.A., Katsasonova O.N. Determination of microelements in oil by combined sample preparation technique, *Inorg. Mater.*, 2017; 53(14): 1448-1453. <https://doi.org/10.1134/S0020168517140151>
29. Savonina E.Yu., Katsasonova O.N., Maryutina T.A. Extraction concentration of the acid-soluble forms of rare earth elements from oils of the Volga-Ural petroleum province using rotating coiled columns, *Inorg. Mater.*, 2022; 58(14): 1479-1483. <https://doi.org/10.1134/S0020168522140126>
30. Maryutina T.A. Use of reagent concentration gradient in the stationary phase for the separation of palladium(II) and rhodium(III) by countercurrent chromatography, *J. Anal. Chem*, 2009; 64(3): 295-298. <https://doi.org/10.1134/S1061934809030150>



31. Rudik I.S., Katasonova O.N., Maryutina T.A., Spivakov V.Ya. Sravnitel'nyy analiz razdeleniya platiny(IV) i palladiya(II) pri razlichnykh variantakh gradiyentnogo elyuirovaniya, *Analitika*, 2020; 10(3): 196-203. (In Russ.)

32. Mokhodoeva O., Rudik I., Shkinev V., Maryutina T. Countercurrent chromatography approach to palladium and platinum separation using aqueous biphasic system, *J. Chromatogr. A.*, 2021; 1657, 462581. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462581>

### **Информация об авторах / Information about the authors**

**Т.А. Марютина** – заведующий лабораторией концентрирования, д.х.н., Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

**Е.Ю. Савонина** – старший научный сотрудник лаборатории концентрирования, к.х.н., Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия

**T.A. Maryutina** – Head of the Concentration Laboratory, Doctor of Chemical Sciences, V.I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry RAS, Moscow, Russia, e-mail: [tatiana@maryutina.ru](mailto:tatiana@maryutina.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5591-2133>

**E.Yu. Savonina** – Senior researcher of the Concentration Laboratory, Ph.D. in chemistry, V.I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry RAS, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7570-4764>

*Статья поступила в редакцию 07.09.2023; одобрена после рецензирования 29.11.2023; принята к публикации 06.12.2023.*

*The article was submitted 07.09.2023; approved after reviewing 29.11.2023; accepted for publication 06.12.2023.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 66.081.32; 66.087.4

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12023

### Сорбция ионов двухвалентных металлов из водных растворов на активированном угле с его последующим электрофлотационным выделением

Алёна Дмитриевна Стоянова<sup>1✉</sup>, Анастасия Юрьевна Чечерина<sup>1</sup>,  
Арина Витальевна Иванова<sup>1</sup>, Анастасия Михайловна Гайдукова<sup>1</sup>,  
Татьяна Владимировна Конькова<sup>1</sup>, Виктор Михайлович Мухин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия, milyutina\_alena\_rhtu@mail.ru<sup>✉</sup>

<sup>2</sup>АО «ЭНПО «Неорганика», Электросталь, Россия

**Аннотация.** В настоящее время существует большое количество методов очистки сточных вод от ионов металлов. Одним из ведущих методов является сорбционный процесс. Преимуществом сорбционной очистки является возможность извлечения веществ из многокомпонентных смесей и высокая эффективность при небольших концентрациях загрязнений сточных вод.

Целью данной работы являлось исследование сорбционной способности активированного угля марки «ОУ-Б» по отношению к ионам металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ). Ставились следующие задачи: установление оптимальных параметров для проведения сорбции в статическом режиме, аппроксимация полученных данных линейными формами кинетических и адсорбционных уравнений, а также способность отделения частиц угля от водного раствора методом электрофлотации.

Для изучения закономерностей использовались следующие методы исследования: низкотемпературная адсорбция азота, атомно-абсорбционная спектроскопия, нефелометрия.

Экспериментально были установлены оптимальные параметры для проведения сорбции в статическом режиме (масса навески угля, время процесса, начальная концентрация ионов металлов). Максимальная степень извлечения ионов металлов в процессе сорбции достигалась при соотношении угля к водному раствору 1:133 за 60 минут процесса и равна 82% для  $\text{Cu}^{2+}$ , 73% для  $\text{Zn}^{2+}$  и 63% для  $\text{Mn}^{2+}$ .

Полученные результаты сорбции были проанализированы с помощью кинетических моделей Зельдовича-Чена-Клейтона, псевдопервого, псевдвторого порядков и адсорбционных моделей Ленгмюра, Фрейндлиха, Темкина, Дубинина-Радускевича, Флори-Хиггинса. Анализ показал, что сорбция  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  на угле ОУ-Б проходит по механизму физической адсорбции, которая описывается сорбционными моделями Ленгмюра, Фрейндлиха и кинетической моделью Зельдовича-Чена-Клейтона.

Непростой с технологической точки зрения задачей является разделение отработанных сорбентов и водной фазы вследствие малых размеров частиц угля. В статье показана перспективность применения электрофлотации для извлечения угля ОУ-Б из водных растворов: степень извлечения частиц угля достигала 97-99% при добавлении в раствор катионного или неионогенного ПАВ.

**Ключевые слова:** сорбция, активированный уголь, медь(II), цинк(II), марганец(II), электрофлотация, водные растворы.

**Для цитирования:** Стоянова А.Д., Чечерина А.Ю., Иванова А.В., Гайдукова А.М., Конькова Т.В., Мухин В.М. Сорбция ионов двухвалентных металлов из водных растворов на активированном угле с его последующим электрофлотационным выделением // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 101-110. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12023>



Original article

## Sorption of divalent metal ions from aqueous solutions on activated carbon with its further separation through electroflotation

Alyona D. Stoyanova<sup>1✉</sup>, Anastasia Yu. Checherina<sup>1</sup>, Arina V. Ivanova<sup>1</sup>,  
Anastasia M. Gaidukova<sup>1</sup>, Tatiana V. Konkova<sup>1</sup>, Viktor M. Mukhin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mendeleev Russian Chemical-Technological University, Department of Technology of Inorganic Substances and Electrochemical Processes, Moscow, Russia, milyutina\_alena\_rhtu@mail.ru<sup>✉</sup>

<sup>2</sup>ENPO “Neorganika”, Elektrostal, Russia

**Abstract.** Currently, there are multiple methods for wastewater treatment from metal ions. One of the leading methods is the sorption process. The advantage of sorption purification is its ability to extract substances from multi-component mixtures and its high efficiency with low concentrations of wastewater contamination.

The purpose of this work was to study the sorption capacity of the “OU-B” activated carbon in relation to metal ions ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ). The following tasks were set: establishing optimal parameters for sorption in a static mode, approximating the obtained data by linear forms of kinetic and adsorption equations, as well as obtaining the ability to separate coal particles from aqueous solutions by electroflotation.

To study the patterns, we used the following research methods: low-temperature nitrogen adsorption, atomic absorption spectrometry, and nephelometry.

The optimal parameters for sorption in a static mode (sample size of coal, process time, initial concentration of metal ions) were established experimentally. The maximum degree of extraction of metal ions in the course of sorption was achieved with a 1:133 ratio of coal to aqueous solution during 60 minutes and was 82% for  $\text{Cu}^{2+}$ , 73% for  $\text{Zn}^{2+}$ , and 63% for  $\text{Mn}^{2+}$ .

The obtained sorption results were analysed using the kinetic models of Zeldovich-Chen-Clayton of pseudo-first and pseudo-second order and adsorption models of Langmuir, Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich, and Flory-Huggins. The analysis showed that the sorption of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{Mn}^{2+}$  on OU-B carbon occurred according to the mechanism of physical adsorption, which was described by the sorption models of Langmuir and Freundlich and the Zeldovich-Chen-Clayton kinetic model.

The separation of used sorbents and the aqueous phase was a difficult task from a technological point of view due to the small size of carbon particles. The article showed the prospects of using electroflotation for extracting OU-B carbon from aqueous solutions: the degree of extraction of coal particles reached 97-99% when cationic or non-ionic SAS were added to the solution.

**Keywords:** sorption, activated carbon, copper(II), zinc(II), manganese(II), electroflotation, aqueous solutions.

**For citation:** Stoyanova A.D., Checherina A.Yu., Ivanova A.V., Gaidukova A.M., Konkova T.V., Mukhin V.M. Sorption of divalent metal ions from aqueous solutions on activated carbon with its further separation through electroflotation. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 101-110. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12023>

### Введение

Вода – основной источник жизни, который необходимо беречь ради будущего поколения. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения, более трех миллиардов человек всего населения Земли не будет иметь доступ к чистым источникам воды уже к 2025 году. Треть населения планеты на данный момент испытывает нехватку в водных ресурсах, и в дальнейшем такая тенденция будет только расти [1].

Согласно статистическим данным, именно гальваническая промышленность

считается основным источником образования сточных вод, которые содержат высокие концентрации таких элементов, как марганец, медь, цинк и другие металлы.

Среди известных способов очистки малоконцентрированных сточных вод, в том числе гальванических стоков, одним из перспективных методов является сорбция. Метод набирает все большую популярность вследствие высокой эффективности извлечения металлов и отсутствия дополнительных загрязнителей по сравнению с другими методами [2-7].



В настоящее время актуальной задачей является поиск эффективных активированных углей, обладающих высокой адсорбционной способностью по отношению к двухвалентным ионам металлов. Так в статье [8] были проведены исследования сорбционного извлечения  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  из водных растворов на активированном угле (ОАО «Ирбитский химфарм завод»), в течение 1 часа при соотношении угля к раствору 1:50. Однако степень извлечения ионов металлов не превышала 20%.

Исследования на активированном угле БАУ-А показали, что уголь очищает водные растворы от  $\text{Cu}^{2+}$  по механизму простой физической адсорбции, которая описывается уравнением Ленгмюра. Сорбционная способность БАУ-А увеличивалась от 0.9 до 2.5 мг/г при повышении pH в диапазоне 4-6.7 [9].

Непростой с технологической точки зрения задачей является разделение отработанных порошковых углей и водной фазы [10] вследствие того, что размеры частиц таких сорбентов достигают значений 5-10 мкм и их извлечение классическими методами (седиментация, фильтрация) затруднено. В качестве альтернативного метода для извлечения порошковых углей предложен метод электрофлотации [11].

В процессе электрофлотации происходит разделение твердой и жидкой фазы исследуемого раствора за счет образования флотокомплексов «частица загрязнения – пузырек газа  $\text{O}_2/\text{H}_2$ », которые всплывают на поверхность жидкости и образуют пенный слой [11].

Эффективность электрофлотационного метода очистки воды обусловлена тем, что он позволяет удалять из воды загрязнения, которые невозможно удалить другими методами, такими как фильтрация или коагуляция. Кроме того, данный метод является экологически безопасным, так как не требует использования химических реагентов, которые могут

негативно влиять на окружающую среду [12].

Ранее авторами [13] было изучено влияние флокулянтов на процесс электрофлотационного извлечения порошкового активированного угля ОУ-А. Было установлено, что наиболее эффективно частицы угля ОУ-А извлекаются в присутствии неионогенного флокулянта Superfloc N-300 ( $\alpha=91-94$  % в кислой, нейтральной и слабощелочной среде, в течение 10 мин).

Влияние концентраций поверхностно-активных веществ (ПАВ) и ионов двухвалентных металлов ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) на эффективность процесса электрофлотационного извлечения углеродного наноматериала было изучено в статье [14]. Исследования показали, что наиболее эффективно наноматериал извлекался в присутствии 100 мг/дм<sup>3</sup> ПАВ, 10 мг/дм<sup>3</sup>  $\text{Co}^{2+}$  или 100 мг/дм<sup>3</sup>  $\text{Ni}^{2+}$ .

На основании вышеописанных и ранее проведенных исследований, была поставлена цель исследовать сорбционную способность порошкового активированного угля по отношению к ионам металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) и возможность отделения частиц угля от водного раствора методом электрофлотации.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования был использован порошковый активированный уголь марки «ОУ-Б», предоставленный компанией АО «ЭНПО «Неорганика» (г. Электросталь, ГОСТ 4453–74).

Для определения текстурных характеристик сорбента, проводили предварительную активацию навески угля ОУ-Б при 200°C и остаточном давлении 10<sup>-3</sup> мм рт. ст. в течение 4 ч. Далее измеряли изотермы адсорбции-десорбции азота на объемнометрической установке Nova 1200e (Quantachrome) при температуре 77 К. Удельную поверхность ( $S_{уд}$ ) образцов рассчитывали методом Брунауэра-Эммета-Теллера (БЭТ), объем микропор ( $V_{\text{микро}}$ ) – по уравнению Дубинина-

Радушкевича (ДР). Суммарный сорбционный объем мезо- и микропор  $V_{\Sigma}$  определяли по изотерме адсорбции азота при значении относительного давления, равном 0.95, средний диаметр мезопор ( $D_{\text{мезо}}$ ) – методом Баррета-Джойнера-Халеды (БДХ) по десорбционной ветви изотермы [15].

Для проведения сорбционных исследований в статических условиях готовились модельные водные растворы, содержащие ионы двухвалентных металлов ( $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) концентрацией 10-500 мг/дм<sup>3</sup>. Для приготовления растворов использовались реактивы  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{MnCl}_2$  марок «чда». В качестве растворителя использовалась дистиллированная вода.

В каждом эксперименте объем модельного раствора составлял 40 см<sup>3</sup>, pH среды доводили до значения 3-3.5 с помощью 1 М раствора HCl с использованием магнитной мешалки (20±2°C). Точность значений контролировали иономером И-160 МИ. При постоянном перемешивании (160 об/мин) добавляли рассчитанную навеску активированного угля (0.1-0.5 г) и осуществляли контакт фаз в течение 5-105 минут в зависимости от эксперимента. По истечению времени сорбционного процесса брали пробу, отфильтровывали на бумажном фильтре марки «Синяя лента» и отправляли на анализ.

Определение концентрации ионов металлов растворах проводилось на атомно-абсорбционном спектрометре КВАНТ-АФА в Центре коллективного пользования им. Д.И. Менделеева.

Величину адсорбции ионов металлов  $q$  (мг/г) рассчитывали по формуле:

$$q = \frac{(C_0 - C_1) \cdot V}{m},$$

эффективность извлечения ионов металлов из водных растворов оценивали степенью извлечения  $\alpha$  по формуле:

$$\alpha = \frac{(C_0 - C_1)}{C_0} \times 100\%,$$

где  $C_0$  и  $C_1$  – исходная и равновесная концентрация ионов металла, мг/дм<sup>3</sup>;

$V$  – объем анализируемого раствора, дм<sup>3</sup>;  
 $m$  – масса навески угля, г.

Адсорбционное равновесие сорбции двухвалентных ионов анализировали с помощью адсорбционных моделей Ленгмюра, Фрейндлиха, Темкина, Дубинина-Радушкевича, Флори-Хиггинса [16]. Анализ полученных кинетических кривых сорбции проводили с помощью моделей псевдопервого, псевдвторого порядков, а также модели Зельдовича-Чена-Клейтона [16].

Процесс электрофлотационного извлечения отработанного активированного угля ОУ-Б проводили в непроточном электрофлотаторе с нерастворимыми анодом (ОРТА) и катодом (сетка из нержавеющей стали) [17, 18]. Для исследований готовились водные суспензии отработанного активированного угля ОУ-Б, стабилизированные поверхностно активными веществами (ПАВ) различной природы: катионный ПАВ – Катинол; анионный ПАВ – NaDDS; неионогенный ПАВ – Triton X-100.

Для проведения электрофлотации в колбах объемом 500 мл готовились модельные растворы следующего состава: навеска отработанного угля ОУ-Б (0.3 г); ПАВ (0.1 г/дм<sup>3</sup>); фоновая соль  $\text{NaNO}_3$  (1 г/дм<sup>3</sup>); дистиллированная вода.

Электрофлотацию проводили при pH 10, при постоянной объемной плотности тока 0.4 А/дм<sup>3</sup>. В течении процесса и по истечению 30 минут электрофлотации осуществлялся отбор проб для определения остаточной содержание частиц угля в исследуемом растворе. Мерой содержания частиц ОУ-Б являлась мутность, определяемая нефелометрическим методом на портативном мутномере HANNA HI98703-02.

Эффективность электрофлотационного процесса извлечения активированного угля оценивали степенью извлечения  $\alpha$  (%) по формуле:

$$\alpha_{\text{ЭФ}} = \frac{(M_{\text{исх}} - M_{\text{кон}})}{M_{\text{исх}}} \times 100\%,$$

Таблица 1. Характеристики активированного угля марки «ОУ-Б»

Table 1. Properties of the OU-B activated carbon

Технические характеристики			
рН водной вытяжки	Адсорбционная активность по метиленовому голубому, мг/г	Массовая доля, %, не более:	
		Зола общей	Железа в перерасчете на Fe <sup>3+</sup>
4-6	210	6	0.2
Текстурные характеристики			
S <sub>уд</sub> , м <sup>2</sup> /г	V <sub>Σ</sub> , см <sup>3</sup> /г	V <sub>микро</sub> , см <sup>3</sup> /г	D <sub>мезо</sub> , нм
825	0.65	0.41	3.8

Таблица 2. Влияние массы навески угля ОУ-Б на сорбционное извлечение ионов двухвалентных металлов

Table 2. Influence of the sample size of OU-B carbon on the sorption extraction of divalent metal ions

m (ОУ-Б), г	Т:Ж	α (Me <sup>2+</sup> ), %		
		Mn	Zn	Cu
0.05	1:800	45.8	57.5	61.1
0.1	1:400	51.0	62.4	66.0
0.2	1:200	54.4	68.6	72.2
0.3	1:133	62.3	73.3	82.2
0.4	1:100	63.5	74.2	82.8
0.5	1:80	63.8	74.5	83.4

Условия экспериментов: рН = 3, C(Me<sup>2+</sup>) = 100 мг/дм<sup>3</sup>, V<sub>р-ра</sub> = 40 см<sup>3</sup>, τ = 90 мин

где M<sub>исх</sub>, M<sub>кон</sub> – соответственно исходная и конечная мутность водного раствора, NTU.

### Обсуждение результатов

Активированный уголь ОУ-Б представляет собой тонкодисперсный порошок, технические и текстурные характеристики которого приведены в таблице 1.

Полученная изотерма адсорбции-десорбции азота на образцах частиц угля ОУ-Б при температуре 77 К относится ко II типу по классификации БДДТ (Брунауэра, Деминга, Деминга и Теллера), по которой можно предположить, что сорбция на угле ОУ-Б будет проходить по механизму полимолекулярной адсорбции. Результаты исследования текстурных характеристик угля ОУ-Б позволили определить, что данный уголь обладает большой удельной поверхностью с преимущественно микропористой структурой.

Были проведены исследования сорбционного процесса извлечения ионов двухвалентных металлов (Mn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) в зависимости от соотношения угля

к раствору Т:Ж (таблица 2). Эксперименты проводились при рН 3 в течении 1.5 часов, объем раствора составлял 40 см<sup>3</sup> с начальной концентрацией металла 100 мг/дм<sup>3</sup>.

В ходе экспериментов было установлено, что при повышении массы навески угля с 0.05 г до 0.3 г ОУ-Б степень извлечения металлов увеличивается, а величина сорбции уменьшается с 49 до 5 мг/г вне зависимости от металла. При увеличении навески угля с 0.3 до 0.5 г значения степеней сорбционного извлечения ионов металлов практически не меняется: для Cu<sup>2+</sup> – 82-83%; Zn<sup>2+</sup> – 73-74%; Mn<sup>2+</sup> – 62-63%. Таким образом можно сделать вывод, что увеличение навески до 0.5 г нецелесообразно. Рекомендуемое соотношение угля к водному раствору составляет 1:133.

Далее были получены кинетические данные (рис.1), необходимые для определения оптимального времени, при котором устанавливается сорбционное равновесие. Исследования проводились при учете результатов предыдущих экспериментов: рН 3, начальная концентрация

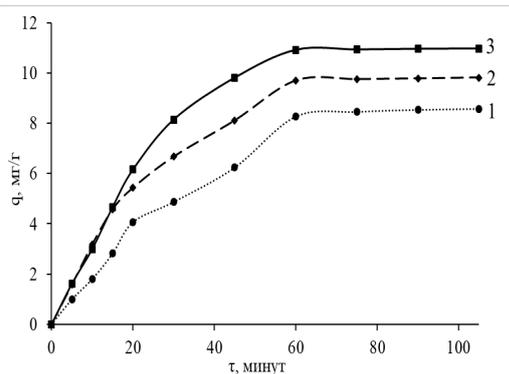


Рис. 1. Кинетическая зависимость сорбции ионов двухвалентных металлов на активированном угле ОУ-Б: 1 –  $Mn^{2+}$ ; 2 –  $Zn^{2+}$ ; 3 –  $Cu^{2+}$ . Условия эксперимента:  $pH=3$ ,  $C(Me^{2+})=100$  мг/дм<sup>3</sup>,  $V_{p-pa}=40$  см<sup>3</sup>,  $m(OU-B)=0.3$  г

Fig. 1. Kinetic dependence of sorption of divalent metal ions on the OU-B activated carbon: 1 –  $Mn^{2+}$ ; 2 –  $Zn^{2+}$ ; 3 –  $Cu^{2+}$ .

$Me^{2+}$  100 мг/дм<sup>3</sup>: объем раствора 40 см<sup>3</sup>, масса ОУ-Б 0.3 г.

Проведенные исследования в статических условиях показали, что сорбционное равновесие достигается после 60 минут процесса для всех ионов металлов. При дальнейшем увеличении времени до 105 мин существенного изменения величины адсорбции не наблюдалось, а степень извлечения исследуемых металлов после 1 часа сорбционного процесса практически не изменяются:  $\alpha(Cu^{2+})=82\%$ ;  $\alpha(Zn^{2+})=73\%$ ;  $\alpha(Mn^{2+})=63\%$ .

Кинетические экспериментальные данные (рисунок 1) были аппроксимированы линейными формами кинетических моделей Зельдовича-Чена-Клейтона, псевдопервого и псевдвторого порядков [14]. Полученные математическими расчетами константы и коэффициенты детерминации приведены в таблице 3.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что процесс сорбции ионов двухвалентных металлов можно описать моделью Зельдовича-Чена-Клейтона, в которой учитывается процесс десорбции сорбата с поверхности сорбента. Таким образом, с увеличением степени

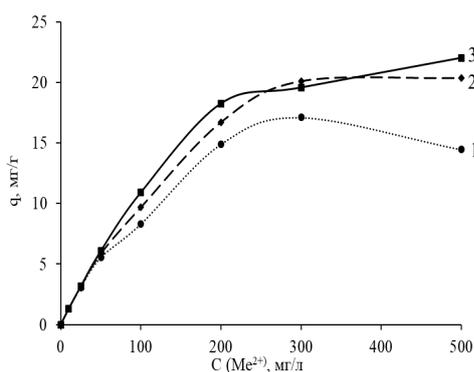


Рисунок 2 – Влияние начальной концентрации  $Me^{2+}$  в водном растворе на сорбцию на активированном угле ОУ-Б:

1 –  $Mn^{2+}$ ; 2 –  $Zn^{2+}$ ; 3 –  $Cu^{2+}$ . Условия эксперимента:  $pH=3$ ,  $\tau=60$  мин,  $V_{p-pa}=40$  см<sup>3</sup>,  $m(OU-B)=0.3$  г

Fig. 2. Influence of the initial concentration of  $Me^{2+}$  in an aqueous solution on sorption on OU-B activated carbon:

1 –  $Mn^{2+}$ ; 2 –  $Zn^{2+}$ ; 3 –  $Cu^{2+}$ .

заполнения поверхности активированного угля часть ионов металлов может десорбироваться и освобождать сорбционные центры для последующей сорбции. Кроме того, по соотношению константы десорбции  $\beta$  и начальной скорости адсорбции  $k_Z$  в модели Зельдовича-Чена-Клейтона ( $\beta/k_Z < 100$ ) можно предполагать, что процесс сорбции физический.

Экспериментальные данные по влиянию начальной концентрации  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  на их сорбционное извлечение из водных растворов на активированном угле ОУ-Б представлены на рисунке 2.

Было установлено, что величина сорбции  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  с ростом их концентрации с 10 до 300 мг/дм<sup>3</sup> увеличивается (рис. 2). Максимальная сорбционная способность активированного угля ОУ-Б фиксируется при концентрации  $Me^{2+}$  300 мг/дм<sup>3</sup>. При дальнейшем увеличении начальной концентрации ионов металлов сорбционная емкость остается на уровне 20-22 мг/дм<sup>3</sup> для  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ , а для  $Mn^{2+}$  падает с 17 до 14 мг/дм<sup>3</sup>. Это может быть связано с образованием ионных ассоциатов, сорбция которых в микропорах сорбента затруднена.

Таблица 3. Параметры кинетических моделей адсорбции ионов двухвалентных металлов на поверхности активированного угля ОУ-Б

Table 3. Parameters of kinetic models of adsorption of divalent metal ions on the surface of the OU-B activated carbon

Модель псевдопервого порядка			
Ион	$k_1, \text{мин}^{-1}$	$q_e, \text{мг/г}$	$R^2$
$\text{Cu}^{2+}$	0.06	10.19	0.640
$\text{Zn}^{2+}$	0.05	8.76	0.669
$\text{Mn}^{2+}$	0.04	9.15	0.702
Модель псевдвторого порядка			
Ион	$k_2, \text{г} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	$q_e, \text{мг/г}$	$R^2$
$\text{Cu}^{2+}$	0.003	14.0	0.924
$\text{Zn}^{2+}$	0.004	12.1	0.947
$\text{Mn}^{2+}$	0.002	12.2	0.838
Модель Зельдовича-Чена-Клейтона			
Ион	$\beta, \text{г} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	$k_Z, \text{мг} \cdot \text{мин} \cdot \text{г}^{-1}$	$R^2$
$\text{Cu}^{2+}$	0.29	1.02	0.967
$\text{Zn}^{2+}$	0.34	0.96	0.982
$\text{Mn}^{2+}$	0.35	0.62	0.967

Анализируя экспериментальные данные исследования сорбционного равновесия можно заключить, что независимо от сорбируемого иона наиболее адекватными моделями для описания сорбционного равновесия являются модели Ленгмюра и Фрейндлиха (таблица 4). Коэффициент детерминации  $R^2$  для этих моделей составляет 0.92 и выше. Предполагается, что активированный уголь имеет энергетически неоднородную поверхность. Сорбционные центры энергетически не равнозначны друг другу за счет дефектов на поверхности угля, которые возникают в процессе его получения.

Наименее адекватной моделью можно считать модель Дубинина-Радушкевича. В связи с тем, что процесс сорбции протекает в растворах, возможно диффузионное торможение в микропорах угля и соответственно отсутствием объемного характера заполнения пористого пространства.

Электрофлотационное извлечение угля проводилось в модельных растворах в присутствии поверхностно-активных веществ, введение которых позволяет повысить устойчивость образуемых флото-

комплексов и значительно увеличить эффективность и интенсивность процесса [19]

По проведенным ранее исследованиям [11] было установлено, что при увеличении концентрации фоновой соли электропроводность раствора возрастает, соответственно повышается степень извлечения порошковых активированных углей, поэтому модельные растворы для электрофлотационных исследований содержали  $1 \text{ г/дм}^3 \text{ NaNO}_3$ .

Экспериментальные исследования процесса электрофлотационного извлечения отработанных частиц ОУ-Б проводили из водных растворов, стабилизированных ПАВ анионной, катионной и неионогенной природы. Результаты экспериментов представлены в таблице 5.

Полученные результаты позволяют установить, что на процесс извлечения угля влияет и природа ПАВ, и природа сорбата, который ранее был сорбирован на частицах угля ОУ-Б. Установлено, что если на угле были сорбированы  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Zn}^{2+}$ , то электрофлотационный процесс будет протекать эффективно в присутствии неионогенного или катионного ПАВ (97-98%). Предварительная сорбция

Таблица 4. Параметры равновесных моделей сорбции ионов двухвалентных металлов на поверхности активированного угля ОУ-Б

Table 4. Parameters of equilibrium models of sorption of divalent metal ions on the surface of the OU-B activated carbon

Модель Ленгмюра			
Ион	$K_L$ , дм <sup>3</sup> /мг	$q_\infty$ , мг/г	$R^2$
Cu <sup>2+</sup>	-11.345	0.123	0.925
Zn <sup>2+</sup>	-10.5	0.147	0.932
Mn <sup>2+</sup>	-10.161	0.289	0.965
Модель Фрейндлиха			
Ион	$K_F$ , мг/г	$n_F$ , мг/дм <sup>3</sup>	$R^2$
Cu <sup>2+</sup>	3.065	2.624	0.974
Zn <sup>2+</sup>	2.642	2.562	0.984
Mn <sup>2+</sup>	2.182	2.659	0.954
Модель Темкина			
Ион	$f_T$ , мг <sup>2</sup> /Дж·г	$K_{Lo}$ , дм <sup>3</sup> /мг	$R^2$
Cu <sup>2+</sup>	0.331	3.649	0.948
Zn <sup>2+</sup>	0.346	2.940	0.915
Mn <sup>2+</sup>	0.421	2.389	0.888
Модель Дубинина-Радускевича			
Ион	$E$ , кДж/моль	$q_\infty$ , мг/г	$R^2$
Cu <sup>2+</sup>	7618.825	11.854	0.588
Zn <sup>2+</sup>	6926.631	11.340	0.598
Mn <sup>2+</sup>	3960.154	11.606	0.674
Модель Флори-Хиггинса			
Ион	$K_{FH}$ , дм <sup>3</sup> /мг	$n_{FH}$	$R^2$
Cu <sup>2+</sup>	0.0006	1.341	0.975
Zn <sup>2+</sup>	0.0007	1.374	0.944
Mn <sup>2+</sup>	0.0006	1.666	0.939

Таблица 5. Зависимость степени извлечения отработанного угля ОУ-Б из водных растворов в присутствии ПАВ различной природы

Table 5. Dependence of the degree of extraction of used OU-B carbon from aqueous solutions in the presence of SAS of various natures

Показатель	Степень извлечения угля ОУ-Б $\alpha_{эф}$ , %								
	Triton X-100			NaDDS			Катинол		
	Mn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>
$\alpha_5$ , %	18	46	58	18	6	29	67	58	72
$\alpha_{30}$ , %	51	98	99	55	9	30	97	99	97
Условия экспериментов: pH= 10; $V_{p-ра}$ =500 см <sup>3</sup> ; $i_v$ =0.4 А/дм <sup>3</sup> ; C(ПАВ) = 100 мг/дм <sup>3</sup> ; C (NaNO <sub>3</sub> ) = 1 г/дм <sup>3</sup> ; m (ОУ-Б) = 0.3 г									

Mn<sup>2+</sup> на угле позволяет достигать высоких значений степени извлечения угля (97%) только в растворе катионного ПАВ, тогда как в присутствии неионогенного ПАВ по истечению 30 минут электрофлотации степень извлечения угля не превышает 55%. Стоит также отметить, что присутствие анионного ПАВ в водном растворе снижает эффективность

электрофлотационного процесса вне зависимости от природы сорбата.

### Заключение

Проведенные исследования позволили установить, что активированный уголь ОУ-Б является эффективным микропористым сорбентом для удаления Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> из водных растворов в статическом



режиме. Экспериментально показано, что максимальная степень извлечения ионов металлов в процессе сорбции достигается при соотношении угля к водному раствору 1:133 достигается за 60 минут процесса и равна 63-82% в зависимости от иона металла. Сорбционная емкость угля достигала 17-20 мг/дм<sup>3</sup>.

Сорбция Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> на угле ОУ-Б проходит по механизму физической адсорбции, которая описывается сорбционными моделями Ленгмюра, Фрейндлиха и кинетической моделью Зельдовича-Чена-Клейтона.

### Список литературы/References

1. Connor R. The United Nations world water development report 2015: water for a sustainable world. France, UNESCO publishing, 2015; 1: 139.
2. Radhakrishnan K., Sethuramana L., Panjanathana R., Natarajana A., Solaiappanb V., Thilagaraja W.R. Biosorption of heavy metals from actual electroplating wastewater using encapsulated Moringa oleifera beads in fixed bed column. *Desalination and Water Treatment*. 2016; 57(8): 3572-3587.
3. Chirkst D.Je., Cheremisina O.V., Ivanov M.V., Chistjakov A.A., Zhadovskij I.T. Issledovanie kinetiki sorbcii kationov nikelja piroljuzitsoderzhashhim sorbentom. *Zapiski Gornogo instituta*. 2006; 169: 213-218. (In Russ.)
4. Kaljukova E.N. Kolichestvennyye harakteristiki processa sorbcii kationov nikelja (II) i marganca (II) na prirodnom sorbente opoke. *Bashkirskij himicheskij zhurnal*. 2009; 16(3): 54-58. (In Russ.)
5. Кас Je.M. Kinetika sorbcii tjazhelyh metallov iz poverhnostnoj vody na prirodnom i modifitsirovannom polijetileniminom klinoptilolite Holinskogo mestorozhdenija. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2016; 16(1): 36-43. (In Russ.)
6. Akpomie K.G., Dawodu F.A. Efficient abstraction of nickel (II) and manganese (II) ions from solution onto an alkaline-modified montmorillonite. *Journal of Taibah University for Science*. 2014; 8(4): 343-356.
7. Kurdjumov V.R., Timofeev K.L., Mal'cev G.I., Lebed' A.B. Sorbcionnoe izvlechenie ionov

Для эффективной очистки водных растворов от частиц отработанного активированного угля ОУ-Б возможно использование метода электрофлотации. Степень извлечения частиц угля повышается до 97-99% при добавлении в раствор катионного или неионогенного ПАВ.

### 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.

nikelja (II) i marganca (II) iz vodnyh rastvorov. *Zapiski gornogo instituta*. 2020; 242: 209-217. (In Russ.)

8. Ryabinina E.I., Zotova E.E., Ponomareva N.I., Andreeva N.A. Sorption activity of apple pulp in relation to zinc, copper and nickel ions. *Applied information aspects of medicine*. 2015; 18(2): 78-82.

9. Linnikov O.D., Rodina I.V., Baklanova I.V., Suntsov A.Yu. Sorption of ions Cu(II) by activated carbon BAU-A. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2018; 18(4): 554-562. (In Russ.)

10. Ivanec M.G., Grinshpan D.D., Cygankova N.G., Nevar T.N., Makarevich S.E. Ochistka stochnyh vod razlichnogo sostava modifitsirovannymi ugol'nymi sorbentami. *Vesci nacyjanal'naj akadjemii navuk belarusi. Seryja himichnyh navuk*. 2011; 3: 70-75. (In Russ.)

11. Gaydukova A.M., Pokhvalitova A.A., Kon'kova T.V., Stoyanova A.D. The effect of salinity on the efficiency of wastewater treatment from iron (III) ions by electroflotosorption method. *ChemChemTech*. 2022; 65(12): 119-125.

12. Bjankina L.S., Vas'kova N.A., Hal'chenko I.G. Primenenie jelektrohimičeskogo metoda i modifitsirovannyh sorbentov dlja nejtralizacii himičeskogo zagryznenija stochnyh vod gal'vaničeskogo proizvodstva. *Nauchnye trudy Dal'rybvтуza*. 2011; 24: 20-24. (In Russ.)

13. Pokhvalitova A.A., Gaidukova A.M. Improving the efficiency of the electroflotation process of extracting the powder sorbent «OU-A» from a solution of sodium nitrate with the addition of flocculants. *Advances in chemistry and chemical technology*. 2021; 35(6): 141-143.



14. Milutina A.D., Gavrilova N.N., Kolesnikov V.A., Desyatov A.V. The influence of surfactants and hydroxides of nickel (II) and cobalt (II) on the efficiency of electroflotation extraction of carbon nanomaterials from aqueous solution. *Water: Chemistry and Biology*. 2017; 9: 78-83.

15. Gavrilova N.N., Nazarov V.V. Analiz poristoj struktury na osnove adsorbciionnyh dannyh: ucheb. posobie. Moskva, RHTU im. D. I. Mendeleeva, 2015, 132 p. (In Russ.)

16. Ali I., Kon'kova T., Kasianov V., Rysev A., Panglisch S., Mbianda X.Y., Habila M.A., Al Masoud N. Preparation and characterization of nano-structured modified montmorillonite for dioxidine antibacterial drug removal in water. *Journal of Molecular Liquids*. 2021; 331: 115770.

17. Kolesnikov A.V., Milyutina A.D., Desyatov A.V., Kolesnikov V.A. Electroflotation recovery of highly dispersed carbon materials from aqueous solutions of electrolyte. *Separation and Purification Technology*. 2019; 209: 73-78.

18. Kolesnikov V.A., Gaidukova A.M., Kolesnikov A.V., Gubin A.F., Vetlugin N.A. Electroflotation extraction of sparingly soluble rare-earth compounds in a multicomponent mixture from aqueous solutions containing chloride ions. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2020; 54(5): 856-862.

19. Meshalkin V.P., Kolesnikov V.A., Desyatov A.V., Milyutina A.D., Kolesnikov A.V. Physicochemical efficiency of electroflotation of finely divided carbon nanomaterial from aqueous solutions containing surfactants. *Doklady Chemistry*. 2017; 476(1): 219-222.

### Информация об авторах / Information about the authors

**А.Д. Стоянова** – доцент кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов, к.т.н., РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**А.Ю. Чечерина** – аспирант кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**А.В. Иванова** – магистрант 2 года обучения кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**А.М. Гайдукова** – доцент кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов, к.т.н., РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**Т.В. Конькова** – профессор кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов, д.т.н., РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

**В.М. Мухин** – начальник лаборатории активных углей, эластичных сорбентов и катализаторов, д.т.н., АО «ЭНПО «Неорганика», Электросталь, Россия

**A.D. Stoyanova** – associate professor of the department of technology of inorganic substances and electrochemical processes, candidate of technical sciences, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia, [milyutina\\_alena\\_rhtu@mail.ru](mailto:milyutina_alena_rhtu@mail.ru)

**A.Yu. Checherina** – postgraduate student of the department of technology of inorganic substances and electrochemical processes, candidate of technical sciences, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia

**A.V. Ivanova** – master's student of 2 years of the department of technology of inorganic substances and electrochemical processes, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia

**A.M. Gaydukova** – associate professor of the department of technology of inorganic substances and electrochemical processes, candidate of technical sciences, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia

**T.V. Kon'kova** – professor of the department of technology of inorganic substances and electrochemical processes, PhD (technical sciences), Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia

**V.M. Mukhin** – Head of the Laboratory of Active Coals, Elastic Sorbents and Catalysts, PhD (technical sciences), JSC «ENPO «Neorganika», Elektrostal, Russia

Статья поступила в редакцию 23.10.2023; одобрена после рецензирования 04.03.2024; принята к публикации 06.03.2024.

The article was submitted 23.10.2023; approved after reviewing 04.03.2024; accepted for publication 06.03.2024.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья  
УДК 543.054:544.175  
doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12024

### Сорбция элементов Cu, Gd, V, Mn и Fe гидрогелями с идентификацией их комплексов в твердой фазе полимерного лиганда методом ЭПР

Яна Игоревна Симакина<sup>1✉</sup>, Елена Александровна Уголкова<sup>2</sup>,  
Алла Владимировна Михайлова<sup>1</sup>, Николай Николаевич Ефимов<sup>2</sup>,  
Вадим Викторович Минин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия,  
yana.igorevna@list.ru<sup>✉</sup>

<sup>2</sup>Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

**Аннотация.** Поиск новых сорбентов для концентрирования веществ – одна из важных задач аналитической химии в плане современного мониторинга водных объектов. Источники водоснабжения необходимо регулярно контролировать, качество природной воды также является показателем состояния экосистем. Применение сорбентов при отборе воды для анализа упрощает подготовку сложных проб, позволяет применять для определения абсорбата твердый концентрат и оперативно регистрировать результаты многоэлементными инструментальными методами в портативном исполнении *in situ*. Нами предложено в качестве сорбентов нового типа для этих целей использовать слабосшитые полимерные гидрогели (СПГ) на основе полиакриламида. В отличие от традиционных сорбентов, гидрогели сильно набухают в воде (рН 4-7), что позволяет проводить сорбцию элементов не только на поверхности, но и внутри гранул СПГ. Сорбцию проводят в статическом режиме, поместив навеску СПГ в определенный объем пробы воды, с последующим высушиванием на воздухе при 70-100°C.

Цель данной работы – получение и изучение методом ЭПР спектров твердых полимерных концентратов СПГ в плане подтверждения сорбции элементов в СПГ для дальнейшей разработки методик пробоподготовки различных водных объектов. Для этого получали индивидуальные и бинарные полимерные комплексы парамагнитных элементов Cu(II), Gd(III), V(IV), Mn(II) и Fe(III) из модельных растворов их солей (от 10<sup>-7</sup> (ИНАА) до 10<sup>-3</sup> (ЭПР) моль/дм<sup>3</sup>) и высушивали. Для подтверждения сорбции и надежного связывания элементов в полимерные комплексы использовали метод ЭПР-спектроскопии при 293 К. Экспериментально полученные новые спектры ЭПР сравнивали с теоретическими. Моделирование сложных спектров ЭПР проводили с использованием оригинального программного пакета, разработанного в ИОНХ РАН.

Показано, что при высушивании СПГ полностью освобождается от молекул воды, а сорбция металлов зависит от рН, увеличиваясь с увеличением рН раствора. При совместном присутствии ионы металлов образуют более сложные соединения, чем в случае индивидуальной сорбции. Для спектров комплексов с СПГ были посчитаны константа сверхтонкой структуры (СТС) и g-фактор для всех образцов. Определено, что при комплексообразовании металлов с СПГ ближайшая координационная сфера сильно искажается, причем природа искажения лигандного окружения зависит от элемента. В случае системы Cu(II) и V(IV) наблюдается аддитивность спектров ЭПР, а в случае Cu и Gd(III) – нет. В любом случае подтверждается образование прочных и устойчивых полимерных комплексов.

Сорбционное концентрирование с использованием СПГ предложено в качестве пробоподготовки природных и техногенных водных систем путем перевода определяемых ионов в твердый концентрат гидрогеля для дальнейшего его анализа многоэлементными инструментальными методами (например, рентгенофлуоресцентный анализ (РФА), инструментальный нейтронно-активационный анализ (ИНАА) и др.).



**Ключевые слова:** гелеобразующие акрилаты, сорбция элементов, абсолютное концентрирование, пробоподготовка воды, тяжелые металлы, ЭПР спектроскопия, магнитные свойства полимерных комплексов.

**Благодарности:** исследования методом ЭПР спектроскопии проводились с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН. Выполнено за счет средств бюджетного финансирования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН)

**Для цитирования:** Симакина Я.И., Уголкина Е.А., Михайлова А.В., Ефимов Н.Н., Минин В.В. Сорбция элементов Cu, Gd, V, Mn и Fe гидрогелями с идентификацией их комплексов в твердой фазе полимерного лиганда методом ЭПР // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 111-119. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12024>

Original article

## Sorption of the Cu, Gd, V, Mn, and Fe elements by hydrogels with identification of their complexes in the solid phase of the polymer ligand using EPR

Yana I. Simakina<sup>1</sup>✉, Elena A. Ugolkova<sup>2</sup>, Alla V. Mikhailova<sup>1</sup>,  
Nikolai N. Efimov<sup>2</sup>, Vadim V. Minin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, [yana.igorevna@list.ru](mailto: yana.igorevna@list.ru)✉

<sup>2</sup>Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

**Abstract.** The search for new sorbents for the concentration of substances is among the important tasks of analytical chemistry regarding the monitoring of water bodies in modern times. It is necessary to regularly control water supply sources, and the quality of natural water is also an indicator of the health of ecosystems. The use of sorbents when collecting water for analysis simplifies the preparation of complex samples, allowing to use a solid concentrate to determine the absorbate and quickly record the results using multi-element *in situ* instrumental methods. We suggested using cross-linked polyacrylates (CLPs) based on polyacrylamide as a new type of sorbent for these purposes. Unlike traditional sorbents, hydrogels noticeably swell in water (pH 4-7), which allows conducting the sorption of elements not only on the surface but also inside CLP granules. Sorption is conducted in a static mode by placing a weighed portion of CLP in a certain volume of water sample and by further drying in air at 70-100°C.

The purpose of this work was to obtain and study solid polymer concentrates of CLP using EPR spectroscopy in order to confirm the sorption of elements in CLP for the further development of methods for the preparation of samples of various water bodies. To do this, we obtained individual and binary polymer complexes of paramagnetic elements Cu(II), Gd(III), V(IV), Mn(II), and Fe(III) from model solutions of their salts (from 10<sup>-7</sup> (INAA) to 10<sup>-3</sup> (EPR) mol/dm<sup>3</sup>) and dried them. To confirm the sorption and reliable binding of elements into polymer complexes, we used ESR spectroscopy at 293 K. The experimentally obtained new EPR spectra were compared with the theoretical ones. Complex EPR spectra were simulated using original software developed at the Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences.

It was shown that upon drying CLPs completely disengaged from water molecules, while the sorption of metals depended on the pH and grew with an increase in the solution's pH. In case of joint presence, metal ions formed more complex compounds as compared to individual sorption. The hyperfine structure constant (HSC) was calculated for the spectra of complexes with CLPs and g-factor was calculated for all samples. It was determined that in the course of the formation of metal complexes with CLPs, the nearest coordination sphere was greatly distorted, while the nature of the distortion of the ligand environment depended on the element. In case of the Cu(II) and V(IV) system, we observed additivity of the EPR spectra, but in case of Cu and Gd(III) it was not recorded. In any case, the formation of strong and stable polymer complexes was confirmed.

Sorption concentration using CLPs was proposed as a method of sample preparation of natural and technogenic water systems by transferring the determined ions into a solid hydrogel concentrate in order to be further analysed using multi-element instrumental methods (for example, X-ray fluorescence analysis (XRF), instrumental neutron activation analysis (INAA), etc.).

**Keywords:** gel-forming acrylates, sorption of elements, absolute concentration, sample preparation of water, heavy metals, EPR spectroscopy, magnetic properties of polymer complexes.



**Acknowledgments:** EPR spectroscopy was conducted using the equipment of the Centre for Collective Use of Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences. Performed at the expense of budgetary financing of the Federal State Budgetary Institution of Science, the Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry of the Russian Academy of Sciences (GEOHI RAS)

**For citation:** Simakina Ya.I., Ugolkova E.A., Mikhailova A.V., Efimov N.N., Minin V.V. Sorption of the Cu, Gd, V, Mn, and Fe elements by hydrogels with identification of their complexes in the solid phase of the polymer ligand using EPR. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 111-119. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12024>

## Введение

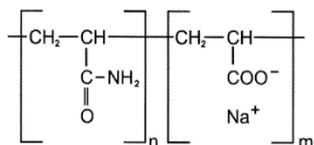
Слабосшитые полимерные гидрогели (СПГ) на основе полиакриламида — особый класс высокомолекулярных соединений, обладающих равновесным набуханием в воде и водных растворах [1-3]. В настоящее время наиболее изучены их свойства накопления и удерживания влаги [1, 3]. Нами предложено использовать СПГ в качестве перспективных сорбентов для концентрирования элементов из водных сред [2, 4]. Сорбционные методы на основе неорганических и синтетических сорбентов нашли широкое применение в химическом анализе [5] для селективного выделения определяемых компонентов. Сорбенты на основе гидрогелей дополняют список эффективных современных сорбентов в тех случаях, когда объект удален от лаборатории, нет возможности правильного хранения проб воды ( $\leq 20^\circ\text{C}$ ), в наличии малый объем пробы и в некоторых других. Концентрирование микро- и макрокомпонентов воды в твердую фазу небольшого объема позволяет при отборе жидких проб исключить добавление в них консервирующих агентов, упростить хранение проб и их доставку в лабораторию, провести экспрессный скрининг твердого концентрата многоэлементными инструментальными методами (РФА, ИНАА и подобными). Для развития этого направления аналитической химии проведено исследование нового поколения таких систем на основе гидрофильных СПГ методом ЭПР-спектроскопии и изучены структурные параметры полимерных комплексов. ЭПР-спектроскопия является информативным неразрушающим методом исследования парамагнитных веществ и материалов [2,

4-10]. Метод широко применяется в фундаментальных и прикладных исследованиях — химии, нефтехимии, геологии, медицине и др. Цель данной работы — получение и исследование твердых полимерных концентратов СПГ для разработки методик пробоподготовки водных объектов. Для этого получали индивидуальные и бинарные полимерные комплексы парамагнитных элементов (Cu(II), Gd(III), V(IV), Mn(II) и Fe(III)) из модельных растворов их солей и высушивали. Для подтверждения сорбции и надежного связывания элементов в полимерные комплексы использовали метод ЭПР-спектроскопии. Экспериментально полученные спектры ЭПР сравнивали с теоретическими.

## Экспериментальная часть

Использовали соли металлов ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{VOSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), ч.д.а. Растворение навесок проводили согласно [11] с использованием серной и соляной кислот (ос.ч.) и дистиллированной воды. Навески отбирали на аналитических весах фирмы ОХАУС РА64С (производство Китай) с наибольшим пределом взвешивания 65 г и дискретностью 0.1 мг. Класс точности по ГОСТ 24104-1. Для измерений ЭПР взвешивали гидрогель с точностью  $\pm 0.001$  г. Готовили растворы с концентрациями  $10^{-4}$ - $10^{-3}$  моль/дм<sup>3</sup>. Сорбцию ионов металлов СПГ проводили в статических условиях из модельных растворов (диапазон pH от 1 до 5) в режиме абсолютного концентрирования. Для создания необходимой кислотности использовали фиксанал HCl (pH 1) и аммиачно-ацетатные растворы (pH 3 и 5). Сорбцию проводили из индивидуальных

или бинарных растворов. Использовали СПГ с размером гранул 1-2 мм, гидрогель – сшитый сополимер акриламида/акриловой кислоты (90:10) марки «Штокосорб» Мисго (Германия), структурная формула звена приведена ниже:



Рассчитанная молекулярная масса звена полимера акриламида – 71.09 г/моль. В исследуемый раствор объемом 25 см<sup>3</sup> добавляли навеску гидрогеля (0.1 г), выдерживали 15-20 мин. Далее, после набухания, СПГ высушивали в сушильном шкафу SNOI при 105°C досуха. Полноту сорбции контролировали методом АЭС-ИСП, анализируя смыв со стаканчика, она составляла ≥99%. Для регистрации сигнала на ЭПР-спектрометре достаточно СПГ массой от 0.036 до 0.067 г.

Спектры ЭПР твердой фазы регистрировали на радиоспектрометре ЭПР Bruker ELEXSYS E680X при различных соотношениях металл : СПГ в X-диапазоне (рабочая частота ~9.8 ГГц). Спектры регистрировали в одних и тех же условиях при одинаковых значениях основных параметров спектрометра. Работа с твердыми образцами значительно упрощает процесс регистрации спектров и повышает чувствительность метода за счет концентрирования элементов и отсутствия воды, отрицательно влияющей на добротность резонатора и, как следствие, на чувствительность прибора. Полученные при совместном присутствии элементов сложные спектры обрабатывали с помощью комплекса компьютерных программ, описанных в работе [8].

### Обсуждение результатов

Использовали одно из свойств СПГ: при высыхании гидрогеля вода из него полностью удаляется, а имеющиеся в ней вещества удерживаются в фазе полимера и полученный таким образом твердый

гидрогель назван полимерным концентратом [2, 4, 12].

Зависимость сорбции Cu(II) и Mn(II) от pH исходного раствора по данным ЭПР. Готовили модельные растворы Cu(II) и Mn(II) с содержанием ионов металлов 10<sup>-3</sup> моль/дм<sup>3</sup> при значениях pH 1, 3 и 5.5. Исходный объем раствора – 30 см<sup>3</sup>. Высушивали полимер. Затем регистрировали спектры ЭПР. Величина сигнала ЭПР оценивалась графически по площади спектра поглощения. Результаты приведены ниже (см<sup>2</sup>):

pH	1	3	5
Cu(II)	2.5	9.4	10.9
Mn(II)	2	5.3	22

Видно, что при увеличении pH раствора сорбируется больше металла. Это согласуется с состоянием СПГ в нейтральных средах: гранулы СПГ сильно набухают, что резко увеличивает их рабочую поверхность и объем, чего не происходит в кислых растворах.

Исследование комплексов Cu(II) и Gd(III) с СПГ при совместном присутствии. Выбор этих элементов сделан на основании их различных параметров спин-гамильтониана (СГ), т.е. спектры ЭПР не должны полностью «закрывать» друг друга. Так, g-тензоры для меди(II) лежат в пределах 2.34-2.1, а для гадолиния(III) в кристаллах g=1.995. Получив экспериментальные спектры ЭПР индивидуальных соединений, а также при их совместном присутствии и, построив их теоретические аналоги, сравнивали все спектры ЭПР. Для этого применяли комплекс специально разработанных программ, который предназначен для расшифровки спектров сложных смесей спиновых аддуктов. На рис. 1 показаны экспериментальные и теоретические спектры ЭПР индивидуальных соединений гадолиния(III) (a), меди(II) (b) с СПГ и в их совместном присутствии (c), а также углы, определяющие ориентацию полимерного «кристалла» (d).

Спиновой гамильтониан, описывающий спектр Gd(III) (рис. 1, a), включает в

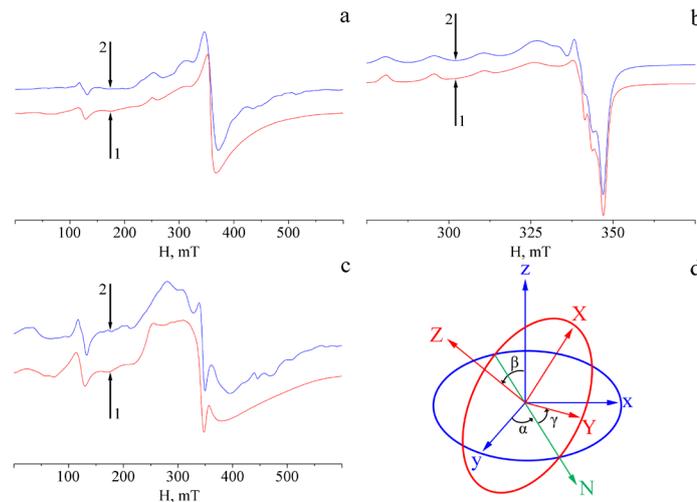


Рис. 1. Спектры ЭПР с СПГ ионов Gd(III) (а), Cu(II) (б), смеси (с), углы Эйлера  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  при переходе из системы осей хуз в систему осей XYZ (д), 293К. 1 – эксперимент, 2 – симуляция с параметрами СПГ:

(а) СПГ(1):  $C_1=9.1\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=6.454 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4=5.2 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^0=3.1 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ ,  
 $C_2=90.9\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=4.771 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4=9.0 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^0=1.3 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ .

(б) СПГ(2):  $g_z=2.329$   $g_x=2.093$   $g_y=2.052$   
 $A=1.566 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$ ,  $B=2.57 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $C=2.05 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $\alpha=-15.26^\circ$ ,  $\beta=-5.71^\circ$ ,  $\gamma=-0.43^\circ$ .

(с) СПГ(1):  $C_{1\text{Gd}}=21.88\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=3.947 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$ ,  $E=4.583 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4=-1.5 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ ,  
 $B_4^0=6.1 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-1}$ ,  $C_{2\text{Gd}}=12.5\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=4.771 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4=9.0 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^0=1.3 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ .

$C_{3\text{Gd}}=3.13\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=6.454 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4=5.2 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^0=2.1 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ , СПГ(5)  
 $C_{4\text{Cu}}=62.5\%$ ,  $g_x=2.07$ ,  $g_y=2.07$ ,  $g_z=2.25$ .

Fig. 1. EPR spectra with CLP of ions Gd(III) (a), Cu(II) (b), mixture (c), Euler angles  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  in the course of transition from the system of axes xyz into the system of axes XYZ (d), 293K.

1 – experiment, 2 – simulation with parameters of cross-linked hydrogels

себя зеемановское и тонкое взаимодействие, причем тонкое взаимодействие имеет члены разложения кристаллического поля второго и четвертого порядка. СПГ(1) представляет собой кубическое кристаллическое поле, которое может быть искажено аксиальными вкладками второго и четвертого порядка вдоль большой диагонали куба, кроме того возможно ромбическое искажение второго порядка:

$$H = g\beta(S_x H_x + S_y H_y + S_z H_z) + D(S_z^2 - \frac{1}{3}S(S+1)) + E(S_x^2 - S_y^2) + B_4^0 O_4^0 + B_4(O_4^0 + 20\sqrt{2}O_4^3), \quad (1)$$

где  $O_k^q$  – эквивалентные спиновые операторы Стивенса,  $B_k^q$  – параметры Стивенса ( $D=3B_2^0, E=B_2^2$ ),  $g$  – компонента  $g$ -тензора,  $S_z, S_x, S_y$  – проекции оператора спина на координатные оси,  $S=7/2$ .

СПГ(1) диагонализировался численно. Расчеты резонансных полей СПГ(1) для построения теоретического спектра проводились с помощью метода Белфорда [6]. Метод Белфорда заключается в нахождении такого значения магнитного поля  $H$ , при котором два собственных значения матрицы гамильтониана (1), соответствующие двум различным собственным векторам, различались бы на квант СВЧ  $h\nu$ .

Спектр соединения меди(II) (рис. 1, б) описывается СПГ(2) с зеемановским и сверхтонким взаимодействием, имеющим симметрию ниже ромбической:

$$H = g\beta HS + IAS, \quad (2)$$

где  $g$  –  $g$ -тензор,  $A$  – тензор сверхтонкого взаимодействия,  $S=1/2$ , для иона меди  $I=3/2$ .

Каждый тензор  $g$  и  $A$  диагонализуются в собственной системе координат и эти системы не совпадают. Поэтому требуется  $A$ -тензор задать в системе координат

g-тензора, чтобы привести все тензоры в одну систему координат. Переход осуществляется с помощью последовательности поворотов на три угла Эйлера [7] (рис. 2, **d**):

поворот вокруг оси **z** на угол  $\alpha$ ,

поворот вокруг новой оси  $y_1$  (**N**), на угол  $\beta$ ,

поворот вокруг новой оси **Z** на угол  $\gamma$ .

Соответствующая матрица преобразования имеет вид [8]:

$$T = \begin{vmatrix} \cos \alpha \cos \beta \cos \gamma - \sin \alpha \sin \gamma & -\cos \alpha \cos \beta \sin \gamma - \sin \alpha \cos \gamma & \cos \alpha \sin \beta \\ \sin \alpha \cos \beta \cos \gamma + \cos \alpha \sin \gamma & -\sin \alpha \cos \beta \sin \gamma + \cos \alpha \cos \gamma & \sin \alpha \sin \beta \\ -\cos \gamma \sin \beta & \sin \gamma \sin \beta & \cos \beta \end{vmatrix}$$

В результате в системе координат g-тензора  $A = \tilde{T}A_0T$ , где тильда обозначает транспонирование матрицы и

$$A_0 = \begin{vmatrix} B & 0 & 0 \\ 0 & C & 0 \\ 0 & 0 & A \end{vmatrix} - \text{диагональная матрица}$$

тензора  $A$  в собственной системе координат.

Параметры комплексов находили методом наилучшего приближения между экспериментальными и теоретическими спектрами, путем минимизации функционала ошибки:

$$F = \sum_i (Y_i^T - Y_i^E)^2 / N, \quad (3)$$

здесь  $Y_i^E$  – массив экспериментальных значений интенсивности сигнала ЭПР с постоянным шагом по магнитному полю  $H$ ,  $Y_i^T$  – теоретические значения при тех же значениях поля  $H$ ,  $N$  – число точек.

Теоретические спектры для СГ(2) строили способом, описанным в работе [8]. В качестве функции формы линии использовали сумму функций Лоренца и Гаусса [9]. В соответствии с теорией релаксации [10] ширину линий задавали выражением:

$$\Delta H = \lambda + \mu t_l + \nu t_l^2, \quad (4)$$

где  $t_l$  – проекция ядерного спина на направление магнитного поля,  $\lambda$ ,  $\mu$ ,  $\nu$  – параметры.

В ходе минимизации варьировали g-факторы, константы СТС, ширины и формы линий и углы Эйлера.

Спектр смеси соединений гадолиния и меди описывается суммой СГ(1) для гадолиния и ромбического СГ для меди, включающего в себя зеемановское взаимодействие:

$$H = g_x \beta S_x H_x + g_y \beta S_y H_y + g_z \beta S_z H_z, \quad (5)$$

где  $S=1/2$ .

Анализ представленных на рис. 1 спектров позволяет сделать следующие выводы. Наблюдаемый спектр гадолиния широкий и имеет протяженность от нескольких сотен до ~5000 Гс. Если ион со спином  $S \geq 1$  находится в окружении, имеющем низкую симметрию, состояния с различными проекциями электронного спина на выделенную ось имеют различную энергию даже в отсутствие внешнего магнитного поля. Такое начальное расщепление называется расщеплением в нулевом поле и описывается тензором тонкого взаимодействия (1). Эта ситуация характерна для высокоспиновых ионов, таких как Fe(III), Mn(II) и Gd(III).

Далее, спектр ЭПР меди(II) в СПГ характерен для комплексного иона меди. И, наконец, общий спектр (рис. 1, **c**) не является суперпозицией спектров (**a**) и (**b**). По-видимому, при совместной сорбции этих ионов металлов функциональными группами СПГ, ионы меди сильно искажают окружение некоторых ионов гадолиния со спином 3.5.

Исследование комплексов Cu(II) и V(IV) с СПГ при совместном присутствии. Спектры соединений меди(II) и ванадия(IV) в СПГ отдельно и в совместном присутствии (рис. 1, **b** и 2, **a** и **c**) описываются СГ(2),  $S=1/2$ , для иона меди  $I=3/2$ , для иона ванадия  $I=7/2$ .

Следует отметить, что ненулевые углы Эйлера играют существенную роль для спектра меди, по-видимому, потому, что у двухвалентной меди лепестки магнитной орбитали направлены на атомы лиганда. Спектр иона ванадия описывается СГ ромбической симметрии, т.е. углы Эйлера равны нулю.

В данном случае, совместный спектр ионов меди и ванадия является суммой

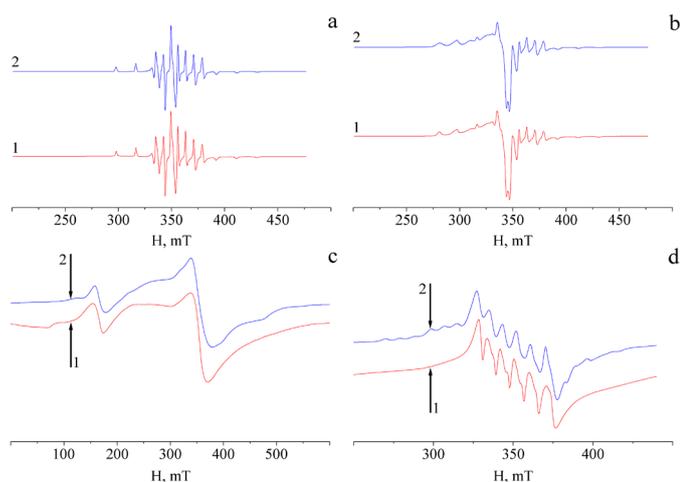


Рис. 2. Спектры СПГ с V(IV) (а) и смеси V(IV) и Cu(II) (b); с Fe(III) (с) и с Mn(II) (d): 1 – эксперимент, 2 – симуляция с параметрами СГ:

(а) СГ(2):  $g_z=1.934$      $g_x=1.973$      $g_y=1.973$   
 $A=1.712 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$ ,  $B=6.05 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $C=6.05 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $\alpha=0.0^\circ$ ,  $\beta=0.0^\circ$ ,  $\gamma=0.0^\circ$ .

(b) СГ(2):  $C_{Cu}=72.2\%$ ,  $g_z=2.331$      $g_x=2.092$      $g_y=2.052$   
 $A=1.545 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$ ,  $B=2.51 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $C=1.97 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $\alpha=-18.68^\circ$ ,  $\beta=-6.07^\circ$ ,  $\gamma=-6.98^\circ$ ,  
 $C_V=27.8\%$ ,  $g_z=1.933$      $g_x=1.976$      $g_y=1.970$   
 $A=1.707 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$ ,  $B=6.23 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $C=6.02 \cdot 10^{-3} \text{ см}^{-1}$ ,  $\alpha=0.0^\circ$ ,  $\beta=0.0^\circ$ ,  $\gamma=0.0^\circ$ .

(с) СГ(1):  $C_1=33\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=0.2722 \text{ см}^{-1}$ ,  $E=0.0842 \text{ см}^{-1}$ ,  
 $C_2=67\%$ ,  $g=1.995$ ,  $D=-0.0159 \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^0=0.00001 \text{ см}^{-1}$ ,  $B_4^2=0.00036 \text{ см}^{-1}$ .

(d) СГ(6):  $g=2.0002$ ,  $A=0.00803 \text{ см}^{-1}$ ,  $D=0.0142 \text{ см}^{-1}$ ,  $E=0.00835 \text{ см}^{-1}$ .

Fig. 2. Spectra of CLP with V(IV) (a) and a mixture of V(IV) and Cu(II) (b); with Fe(III) (c) and with Mn(II) (d): 1 – experiment, 2 – simulation with parameters of cross-linked hydrogels

спектров отдельно присутствующих меди и ванадия.

Исследование индивидуальных полимерных комплексов Mn(II) и Fe(III) с СПГ. Спектры ионов Mn(II) и Fe(III) в гидрогеле, несмотря на то, что оба иона имеют полузаполненную оболочку  $d^5$  и находятся в S-состоянии, совершенно разные (рис. 2, с и d). Спектр железа характерен для ситуации, когда параметры тензора расщепления в нулевом поле сравнимы по величине с  $h\nu$  ( $0.3 \text{ см}^{-1}$ ). В то же время в спектре для марганца хорошо видна сверхтонкая структура, лежащая на некой несущей линии. Это означает, что тонкое взаимодействие, вызванное несимметричным окружением спина 2.5 довольно слабое, оно не разрушает явную сверхтонкую структуру, т.е. много меньше  $h\nu$ .

Для воспроизведения спектра  $\text{Fe}^{+3}$  в гидрогеле может быть использован СГ(1). Этот спектр является суммой спек-

тров двух центров со спином 2.5 в различном окружении. Один тип окружения – центр с сильным ромбическим искажением, второй – кубическое поле, искаженное вдоль большой диагонали куба аксиальными вкладками второго и четвертого порядка.

Спектр иона марганца(II) описывается ромбически-искаженным СГ со сверхтонким, тонким и зеемановским взаимодействием:

$$H = g\beta(H_z S_z + H_x S_x + H_y S_y) + A(I_z S_z + I_x S_x + I_y S_y) + D(S_z^2 - S(S+1)/3) + E(S_x^2 - S_y^2), \quad (6)$$

где  $A$  – компонента СТС–тензора,  $S_z, S_x, S_y$  – проекции оператора спина иона на координатные оси,  $S=5/2$ ,  $I_z, I_x, I_y$  – проекции оператора ядерного спина на координатные оси,  $I=5/2$ .

### Заключение

Методом ЭПР-спектроскопии впервые охарактеризованы полимерные комплексы ионов марганца(II), железа(III), а

также меди(II) в присутствии Gd(III) и V(IV).

На примере ионов меди(II) показано, что ближайшая координационная сфера при комплексообразовании с СПГ сильно искажена и симметрия комплекса иона меди ниже ромбической.

В случае полимерных комплексов высокоспиновых ионов наблюдаются сильные искажения координационной сферы, что выражается в больших, по сравнению с несущей частотой ЭПР, параметрах тензора тонкого взаимодействия для комплексов ионов железа(III) и гадолиния(III). Показано, что гадолиний и железо имеют два типа искажения лигандного окружения.

В случае смеси двух типов ионов со спинами 1/2 суммарный спектр является суммой спектров отдельных ионов на примере смеси комплексов меди и ванадия(IV). Однако при смешивании комплексов различных ионов, если, по крайней мере, один из них имеет спин  $\geq 1$ , результирующий спектр не является суммой спектров комплексов каждого из ионов. Примером в данной работе является спектр смеси комплексов гадолиния и меди. По-видимому, ионы меди дополнительно искажают координационную

сферу гадолиния, непосредственно в нее не входя. При симуляции спектра появляется третья разновидность комплексов гадолиния, которая отсутствовала в чистом комплексе гадолиния.

Таким образом, показано, что СПГ могут выполнять роль эффективных и универсальных сорбентов для выделения элементов из разбавленных водных растворов, характеризующихся простотой использования. При полном высушивании гидратная оболочка СПГ и сорбированного иона не сохраняется и молекулы воды не отделяют ионы элементов от поверхности полимера, поэтому сорбция происходит практически полностью. Предложенный способ концентрирования элементов перспективен для развития инструментальных методов анализа воды, что показано в работах, посвященных практическому применению гидрогелей [2, 4, 12].

### 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. Dubrovskii С.А., Vasil'ev V.V. Davlenie nabukhaniya I uprugoe povedenie polimakromonomernykh setok s razlichnoi funktsional'nost'yu uzlov. *Vysokomol. soedineniya. Ser. A.* 2006; 48(9): 1595-1607. <https://doi.org/10.1134/S0965545X06090070> (In Russ.)
2. Shcherbakova (Simakina) Ya.I., Efimov N.N., Mikhailova A.V., Savvin S.B., Minin V.V. Osobennosti kompleksoobrazovaniya perekhodnykh metallov s gidrogelyami. *Zhurn. neorg. khimii.* 2013; 58(7): 936-939. <https://doi.org/10.7868/S0044457X13070210> (In Russ.)
3. Ahmed E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *J. Adv.*

- Res.* 2015; 6(2): 105-121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
4. Simakina Ya.I., Kuz'mina T.G., Senin V.G. Issledovanie sorbtsionnykh svoistv polimernykh gidrogelei na osnove akrilamida spektral'nymi metodami analiza. *Zhurn. analit. khimii.* 2021; 76(11): 997-1003. <https://doi.org/10.31857/S0044450221110141> (In Russ.)
5. Khamizov R.Kh. Metody matematicheskogo modelirovaniya protsessov sorbtsionnogo kontsentrirovaniya i razdeleniya i vozmozhnosti ikh ispol'zovaniya v analize rastvorov. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2012; 12(1): 5-22. (In Russ.)
6. Belford G.G., Belford R.L., Burkhaven J.F. Eigenfields: A practical direct calcula-



tion of resonance fields and intensities for field-swept fixed-frequency spectrometers. *J. Magn. Res.* 1973; 11(2): 251-265. [https://doi.org/10.1016/0022-2364\(73\)90010-3](https://doi.org/10.1016/0022-2364(73)90010-3).

7. Landau L.D., Lifshits E.M. *Kvantovaya mekhanika. Nerelevativistskaya teoriya*. M., Nauka, 1974. 752 p. (In Russ.)

8. Rakitin Yu.V., Larin G.M., Minin V.V. *Interpretatsiya spektrov EPR koordinatsionnykh soedinenii (Interpretation of EPR Spectra of Coordination Compounds)*, M., Nauka, 1993, 398 p. (In Russ.)

9. Lebedev Ya.S., Muromtsev V.I. *EPR I relaksatsiya stabilizirovannykh radikalov*

(EPR and Relaxation of Stabilized Radicals), M., Khimiya, 1972, 256 p. (In Russ.)

10. Wilson R., Kivelson D. ESR linewidths in solution. I. Experiments on anisotropic and spin – rotational effects. *J. Chem. Phys.* 1966; 44(1): 154-168. <https://doi.org/10.1063/1.1726439>

11. Lazarev A.I., Kharlamov I.P., Yakovlev P.Ya. *Spravochnik khimika-analitika (Handbook for Analytical Chemists)*. M., Metallurgiya, 1976, 183 p. (In Russ.)

12. Ermolaeva V.N., Mikhailova A.V., Kogarko L.N., Kolesov G.M. *Vyshchela-chivanie redkozemel'nykh I radioaktivnykh elementov iz shchelochnykh porod Lovezerskogo massiva (Kol'skii polu-ostrov)*. *Geokhimiya*. 2016;54(7): 651-658. <https://doi.org/10.7868/S0016752516070049>

### Информация об авторах / Information about the authors

**Я.И. Симакина** – младший научный сотрудник ГЕОХИ РАН, лаборатория инструментальных методов и органических реагентов, Москва, Россия

**Е.А. Уголкина** – старший научный сотрудник ИОНХ РАН, к.ф.-м.н., лаборатория магнитных материалов, Москва, Россия

**А.В. Михайлова** – к.х.н., старший научный сотрудник ГЕОХИ РАН, лаборатория инструментальных методов и органических реагентов, Москва, Россия

**Н.Н. Ефимов** – к.х.н., заведующий лабораторией магнитных материалов, ИОНХ РАН, Москва, Россия

**В.В. Минин** – г.н.с., д.х.н. лаборатории магнитных материалов, ИОНХ РАН, Москва, Россия

**Ya.I. Simakina** – junior researcher, GEOKHI RAS, laboratory of instrumental methods and organic reagents, Moscow, Russia, E-mail: yana.igorevna@list.ru, <https://orcid.org/0009-0005-9871-8065>

**E.A. Ugolkova** – candidate of physical and mathematical sciences, IGIC RAS, laboratory of magnetic materials, Moscow, Russia, E-mail: tipperiri@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8192-7200>

**A.V. Mikhailova** – candidate of Chemical Sciences, GEOKHI RAS, laboratory of instrumental methods and organic reagents, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0008-5851-1109>, E-mail: xemafiltra@ya.ru

**N.N. Efimov** – candidate of Chemical Sciences, Head of the laboratory of magnetic materials, IGIC RAS, Moscow, Russia, E-mail: nnefimov@yandex.ru

**V.V. Minin** – grand Ph. D. (Chemical sciences), chief researcher of laboratory of magnetic materials, IGIC RAS, Moscow, Russia, E-mail: m1nin.wadim@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 11.09.2023; одобрена после рецензирования 14.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.

The article was submitted 11.09.2023; approved after reviewing 14.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.115:543.544.13

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12028

### Применение метода тонкослойной хроматографии для определения степени гидролиза соевого лецитина

**Виктор Николаевич Леонтьев<sup>✉</sup>, Ольга Степановна Игнатовец, Олеся Илгамовна Лазовская, Яна Леонидовна Страх**

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь, leontiev@belstu.by<sup>✉</sup>

**Аннотация.** Целью настоящего исследования является определение степени ферментативного гидролиза соевого лецитина с помощью метода тонкослойной хроматографии в сочетании с современной программой обработки данных визуализации. Гидролиз фосфолипидов осуществляли под действием ферментного препарата фосфолипазы  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>) в присутствии ионов кальция в течение 2 ч при температуре 50°C и pH 5.7. Хроматографическое разделение компонентов реакционной среды проводили через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> в системе хлороформ : метанол : аммония гидроксид в соотношении 6.5 : 2.5 : 0.4 (об/об/об). Идентифицированы следующие фосфолипиды и их лизоформы:  $R_f = 0.41 \pm 0.03$  для фосфатидилэтаноламина (ФЭ),  $R_f = 0.28 \pm 0.02$  для фосфатидилхолина (ФХ),  $R_f = 0.09 \pm 0.01$  для фосфатидилинозитола (ФИ),  $R_f = 0.06 \pm 0.01$  для фосфатидной кислоты (ФК),  $R_f = 0.15 \pm 0.02$  для лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ),  $R_f = 0.08 \pm 0.01$  для лизофосфатидилхолина (ЛФХ),  $R_f = 0.03 \pm 0.01$  для лизофосфатидилинозитола (ЛФИ) и  $R_f = 0.02 \pm 0.01$  для лизофосфатидной кислоты (ЛФК). Показано, что в соевом лецитине до ферментативной реакции присутствуют ФХ, ФЭ, ФИ и ФК, содержание которых после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> уменьшается за счет образования ЛФХ, ЛФЭ, ЛФИ и ЛФК соответственно. Получена зависимость степени гидролиза ( $\alpha$ , %) ФХ от продолжительности ферментативной реакции. Установлено, что интенсивное превращение ФХ в ЛФХ под действием ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> наблюдается в течение 60 мин ( $\alpha = 82\%$ ). Дальнейшая конверсия ФХ происходит незначительно: по истечении 90 мин – 84%, после 120 мин – 87%, что обусловлено ингибированием активности фермента конечным продуктом реакции.

**Ключевые слова:** соевый лецитин, ферментативная реакция, фосфолипаза  $A_2$ , лизолецитин, тонкослойная хроматография, степень гидролиза.

**Благодарности:** исследование выполнено при финансовой поддержке ООО «ИЦ «Бирюч-НТ» (Российская Федерация) в рамках научной работы «Разработка промышленно-адаптируемого метода получения соевого лизолецитина»

**Для цитирования:** Леонтьев В.Н., Игнатовец О.С., Лазовская О.И., Страх Я.Л. Применение метода тонкослойной хроматографии для определения степени гидролиза соевого лецитина // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 120-127. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12028>

Original article

### Application of the thin layer chromatography method for the determination of the degree of hydrolysis of soy lecithin

**Viktor N. Leontyev<sup>✉</sup>, Olga S. Ignatovets, Olesya I. Lazovskaya, Yana L. Strakh**

Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus, leontiev@belstu.by<sup>✉</sup>

**Abstract.** The aim of this study was the determination of the degree of enzymatic hydrolysis of soy lecithin using thin layer chromatography in combination with a modern imaging data processing program. Hydrolysis



of phospholipids was carried by the action of the enzyme phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) in the presence of calcium ions for 2 h at a temperature of 50°C and pH 5.7. Chromatographic separation of the components of the reaction medium was carried out 10, 20, 30, 60, 90, and 120 min after adding the PLA<sub>2</sub> in the chloroform: methanol: ammonium hydroxide system in a ratio of 6.5 : 2.5 : 0.4 (v/v/v). The following phospholipids and their lysoforms were identified: R<sub>f</sub> = 0.41±0.03 for phosphatidylethanolamine (PE), R<sub>f</sub> = 0.28±0.02 for phosphatidylcholine (PC), R<sub>f</sub> = 0.09±0.01 for phosphatidylinositol (PI), R<sub>f</sub> = 0.06±0.01 for phosphatidic acid (PA), R<sub>f</sub> = 0.15±0.02 for lysophosphatidylethanolamine (LPE), R<sub>f</sub> = 0.08±0.01 for lysophosphatidylcholine (LPC), R<sub>f</sub> = 0.03±0.01 for lysophosphatidylinositol (LPI) and R<sub>f</sub> = 0.02±0.01 for lysophosphatidic acid (LPA). It was shown that soy lecithin contained PC, PE, PI, and PA before the enzymatic reaction, the content of these compounds after the addition of the PLA<sub>2</sub> decreases due to the formation of LPC, LPE, LPI, and LPA, respectively. The dependence of the degree of hydrolysis ( $\alpha$ , %) of PC on the duration of the enzymatic reaction was obtained. It was established that the intensive conversion of PC to LPC under the action of the PLA<sub>2</sub> occurred during 60 min ( $\alpha$  = 82%). Further conversion of PC occurred insignificantly: 84% after 90 min and 87% after 120 min, which was due to the inhibition of enzyme activity by the final reaction product.

**Keywords:** soy lecithin, enzymatic reaction, phospholipase A<sub>2</sub>, lysolecithin, thin layer chromatography, degree of hydrolysis.

**Acknowledgments:** the study was supported by the ООО Biruch-NT Innovation Centre (Russian Federation) as part of the scientific work “Development of an industrially adaptable method for obtaining soybean lysolecithin”.

**For citation:** Leontyev V.N., Ignatovets O.S., Lazovskaya O.I., Strakh Ya.L. Application of the thin layer chromatography method for the determination of the degree of hydrolysis of soy lecithin. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 120-127. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12028>

## Введение

Лизолецитин – продукт ферментативного гидролиза лецитина, который находит широкое применение в качестве диспергирующего и эмульгирующего агента в пищевой [1], косметической [2], фармацевтической промышленности [3] и в сельском хозяйстве [4].

Согласно [5] соевый лецитин представляет собой смесь фракций фосфолипидов: 15-18% фосфатидилхолина (ФХ), 11-14% фосфатидилэтаноламина (ФЭ), 9-10% фосфатидилинозитола (ФИ) и 4-5% фосфатидной кислоты (ФК). При действии фосфолипазы A<sub>2</sub> (ФЛА<sub>2</sub>) на фосфолипиды происходит направленное отщепление остатков высших жирных кислот из второго положения с образованием соответствующих лизофосфолипидов (лизолецитина): лизофосфатидилхолина (ЛФХ), лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), лизофосфатидилинозитола (ЛФИ) и лизофосфатидной кислоты (ЛФК) (рис. 1).

Фермент ФЛА<sub>2</sub> (КФ 3.1.1.4) – глобулярный белок с молекулярной массой 14–18 кДа. Для проявления каталитической активности ФЛА<sub>2</sub> требуется нали-

чие ионов Ca<sup>2+</sup> в миллимолярных концентрациях [7]. Предполагаемый механизм катализа ферментативной реакции гидролиза фосфолипидов представлен на рис. 2. В каталитическом центре (His/Asp) ФЛА<sub>2</sub> локализуются две молекулы воды, одна из которых координирована с атомом азота остатка гистидина, а другая молекула – с ионом Ca<sup>2+</sup>. Последняя молекула воды как нуклеофил атакует карбонильную группу сложноэфирной связи субстрата. При этом образуется тетраэдрический интермедиат, который затем распадается на остаток жирной кислоты и лизофосфолипид.

Отличительной особенностью ФЛА<sub>2</sub> является способность проявлять ферментативную активность только на поверхности раздела фаз «фосфолипид – вода» [9]. Наряду с каталитическим центром у ФЛА<sub>2</sub> имеются два сайта связывания (рис. 3): один отвечает за связывание фермента (E) с липидной поверхностью (M), а второй – за связывание конкретной молекулы фосфолипида (S) и ее гидролиз с образованием продуктов (P) [10]. Именно наличие второго сайта связывания обеспечивает ФЛА<sub>2</sub> высокую регио- и стереоспецифичность [11].

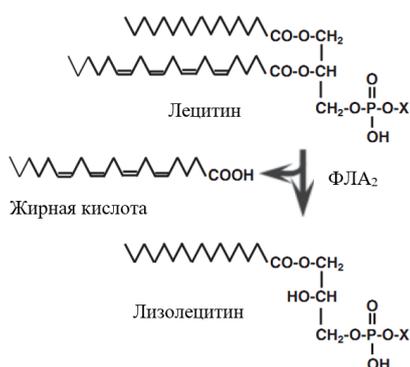


Рис. 1. Реакция гидролиза лецитина под действием ФЛА<sub>2</sub> с образованием лизолецитина [6]

Fig. 1. The reaction of lecithin hydrolysis under the influence of PLA<sub>2</sub> with the formation of lysolecithin [6]

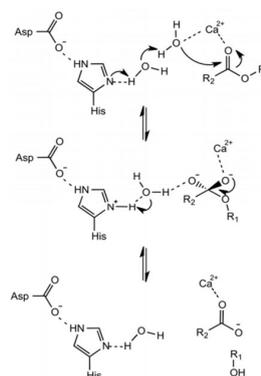


Рис. 2. Предполагаемый механизм катализа реакции гидролиза фосфолипидов под действием ФЛА<sub>2</sub> [8]

Fig. 2. Proposed mechanism of catalysis of the phospholipid hydrolysis reaction under the influence of PLA<sub>2</sub> [8]

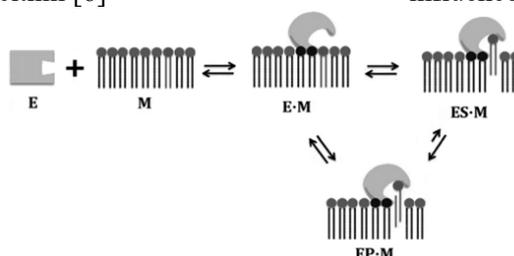


Рис. 3. Схема взаимодействия ФЛА<sub>2</sub> с липидной поверхностью [12]

Fig. 3. Interaction scheme of PLA<sub>2</sub> with the lipid surface [12]

Существующие в настоящее время автоматизированные методы (ГЖХ, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, <sup>31</sup>P ЯМР, капиллярный электрофорез) анализа фосфолипидов и продуктов их гидролиза требуют дорогостоящего аппаратного оформления. Поэтому для разделения фосфолипидов широко используют метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) [13, 14], затраты средств на организацию которого на несколько порядков ниже. Преимущества метода ТСХ (экспрессность, высокая эффективность, простота проведения хроматографического процесса, возможность параллельного разделения нескольких образцов на одной пластинке, малое количество анализируемого вещества, возможность гибкого варьирования условий разделения компонентов пробы) в сочетании с современными программными средствами обработки данных визуализации [15] делают его востребованным не только для анализа качественного

и количественного состава фосфолипидов и их лизоформ, но и для оценки эффективности протекания ферментативной реакции.

Таким образом, целью настоящего исследования является определение степени гидролиза соевого лецитина под действием ФЛА<sub>2</sub> с применением метода ТСХ.

### Экспериментальная часть

**Реактивы.** В работе использовали соевый лецитин (ОАО «ЭФКО», Российская Федерация), ферментный препарат ФЛА<sub>2</sub> (ООО «ИЦ «Бирюч-НТ», Российская Федерация), кальция хлорид (х.ч.; ОАО «Белреахим», Республика Беларусь), натрия ацетат тригидрат (х.ч.; ОАО «Белреахим», Республика Беларусь), хлороформ (х.ч.; АО «ЭКОС-1», Российская Федерация), метанол (х.ч.; Sigma-Aldrich, США), аммония гидроксид (х.ч.; ООО «Сигма Тек», Российская Федерация).

Получение эмульсии соевого лецитина. Для получения эмульсии использовали соевый лецитин и 0.1 М ацетатный буферный раствор (pH 5.7) в соотношении 20 : 80 масс. %. Перемешивание смеси обеспечивали погружной лопастной мешалкой (Daihan Scientific, Корея) при скорости вращения от 200 до 450 об/мин и температуре 50°C.

Проведение ферментативной реакции. После образования устойчивой эмульсии реакцию запускали добавлением ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> в количестве 2% и раствора CaCl<sub>2</sub> до конечной концентрации 10 мМ. Ферментативную реакцию проводили в течение 2 ч при температуре 50°C и 450 об/мин.

ТСХ-анализ. Отбор проб из реакционной смеси осуществляли через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>. Навеску массой 17.5±0.5 мг растворяли в 0.5 см<sup>3</sup> смеси хлороформ : метанол (0.4 : 0.1, об/об). Полученный раствор объемом 5 мм<sup>3</sup> наносили капилляром на линию старта пластинки TLC Silica gel 60 (Merck, Германия). После испарения смеси растворителей пластинку помещали в хроматографическую камеру и проводили элюирование в системе хлороформ : метанол : аммония гидроксид в соотношении 6.5 : 2.5 : 0.4 (об/об/об). Разделение компонентов реакционной смеси завершали при достижении элюентом линии финиша, расположенной на высоте 1 см от верхнего края пластинки. Затем сушили пластинку на воздухе и проявляли пятна в парах йода.

Денситометрическое определение. После проявления пятен в парах йода пластинку сканировали, а полученное изображение обрабатывали с помощью специальной программы «Денситометр Sorbfil» (ЗАО «Сорбполимер», Российская Федерация), версия 2.0 ([http://www.sorbfil.com/dens\\_download.htm](http://www.sorbfil.com/dens_download.htm)), которая позволяет не только идентифицировать фосфолипиды и их лизоформы по величине R<sub>f</sub>, но и одновременно проводить расчеты по содержанию

этих соединений [16]. Принцип работы программы состоит в построении аналоговой кривой хроматограммы по отклонению яркости пятен от яркости фона пластинки с последующим нахождением пиков на этой кривой [1]. При этом площадь пика пропорциональна количеству вещества в пятне [15].

Следует отметить, что определение R<sub>f</sub> с помощью программы дает более точные результаты, поскольку в данном случае центром пятна считается область с максимальной интенсивностью окрашивания. В случае размытых зон неправильной формы такое определение центра является более точным, чем при визуальной оценке, так как истинный центр зоны неправильной формы не совпадает с геометрическим [1].

Определение степени гидролиза. Эффективность протекания ферментативной реакции оценивали по степени гидролиза (α, %) преобладающего в соевом лецитине фосфолипида:

$$\alpha = \left( \frac{N_0 - N_t}{N_0} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

где N<sub>0</sub> – количество ФХ в пятне в начальный момент времени (до внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>); N<sub>t</sub> – количество ФХ в пятне в момент времени t (после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>).

### Обсуждение результатов

Хроматограмма соевого лецитина и продуктов его гидролиза под действием ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> приведена на рис. 4.

Идентификацию фосфолипидов и их лизоформ проводили путем сравнения полученных величин R<sub>f</sub> с литературными данными (табл. 1). При этом следует отметить отличие в величине R<sub>f</sub> для ФЭ от литературных данных, которое может быть обусловлено степенью чистоты органических растворителей и аммония гидроксида, используемых для приготовления элюирующей смеси, поскольку известно [19], что относительная скорость

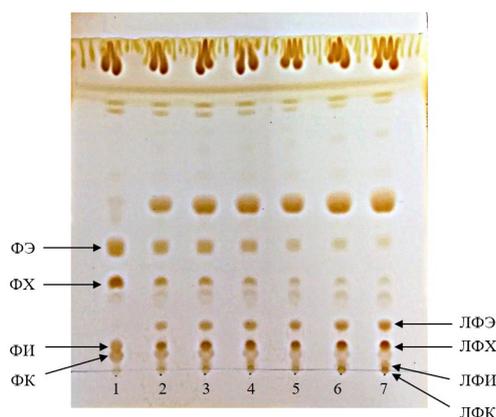


Рис. 4. Хроматограмма соевого лецитина и продуктов его гидролиза: 1 – до внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>; 2 – через 10 мин; 3 – через 20 мин; 4 – через 30 мин; 5 – через 60 мин; 6 – через 90 мин; 7 – через 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>

Fig. 4. Chromatogram of soy lecithin and its hydrolysis products: 1 – before adding the enzyme preparation PLA<sub>2</sub>; 2 – after 10 minutes; 3 – after 20 minutes; 4 – after 30 minutes; 5 – after 60 minutes; 6 – after 90 minutes; 7 – 120 minutes after adding the enzyme preparation PLA<sub>2</sub>

Таблица 1. Величины R<sub>f</sub> фосфолипидов и их лизоформ

Table 1. R<sub>f</sub> values of phospholipids and their lysoforms

Фосфолипиды соевого лецитина и их лизоформы	Элюирующая смесь хлороформ : метанол : аммония гидроксид		
	6.5 : 2.5 : 0.4 [собственные результаты]	6.5 : 2.5 : 0.4 [17]	6.5 : 2.5 : 0.5 [18]
ФЭ	0.38	0.55	0.41
ФХ	0.27	0.30	0.33
ЛФЭ	0.14	0.20	0.20
ФИ	0.09	0.10	0.11
ЛФХ	0.08	0.08	0.08
ФК	0.05	0.05	0.05
ЛФИ	0.03	0.03	–
ЛФК	0.01	0.01	0.05

Таблица 2. Значения площадей пиков ФХ, характеризующие изменения его содержания в процессе ферментативной реакции (n=3, P=0.95)

Table 2. Values of PC peak areas characterising changes in its content during the enzymatic reaction (n=3, P=0.95)

Продолжительность ферментативной реакции, мин	Площадь пика ФХ, усл. ед.
0	220 539
10	100 170
20	96 937
30	67 672
60	40 557
90	34 795
120	27 701

перемещения индивидуальных фосфолипидов существенно зависит от незначительных изменений полярности элюента.

Как видно из хроматограммы, в анализируемой смеси до ферментативной реакции присутствуют ФХ, ФЭ, ФИ и ФК

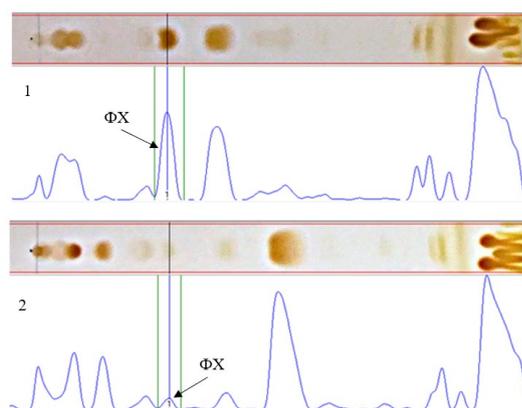


Рис. 5. Аналоговые кривые треков на хроматограмме соевого лецитина и продуктов его гидролиза: 1 – до внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>; 2 – через 120 мин после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub>

Fig. 5. Analogue track curves on the chromatogram of soy lecithin and its hydrolysis products: 1 – before adding the enzyme preparation PLA<sub>2</sub>; 2 – 120 minutes after adding the enzyme preparation PLA<sub>2</sub>

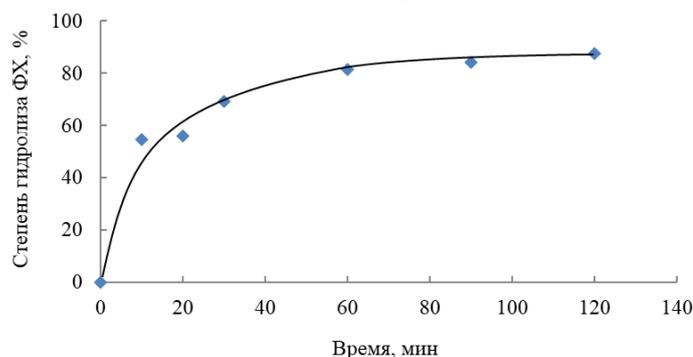


Рис. 6. Зависимость степени гидролиза ФХ от продолжительности ферментативной реакции

Fig. 6. Dependence of the degree of PC hydrolysis on the duration of the enzymatic reaction

(трек 1), содержание которых после внесения ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> уменьшается за счет образования ЛФХ, ЛФЭ, ЛФИ и ЛФК соответственно (треки 2-7).

Для расчета степени гидролиза ФХ использовали значения площадей его пиков на аналоговых кривых треков (табл. 2 и рис. 5).

Исходя из данных табл. 2, получили зависимость степени гидролиза ФХ от продолжительности ферментативной реакции (рис. 6). Установлено, что интенсивное превращение ФХ в ЛФХ под действием ферментного препарата ФЛА<sub>2</sub> наблюдается в течение 60 мин ( $\alpha=82\%$ ). Дальнейшая конверсия ФХ происходит незначительно: по истечении 90 мин –

84%, после 120 мин – 87%, что обусловлено ингибированием активности фермента конечным продуктом реакции.

### Заключение

Полученные результаты показали, что применение метода ТСХ в сочетании с программными средствами обработки данных визуализации позволяет не только осуществить идентификацию фосфолипидов и их лизоформ, но и наблюдать за изменением их количественного состава в процессе ферментативной реакции для последующего определения степени гидролиза соевого лецитина. При этом важно отметить, что главным преимуществом метода ТСХ при

анализе продуктов гидролиза соевого лецитина является высокая разрешающая способность в отличие от метода ВЭЖХ, который, как отмечено в работе [20], не дает возможности эффективно разделить лизофосфолипиды.

### Список литературы/References

1. Zharkova I.M., Rudakov O.B., Poljanskij K.K., Rosljakov Ju.F. Lecitiny v tehnologijah produktov pitanija. Voronezh, VGUIT, 2015, 256 p. (In Russ.)

2. Hwang H., Chun H., Kim D., Shin M., Kim Y., In S., Kim T., Kang N., Lysophosphatidylcholine exerts an anti-skin photoaging effect via heat shock protein 70 induction, *J. Cosmet. Dermatol.*, 2021; 20(12): 4060-4067. <https://doi.org/10.1111/jocd.14068>

3. Ahmmed M.K., Hachem M., Ahmmed F., Rashidinejad A., Oz F., Bekhit A.A., Carne A., Bekhit A.E.-D.A., Marine fish-derived lysophosphatidylcholine: properties, extraction, quantification, and brain health application, *Molecules*, 2023; 28(7): 3088. <https://doi.org/10.3390/molecules28073088>

4. Brautigam D.L., Li R., Kubicka E., Turner S.D., Garcia J.S., Weintraut M.L., Wong E.A., Lysolecithin as feed additive enhances collagen expression and villus length in the jejunum of broiler chickens, *Poult. Sci.*, 2017; 96(8): 2889-2898. <https://doi.org/10.3382/ps/pex078>

5. Wu Y., Wang T., Soybean lecithin fractionation and functionality, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2003; 80(4): 319-326. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0697-x>

6. Murakami M., Taketomi Y., Sato H., Yamamoto K., Secreted phospholipase A<sub>2</sub> revisited, *J. Biochem.*, 2011; 150(3): 233-255. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr088>

7. Ivanusec A., Sribar J., Krizaj I., Secreted phospholipases A<sub>2</sub> – not just enzymes: revisited, *Int. J. Biol. Sci.*, 2022; 18(2): 873-888. <https://doi.org/10.7150/ijbs.68093>

8. Kim R.R., Chen Z., Mann T.J., Bastard K., Scott K.F., Church W.B., Structural and functional aspects of targeting the secreted

### 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.

human group IIA phospholipase A<sub>2</sub>, *Molecules*, 2020; 25(19): 4459. <https://doi.org/10.3390/molecules25194459>

9. Jain M.K., Berg O.G., Coupling of the i-face and the active site of phospholipase A<sub>2</sub> for interfacial activation, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2006; 10(5): 473-479. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.08.015>

10. Alekseeva A.S., Boldyrev I.A., Fosfolipaza A<sub>2</sub>. Metody monitoringa aktivnosti, *Biologicheskie membrany: Zhurnal membrannoj i kletочноj biologii*, 2020; 37(5): 323-336. <https://doi.org/10.31857/S0233475520050035> (In Russ.)

11. Litvinko N.M., Gidroliz UF-inducirovannogo perekisno-okislennogo fosfatidilholina fosfolipazami raznoj substratnoj specifichnosti, *Izvestija Nacional'noj akademii nauk Belarusi. Serija himicheskikh nauk*, 2021; 57(2): 195-205. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-195-205> (In Russ.)

12. Mouchlis V.D., Bucher D., McCammon J.A., Dennis E.A., Membranes serve as allosteric activators of phospholipase A<sub>2</sub>, enabling it to extract, bind, and hydrolyze phospholipid substrates, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015; 112(6): 516-525. <https://doi.org/10.1073/pnas.1424651112>

13. Safonova E.F., Nazarova A.A., Selmenev V.F., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., Vybór optimal'nyh parametrov razdelenija fosfolipidov v tonkom sloe sorbenta, *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2002; 36(4): 41-43. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2002-36-4-41-43> (In Russ.)

14. Dynska-Kukulska K., Ciesielski W., Methods of extraction and thin-layer chromatography determination of phospholipids in biological samples, *Rev. Anal. Chem.*, 2012; 31(1): 43-56. <https://doi.org/10.1515/revac-2011-0030>



15. Kogan Ju.D., Gol'cberg M.A., Otechestvennoe oborudovanie dlja kolichestvennoj tonkoslojnoj hromatografii, *Rossijskij himicheskij zhurnal*, 2003; 47(1): 136-140. (In Russ.)
16. Maljavina V.V., Primenenie programmnyh sredstv vizualizacii i obrabotki dannyh TSH-analiz pri proizvodstve fosfolipidnyh produktov, *Farmacija*, 2003; 2: 26-30. (In Russ.)
17. Avanti Polar Lipids. TLC solvent systems – lipid migration. Available at: <https://avantilipids.com/tech-support/analytical-procedures/tlc-solvent-systems> (accessed 4 May 2023).
18. Kates M. Tehnika lipidologii. Vydelenie, analiz i identifikacija lipidov. M., Mir Publ., 1975, 322 p.
19. Sikorskaja A.S., Nazarova A.A., Sel'emenev V.F., Podbor optimal'nyh uslovij razdelenija fosfolipidnyh kompleksov, poluchennyh iz semjan podsolnechnika, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2009; 9(2): 215-220. (In Russ.)
20. Helmerich G., Koehler P., Comparison of methods for the quantitative determination of phospholipids in lecithins and flour improvers, *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(23): 6645-6651. <https://doi.org/10.1021/jf0345088>

### Информация об авторах / Information about the authors

**В.Н. Леонтьев** – заведующий кафедрой биотехнологии, к.х.н., Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

**О.С. Игнатовец** – доцент кафедры биотехнологии, к.б.н., Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

**О.И. Лазовская** – ведущий инженер кафедры биотехнологии, Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

**Я.Л. Страх** – ассистент кафедры биотехнологии, Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

**V.N. Leontiev** – Head of the Department of Biotechnology, Ph.D. (Chemistry), Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus, e-mail: [leontiev@belstu.by](mailto:leontiev@belstu.by)

**O.S. Ignatovets** – Associate Professor of the Department of Biotechnology, Ph.D. (Biology), Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

**O.I. Lazovskaya** – Lead Engineer of the Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

**Ya.L. Strakh** – Assistant of the Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

*Статья поступила в редакцию 30.05.2023; получена после исправлений 13.09.2023; одобрена после рецензирования 19.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.*

*The article was submitted 30.05.2023; received after corrections on 13.09.2023; approved after reviewing 19.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.*



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723.2:577.325

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12025

### Физико-химические и кинетические свойства коллагеназы, нативной и адсорбированной на хитозане

Виктория Александровна Королева<sup>1,2</sup>, Анастасия Николаевна Дубовицкая<sup>1</sup>,  
Татьяна Николаевна Беляева<sup>1</sup>, Марина Геннадьевна Холявка<sup>1,3</sup>✉,  
Валерий Григорьевич Артюхов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, holyavka@rambler.ru✉

<sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

<sup>3</sup>Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

**Аннотация.** Одним из актуальных направлений биотехнологии и медицины является разработка высокостабильных биопрепаратов на основе иммобилизованных ферментов. Методом сорбционной иммобилизации были получены гетерогенные биокатализаторы на основе коллагеназы (КФ 3.4.24.3) из *Clostridium histolyticum* и среднемoleкулярного (200 кДа) и высокомолекулярного (350 кДа) хитозанов. Целью работы являлось изучение физико-химических и кинетических свойств свободной и иммобилизованной на матрице хитозана коллагеназы из *Clostridium histolyticum*.

Классическими биофизическими и биохимическими методами были изучены физико-химические и кинетические свойства энзима в растворимом и иммобилизованном состояниях. Показано, что у нативной коллагеназы максимальная активность наблюдается при 37°C, а у иммобилизованного на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах фермента – при 40°C. Сорбционная иммобилизация биокатализатора на матрице хитозанов способствовала повышению его стабильности при инкубации в диапазоне температур 40-70°C. После инкубации при 80 и 90 °C не были выявлены существенные различия в активности растворимой и иммобилизованной коллагеназы. При исследовании зависимости протеазной активности фермента от кислотности среды в диапазоне pH от 5.0 до 9.0 было установлено, что максимум каталитической способности растворимой коллагеназы наблюдается при значении pH, равном 7.5. Иммобилизованный на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах биокатализатор оказался высокоактивным при pH 6.0-7.5. Каталитическая способность фермента в свободном и адсорбированном состояниях заметно снизилась при pH 8.0, а при pH 9.0 растворимая и иммобилизованная на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах коллагеназа была полностью инактивирована. Максимальная скорость ферментативной реакции нативного и иммобилизованного на хитозане биокатализаторов наблюдалась при концентрации субстрата, равной 0.04 mM. Был произведен расчет кажущихся значений  $V'_{max}$  и  $K'_m$ . Иммобилизация коллагеназы на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах не привела к снижению максимальной скорости реакции и изменению степени сродства фермента к субстрату.

Используя метод динамического светорассеяния, мы подтвердили, что структура коллагеназы в растворе наиболее устойчива при pH 7.0-8.0, так как именно в данном диапазоне значений  $[H^+]$  выявлено наибольшее содержание частиц, соответствующих размеру нативной коллагеназы, и наименьшее содержание ее агрегатов. Оптимальной температурой, при которой коллагеназа была наиболее стабильна (отсутствовали процессы автолиза, а агрегация частиц была минимальна), можно считать 46°C.

**Ключевые слова:** коллагеназа, хитозан, иммобилизация, физико-химические свойства, кинетические свойства.

**Благодарности:** исследование выполнено при финансовой 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: Королева В.А., Дубовицкая А.Н., Беляева Т.Н., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Физико-химические и кинетические свойства коллагеназы, нативной и адсорбированной на хитозане // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 1. С. 128-138. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12025>

Original article

## Physicochemical and kinetic properties of collagenase, native and adsorbed on chitosan

Victoria A. Koroleva<sup>1,2</sup>, Anastasia N. Dubovitskaya<sup>1</sup>, Tatyana N. Belyaeva<sup>1</sup>,  
Marina G. Holyavka<sup>1,3</sup>✉, Valery G. Artyukhov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russia, holyavka@rambler.ru ✉

<sup>2</sup>Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

<sup>3</sup>Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

**Abstract.** One of the modern research areas in biotechnology and medicine is the development of highly stable biopreparations based on immobilized enzymes. Using the method of sorption immobilization, heterogeneous biocatalysts were obtained based on collagenase (EC 3.4.24.3) from *Clostridium histolyticum* and from medium molecular weight (200 kDa) and high molecular weight (350 kDa) chitosans. The goal of the work was to study the physicochemical and kinetic properties of free and immobilized collagenase from *Clostridium histolyticum* on a chitosan matrix.

The physicochemical and kinetic properties of the enzyme were studied in soluble and immobilized states using classical biophysical and biochemical methods. It was shown that the maximum activity of native collagenase was observed at 37°C, while in case of the enzyme immobilized on medium and high molecular weight chitosan it was observed at 40°C. Sorption immobilization of the biocatalyst on a chitosan matrix allowed increasing its stability during incubation within the temperature range of 40-70°C. After incubation at 80 and 90°C, no significant differences in the activity of soluble and immobilized collagenase were found. When studying the dependence of the protease activity of the enzyme on the medium acidity in the pH range from 5.0 to 9.0, it was established that the maximum catalytic ability of soluble collagenase was observed at a pH value of 7.5. The biocatalyst immobilized on medium and high molecular weight chitosans was highly active at pH 6.0-7.5. The catalytic ability of the enzyme in free and in adsorbed states noticeably decreased at pH 8.0, while at pH 9.0 soluble collagenase immobilized on medium and high molecular weight chitosans was completely inactive. The maximum rate of the enzymatic reaction of native and chitosan-immobilized biocatalysts was observed at a substrate concentration of 0.04 mM. Apparent values of  $V'_{max}$  and  $K'_m$  were calculated. The immobilization of collagenase on medium and high molecular weight chitosans did not result in a decrease of the maximum reaction rate or a change in the degree of affinity of the enzyme to the substrate.

Using dynamic light scattering, we confirmed that the structure of collagenase in solution was most stable at pH 7.0-8.0, as exactly in this range of  $[H^+]$  values we discovered the highest content of particles corresponding to the size of native collagenase and the lowest content of its aggregates. The optimal temperature for the best stability value of collagenase (no autolysis processes and minimal particle aggregation) can be considered as being 46°C.

**Keywords:** collagenase, chitosan, immobilization, physicochemical properties, kinetic properties.

**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 No. FZGU-2023-0009.

**For citation:** Koroleva V.A., Dubovitskaya A.N., Belyaeva T.N., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. Physicochemical and kinetic properties of collagenase, native and adsorbed on chitosan. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2024. 24(1): 128-138. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12025>

### Введение

Коллагены являются основными структурными белками в тканях человека, включая сухожилия и кожу [1].

Кроме того, коллагены обычно используются в качестве основного белка в напитках, пищевых продуктах, лекарствах и косметических средствах. Некоторые

важные пептиды, имеющие большое значение в фармацевтике и промышленности, были получены в результате гидролиза коллагена под действием коллагеназ [2, 3].

Коллагеназы (КФ 3.4.24.3) из *Clostridium histolyticum* являются наиболее детально изученными. Культуральный фильтрат *C. histolyticum* содержит смесь коллагеназ и других протеиназ, обладающих мощной гидролитической активностью в отношении соединительной ткани [4].

И. Мандл и его коллеги [5, 6] впервые попытались выделить коллагеназу из *C. histolyticum*. Впоследствии этот препарат был назван клостридиопептидазой А. Более поздние исследования показали, что культуральный фильтрат содержал несколько типов коллагеназ [7-14]. Семь типов коллагеназ с молекулярными массами от 68 до 130 кДа были очищены до гомогенного состояния [14] и охарактеризованы [13, 15]. Они были обозначены как коллагеназы класса I ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\eta$ ) и класса II ( $\delta$ ,  $\epsilon$  и  $\zeta$ ) на основании различных критериев, включая их каталитическую активность в отношении коллагена по сравнению с синтетическими пептидными субстратами.

Известно, что микробная коллагеназа проявляет оптимальные значения активности при температуре 37°C и pH 7.5. При крайних значениях кислотности среды (5.0 и 11.0) фермент сохраняет 35 % от максимальной каталитической способности [8, 16-18].

Одним из актуальных направлений промышленности, биотехнологии и медицины является получение высокостабильных гетерогенных биопрепаратов на основе иммобилизованных ферментов. Было разработано множество методов иммобилизации: от физической адсорбции и ковалентного связывания до улавливания в полимерах и золь-гелях. Известно, что из-за образования связей с носителем претерпевают изменения фи-

зико-химические и кинетические характеристики биокатализатора. Количество инактивирующих механизмов для иммобилизованных ферментов существенно меньше, чем для интактных ферментов [19, 20]. Наиболее значимыми модификациями являются стабильность фермента, стерические и конформационные эффекты, кинетические особенности, диффузионные эффекты и эффекты переноса [21]. Иммобилизация позволяет проводить целевые процессы при повышенной концентрации субстрата [22]. Молекулы носителя создают микроокружение, в котором фермент может выполнять свою функцию [23, 24].

Среди различных полимеров для иммобилизации ферментов часто используют следующие полисахариды: целлюлозу, хитозан, альгинат и их производные [25-28]. С использованием технологии Nanospider были получены электропряденные нановолокна хитозана, биофункционализированные микробной коллагеназой. Характеристика нановолокон хитозана с коллагеназой с точки зрения кажущихся констант Михаэлиса-Ментен показала более высокое сродство фермента к субстрату по сравнению с растворимой формой коллагеназы. Полученные в результате новые коллагеназные нановолокна хитозана обладали высокой стабильностью и длительным сроком хранения в течение не менее 6 недель. Путем ковалентной иммобилизации были получены высокостабильные комплексы коллагеназы из *Clostridium histolyticum* с биосовместимыми нановолокнами хитозана и наночастицами хитозана/триполифосфата [29]. Были синтезированы магнитно-сшитые гибридные наноматериалы коллагеназа-металл. Полученный нанобиокатализатор продемонстрировал значительное улучшение своих характеристик, включая возможность повторного использования, низкую степень выщелачивания белка, термическую стабильность и стабильность при хранении,



каталитическую эффективность и устойчивость к ингибиторам и органическим растворителям [30].

Целью работы являлось изучение физико-химических и кинетических свойств свободной и адсорбированной на матрице хитозана коллагеназы из *Clostridium histolyticum*.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования была выбрана коллагеназа из *Clostridium histolyticum* фирмы «Sigma» (США). В качестве носителей использовали среднемолекулярный ( $M_r=200$  кДа, степень деацетилирования – 82%) и высокомолекулярный ( $M_r=350$  кДа, СД=95%) хитозаны, синтезированные ЗАО «Биопрогресс» (Россия).

Иммобилизацию коллагеназы на матрице хитозана осуществляли адсорбционным методом с использованием 0.05 М глицинового буфера со значением pH 9.5. Для определения каталитической способности в качестве субстрата использовали азоказеин [31].

Размеры молекул коллагеназы измеряли на приборе Nano Zetasizer ZS (Malvern Instruments). Обратный рассеянный свет от He/Ne-лазера мощностью 4 мВт (632.8 нм) собирали под углом  $173^\circ$  [32].

Все экспериментальные исследования осуществляли в 8-кратной повторности. Статистическая обработка полученных результатов проводилась традиционным способом при уровне значимости 5 % с использованием t-критерия Стьюдента.

### Обсуждение результатов

Важными характеристиками энзимов, определяющими их каталитическую активность, являются оптимальные для их функционирования диапазоны температуры, pH и концентрации субстрата.

Значения каталитической активности свободной и иммобилизованной на матрице хитозана коллагеназы в зависимости от температуры (в диапазоне от 25 до

$90^\circ\text{C}$ ) представлены на рис. 1. В ходе экспериментов было установлено, что для растворимой коллагеназы максимальная активность наблюдается при  $37^\circ\text{C}$ , а для иммобилизованной на среднемолекулярном и высокомолекулярном хитозанах – при  $40^\circ\text{C}$ . При проведении реакции гидролиза азоказеина при  $70^\circ\text{C}$  фермент, сорбированный на высокомолекулярном и среднемолекулярном хитозанах, оказался стабильнее нативного – сохранялось соответственно 65, 58 и 53% от каталитической способности при оптимальных условиях функционирования биокатализатора.

Результаты исследований показали, что максимум активности нативного фермента наблюдается при значении pH, равном 7.5. Иммобилизованная на среднемолекулярном и высокомолекулярном хитозанах коллагеназа оказалась высокоактивной в диапазоне pH от 6.0 до 7.5. Каталитическая способность фермента в свободном и иммобилизованном состоянии заметно снизилась при pH 8.0. При pH 9.0 растворимая и иммобилизованная на среднемолекулярном и высокомолекулярном хитозанах коллагеназа была полностью инактивирована (рис. 2).

Исследования по определению оптимальной концентрации субстрата проводились в диапазоне концентраций азоказеина от 0.0001 до 1 мМ. Зависимость каталитической активности свободной и сорбированной на матрицах среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов коллагеназы представлена на рис. 3. Максимальная скорость реакции у нативного и иммобилизованного на хитозане препаратов наблюдалась при концентрации субстрата, равной 0.04 мМ, при дальнейшем увеличении концентрации азоказеина до 1 мМ не было выявлено статистически достоверных изменений в скорости ферментативного катализа.

Одной из главных характеристик фермента является степень его сродства к субстрату. Иммобилизация энзима на нерастворимых носителях, как правило,

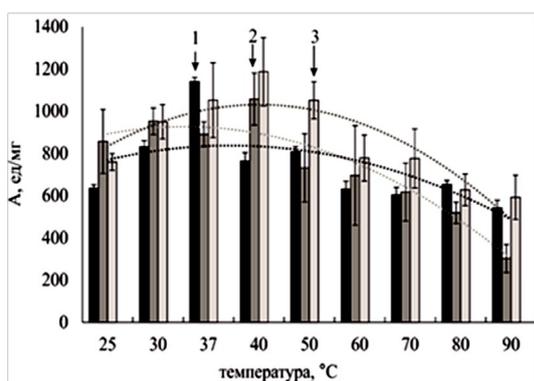


Рис. 1. Зависимость удельной каталитической активности коллагеназы (ед/мг белка) от температуры инкубации: 1 – свободная коллагеназа, 2 – коллагеназа, адсорбированная на среднемoleкулярном хитозане, 3 – коллагеназа, адсорбированная на высокомолекулярном хитозане

Fig. 1. Dependence of specific catalytic activity of collagenase (units/mg of protein) on the temperature of incubation, where 1 is free collagenase, 2 is collagenase adsorbed on medium molecular weight chitosan, and 3 is collagenase adsorbed on high molecular weight chitosan

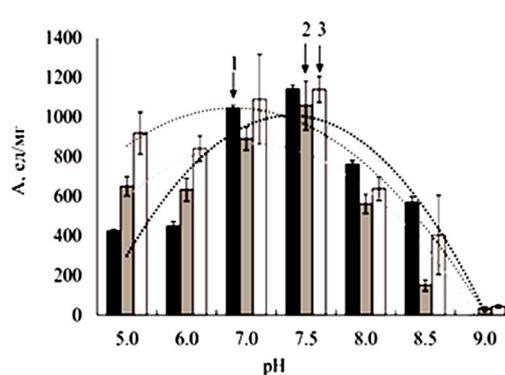


Рис. 2. Зависимость удельной каталитической активности коллагеназы (ед/мг белка) от pH среды: 1 – свободная коллагеназа, 2 – коллагеназа, адсорбированная на среднемoleкулярном хитозане, 3 – коллагеназа, адсорбированная на высокомолекулярном хитозане

Fig. 2. Dependence of specific catalytic activity of collagenase (units/mg of protein) on the medium pH, where 1 is free collagenase, 2 is collagenase adsorbed on medium molecular weight chitosan, and 3 is collagenase adsorbed on high molecular weight chitosan

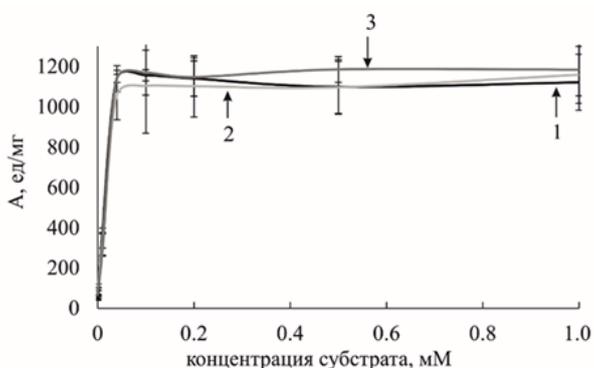


Рис. 3. Зависимость удельной каталитической активности коллагеназы (ед/мг белка) от концентрации субстрата, где 1 – свободная коллагеназа, 2 – коллагеназа, адсорбированная на среднемoleкулярном хитозане, 3 – коллагеназа, адсорбированная на высокомолекулярном хитозане

Fig. 3. Dependence of specific catalytic activity of collagenase (units/mg of protein) on the substrate concentration, where 1 is free collagenase, 2 is collagenase adsorbed on medium molecular weight chitosan, and 3 is collagenase adsorbed on high molecular weight chitosan

способствует изменению кинетических параметров ферментативного катализа. Основываясь на результатах предыдущих экспериментов, нами были определены кажущиеся значения константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции гидролиза азоказеина свободной и адсор-

бированной коллагеназой, которые представлены в табл. 1. Иммунизация коллагеназы на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах не привела к снижению значений  $V'_{max}$  и изменению степени сродства фермента к субстрату.

Влияние кислотности среды на процессы агрегации молекул коллагеназы

Таблица 1. Кинетические свойства нативной и иммобилизованной коллагеназы  
 Table 1. Kinetic properties of native and immobilized collagenase

Препарат	$V'_{max}$ , мкМ/(мг·мин)	$K'_m$ , мкММ
Свободная коллагеназа	1400±80	14.0±0.2
Коллагеназа + среднемолекулярный хитозан	1250±90	11.0±0.3
Коллагеназа + высокомолекулярный хитозан	1400±70	14.0±0.2

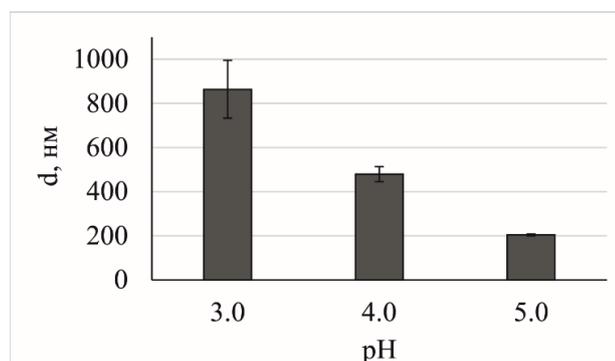


Рис. 4. Средний размер частиц крупных агрегатов коллагеназы при pH 3.0-5.0  
 Fig. 4. Average particle size of large aggregates of collagenase at pH 3.0-5.0

было исследовано в диапазоне значений pH 3.0-13.0 методом динамического светорассеяния. Нами было выделено 4 размерных группы (кластера) частиц, присутствующих в исследуемой системе. Частицы первой группы с радиусом менее 5 нм, вероятно, соответствуют продуктам автолиза коллагеназы, второй группы с радиусом 5-10 нм – нативной коллагеназе, третьей группы с радиусом 10-40 нм – мелким агрегатам, четвертой группы с радиусом 80 нм – крупным агрегатам молекул энзима. Частицы с радиусом 40-80 нм не были нами детектированы в условиях эксперимента, поэтому мы не стали выделять их в отдельную группу.

Значения размеров частиц коллагеназы в зависимости от кислотности среды отображены на рис. 4-6. За диаметр нативной коллагеназы принимали диапазон между 5 и 10 нм, выбранный на основе модели пространственной структуры фермента [33].

При pH 3.0-5.0 наблюдалось присутствие исключительно крупных агрегатов коллагеназы (рис. 4). Так, при значении водородного показателя, равного 3.0, средний диаметр наблюдаемых частиц

составил 863.9±130.7 нм, при pH 4.0 – 478.9±34.2 нм, при 5.0 – 204.3±4.3 нм.

Мелкие агрегаты наблюдались при значениях pH от 6.0 до 13.0 (рис. 5). Максимальное их содержание было выявлено при pH 6.0 (58%) со средним размером 11.2±0.4 нм, затем, при pH 7.0 и 8.0, их количество снизилось до 20 и 23% (соответствующий средний размер – 11.8±1.5 и 12.9±1.5 нм). При pH 9.0 содержание мелких агрегатов вновь возросло до 40% (размер частиц составил 13.2±0.6 нм), а затем снизилось до 33% при pH 10.0 и 11.0 (средний размер частиц – 12.3±0.7 и 13.3±2.5 нм). При pH 12.0 средний размер частиц данной группы был максимален и составил 13.3±2.5 нм, а всего частиц данной группы при названном значении pH среды зарегистрировано 53%. При pH 13.0 количество частиц, соответствующих по размеру мелким агрегатам, также было равно 53%, и их средний размер составил 13.3±1.4 нм. Обобщая полученные результаты, можно сказать, что процесс образования мелких агрегатов (10-40 нм) протекает наиболее интенсивно при pH 6.0, далее количество таких агрегатов

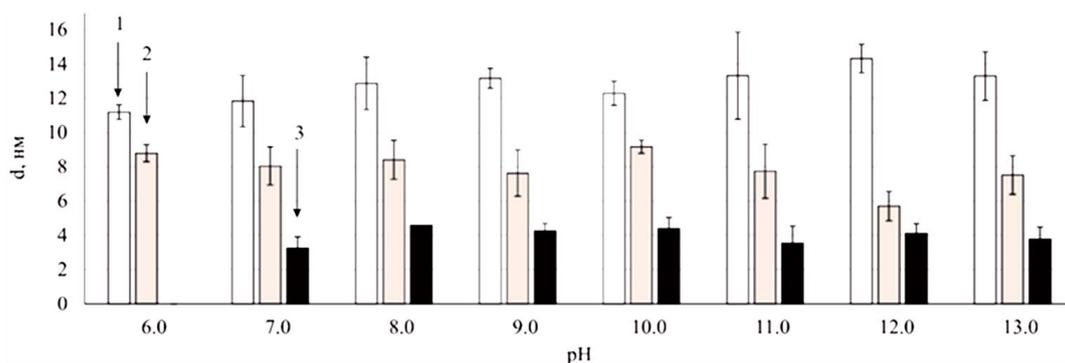


Рис. 5. Средний размер частиц мелких агрегатов (1), нативной коллагеназы (2) и продуктов автолиза (3) при pH 6.0-13.0

Fig. 5. Average particle size of small aggregates (1) of native collagenase (2) and autolysis products (3) at pH 6.0-13.0

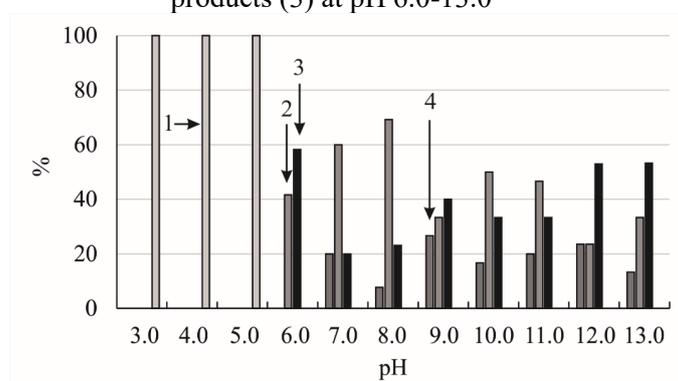


Рис. 6. Процентное содержание частиц коллагеназы, принадлежащих разным кластерам в зависимости от значений pH среды, где 1 – крупные агрегаты, 2 – нативная коллагеназа, 3 – мелкие агрегаты, 4 – продукты автолиза

Fig. 6. Percentage of collagenase particles that belong to different clusters depending on pH medium values, where 1 is large aggregates, 2 is native collagenase, 3 is small aggregates, and 4 is autolysis products

снижается при pH 7.0-8.0, а затем вновь возрастает при подщелачивании среды.

Содержание частиц, соответствующих размеру нативной коллагеназы, возрастало при pH 6.0-8.0 (с 42%, размер  $8.8 \pm 0.5$  нм, до 69%, размер  $8.4 \pm 1.1$  нм), затем в целом снижалось, достигая минимума при значении pH 12.0-24% со средним размером частиц  $5.7 \pm 0.9$  нм. Наибольшее содержание частиц данной группы выявлено при значениях pH 7.0-8.0.

Продукты автолиза не были детектированы при значении pH 6.0. При pH 8.0 их было зарегистрировано 8% от общего количества частиц в системе, а размер составил  $4.19 \pm 0.89$  нм. При значении pH 9.0 наблюдался наибольший процент продуктов автолиза (27%, средний размер частиц –  $4.26 \pm 0.43$  нм).

В диапазоне значений pH 3.0-5.0 были зарегистрированы частицы, соответствующие по размеру крупным агрегатам молекул коллагеназы, тогда как при pH 7.0-13.0 наблюдались как процессы агрегации, так и процессы автолиза (рис. 6).

Таким образом, результаты, полученные методом динамического светорассеяния, показывают, что структура коллагеназы в растворе наиболее устойчива при pH 7.0-8.0, так как именно в данном диапазоне значений выявлено наибольшее содержание частиц, соответствующих по размеру молекулам нативной коллагеназы, и наименьшее содержание ее мелких агрегатов. Кроме того, при pH 8.0 наблюдалась крайне малая интенсивность процессов автолиза.

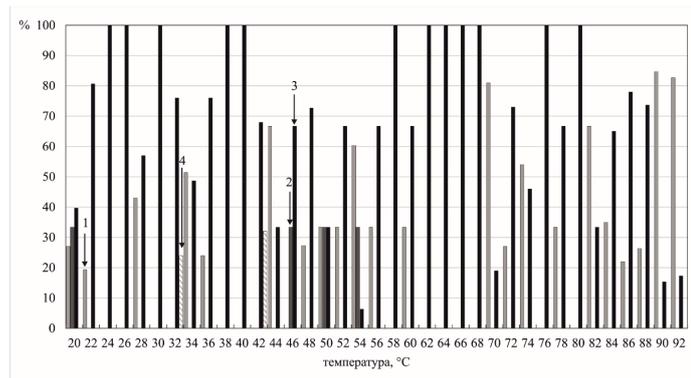


Рис. 7. Процентное содержание частиц коллагеназы, принадлежащих разным кластерам в зависимости от температуры инкубации, где 1 – продукты автолиза, 2 – нативный фермент, 3 – мелкие агрегаты, 4 – крупные агрегаты

Fig. 7. Percentage of collagenase particles that belong to different clusters depending on the temperature of incubation where 1 is large aggregates, 2 is native enzyme, 3 is small aggregates, and 4 is large aggregates

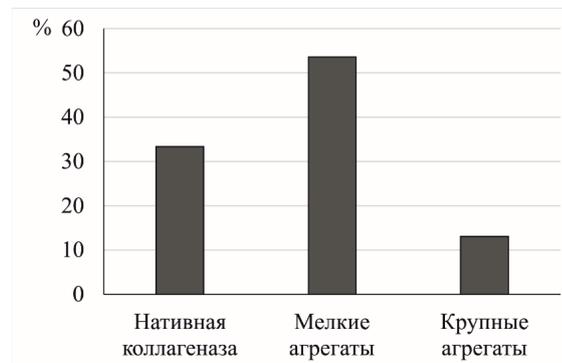


Рис. 8. Процентное содержание частиц разных кластеров при температуре 90 °C

Fig. 8. Percentage of particles of different clusters at the temperature of 90 °C

Следующая серия экспериментов была посвящена изучению термостабильности коллагеназы. Проводились исследования размеров частиц путем нагревания раствора коллагеназы от 20 до 92 °C с шагом 2 °C. Согласно полученным данным, процессы автолиза наблюдались в широком диапазоне температур, однако, его интенсивность возросла при температурах 70, 90-92 °C, при этом наличие частиц нативного фермента не было зарегистрировано. Кроме того, в области данных температур снизилось количество мелких агрегатов. Частицы нативной коллагеназы были зарегистрированы при температурах 20, 46, 50, 54 °C. Процессов автолиза не наблюдалось только при 46 °C (рис. 7).

Таким образом, согласно полученным нами результатам, оптимальной температурой, при которой коллагеназа наиболее

стабильна (отсутствуют процессы автолиза, а агрегация частиц минимальна) можно считать 46 °C.

При инкубации коллагеназы при температуре 90 °C (рис. 8) преобладали процессы образования мелких агрегатов со средним размером 33.8±10.6 нм (54%). Нативный фермент со средним размером частиц 9.0±0.6 нм был зафиксирован только в первые 10 минут инкубации. Количество крупных агрегатов составило 13% (средний размер частиц 294.7±15.8 нм).

Согласно вышеизложенным данным, можно предположить, что снижение активности коллагеназы при температуре 90 °C вызвано процессами образования мелких агрегатов.

### Заклучение

Было показано, что для растворимой коллагеназы максимальная активность наблюдается при 37°C, для иммобилизованной коллагеназы на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах – при 40°C. Сорбционная иммобилизация биокатализатора на матрице хитозанов с молекулярными массами 200 и 350 кДа способствовала повышению стабильности фермента в диапазоне температур 40-70°C. При 80 и 90°C не были выявлены существенные различия в активности растворимой и иммобилизованной коллагеназы. При исследовании зависимости протеазной активности фермента от кислотности среды в диапазоне pH от 5.0 до 9.0 было установлено, что максимум каталитической способности растворимой коллагеназы наблюдается при значении pH, равном 7.5. Адсорбированный на

матрице хитозанов энзим оказался высокоактивным в диапазоне pH от 6.0 до 7.5. Иммобилизация коллагеназы на среднемoleкулярном и высокомолекулярном хитозанах не привела к снижению кажущихся значений  $V'_{max}$  и изменению степени сродства фермента к субстрату.

В ходе изучения размеров частиц коллагеназы методом динамического светорассеяния установлено, что фермент в растворе наиболее устойчив при pH 7.0-8.0. Оптимальной температурой, при которой структура биокатализатора наиболее стабильна, можно назвать 46°C.

### Конфликт интересов

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

### Список литературы/References

1. Bhagwat P.K., Dandge P.B., Collagen and collagenolytic proteases: a review, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 2018; 15: 43-55. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.005>
2. Duarte A.S., Correia A., Esteves A.C., Bacterial collagenases – a review, *Crit. Rev. Microbiol.*, 2016; 42: 106-126. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.904270>
3. Alipour H., Raz A., Zakeri S., Djadid N.D., Therapeutic applications of collagenase (metalloproteases): a review, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2016; 6: 975-981. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.017>
4. Seglen P.O. Preparation of isolated rat liver cells. *Methods Cell Biol.* 1976; 13: 29-83. [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(08\)61797-5](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(08)61797-5)
5. Mandl I., MacLennon J.D., Howes E.L., Isolation and characterization of proteinase and collagenase from *Cl. Histolyticum*, *J. Clin. Invest.*, 1953; 32: 1323-1329. <https://doi.org/10.1172/JCI102861>
6. Mandl I., Zipper H., Ferguson L.T., *Clostridium histolyticum* collagenase: its purification and properties, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1958; 74: 465-475. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(58\)90017-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(58)90017-1)
7. Grant N.H., Alburn H.E., Studies on the collagenases of *Clostridium histolyticum*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959; 82: 245-255. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90120-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90120-1)
8. Mandl I., Keller S., Manahan J., Multiplicity of *Clostridium histolyticum* collagenases, *Biochemistry*, 1964; 3: 1737-1741. <https://doi.org/10.1021/bi00899a026>
9. Yoshida E., Noda H., Isolation and characterization of collagenases I and II from *Clostridium histolyticum*, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1965; 105: 562-574. [https://doi.org/10.1016/s0926-6593\(65\)80239-9](https://doi.org/10.1016/s0926-6593(65)80239-9)
10. Kono T., Purification and partial characterization of collagenolytic enzymes from *Clostridium histolyticum*, *Biochemistry*, 1968; 7: 1106-1114. <https://doi.org/10.1021/bi00843a031>
11. Harper E., Kang A.H., Studies on the specificity of bacterial collagenase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1970; 41:



- 482-487. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(70\)90531-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(70)90531-0)
12. Lwebuga-Mukasa J.S., Harper E., Taylor P., Collagenase enzymes from *Clostridium*: characterization of individual enzymes, *Biochemistry*, 1976; 15: 4736-4741. <https://doi.org/10.1021/bi00666a031>
13. Bond M.D., Van Wart H.E., Characterization of the individual collagenases from *Clostridium histolyticum*, *Biochemistry*, 1984; 23: 3085-3091. <https://doi.org/10.1021/bi00308a036>
14. Bond M.D., Van Wart, H.E., Purification and separation of individual collagenases of *Clostridium histolyticum* using red dye ligand chromatography, *Biochemistry*, 1984; 23: 3077-3085. doi: 10.1021/bi00308a035
15. Bond M.D., Van Wart H.E., Relationship between the individual collagenases of *Clostridium histolyticum*: evidence for evolution by gene duplication, *Biochemistry*, 1984; 23: 3092-3099. <https://doi.org/10.1021/bi00308a037>
16. Toledano M., Osorio R., Osorio E., Aguilera F.S., Yamauti M., Pashley D.H., Tay F., Effect of bacterial collagenase on resin-dentin bonds degradation, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2007; 18: 2355-2361. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3161-z>
17. Metzmacher I., Ruth P., Abel M., Friess W., In vitro binding of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, and bacterial collagenase on collagenous wound dressings, *Wound Repair Regen.*, 2007; 15: 549-555. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00263.x>
18. Velmurugan P., Jonnalagadda R.R., Nair B.U., Engineering D-amino acid containing collagen like peptide at the cleavage site of *Clostridium histolyticum* collagenase for its inhibition, *PLoS ONE*, 2015; 10: e0124398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124398>
19. Holyavka M., Artyukhov V., Kovaleva T., Structural and functional properties of inulinases: A review, *Biocatalysis and Biotransformation*, 2016; 34(1): 1-17.
20. Artyukhov V.G., Kovaleva T.A., Kholyavka M.G., Bityutskaya L.A., Grechikina M.V., Thermal inactivation of free and immobilized inulinase, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2010; 46(4): 385-389.
21. 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>
22. Ahmad A., Javed M.R., Ibrahim M., Sajid A., Hussain K., Kaleem M., Fatima H.M., Nadeem H., Methods of enzyme immobilization on various supports, *Materials Research Foundations*, 2019; 44: 1-28. <https://doi.org/10.21741/9781644900079-1>
23. Secundo F., Conformational changes of enzymes upon immobilization, *Chem.Soc. Rev.*, 2013; 42: 6250-6261. <https://doi.org/10.1039/c3cs35495d>
24. Holyavka M.G., Kondratyev M.S., Samchenko A.A., Kabanov A.V., Komarov V.M., Artyukhov V.G., 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>
25. Lyu X., Gonzalez R., Horton A., Li T., Immobilization of enzymes by polymeric materials, *Catalysts*, 2021; 11: 1211. <https://doi.org/10.3390/catal11101211>
26. Holyavka M., Faizullin D., Koroleva V., Olshannikova S., Zakhartchenko N., Zuev Yu., Kondratyev M., Zakharova E., Artyukhov V., Novel biotechnological formulations of cysteine proteases, immobilized on chitosan. Structure, stability and activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021; 180: 161-176. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.016>
27. Trizna E.Yu., Baydamshina D.R., Kholyavka M.G., Sharafutdinov I.S., Hairutdinova A.R., Khafizova F.A., Zakirova E.Yu., Hafizov R.G., Kayumov A.R., Soluble and immobilized papain and trypsin

as destroyers of bacterial biofilms, *Genes and Cells*, 2015; 10(3): 106-112.

28. Baidamshina D.R., Koroleva V.A., Olshannikova S.S., Trizna E.Yu., Bogachev M.I., Artyukhov V.G., Holyavka M.G., Kayumov A.R., Biochemical properties and anti-biofilm activity of chitosan-immobilized papain, *Marine Drugs*, 2021; 19(4): 197. <https://doi.org/10.3390/md19040197>

29. Slovák M., Kratochvilová V., Palarcik J., Metelka R., Dvorakova P., Srbová J., Munzarová M., Bílková Z., Chitosan nanofibers and nanoparticles for immobilization of microbial collagenase, *XXIV International Congress IFATCC*, 2016; 193-198.

30. Badoei-dalfard A., Monemi F., Hasanshahian M., One-pot synthesis and biochemical characterization of a magnetic collagenase nanoflower and evaluation of its biotechnological applications, *Colloids and*

*Surfaces B: Biointerfaces*, 2022; 211: 112302. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112302>

31. Garcia-Carreño F.L., The digestive proteases of langostilla (*Pleuroncodes planipes*, *Decapoda*): their partial characterization, and the effect of feed on their composition, *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.*, 1992; 103: 575-578.

32. Kharat S.J., Density, viscosity and ultrasonic velocity studies of aqueous solutions of sodium acetate at different temperatures, *Journal of Molecular Liquids*, 2008; 140: 10-14. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2007.12.006>

33. Ohbayashi N., Yamagata N., Goto M., Watanabe K., Yamagata Y., Murayama K., *Applied and Environmental Microbiology*, 2012; 78(16): 5839-5844.

#### Информация об авторах / Information about the authors

**В.А. Королева** – м.н.с. кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; ассистент кафедры биологии, Воронежский государственный университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

**А.Н. Дубовицкая** – аспирант кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Т.Н. Беляева** – аспирант кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**М.Г. Холявка** – профессор кафедры биофизики и биотехнологии, д.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж; профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета, Севастополь, Россия

**В.Г. Артюхов** – заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии, д.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**V.A. Koroleva** – junior researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Assistant of the Department of Biology, Voronezh State University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

**A.N. Dubovitskaya** – Postgraduate, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Russia

**T.N. Belyaeva** – Postgraduate Student, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, Russia

**M.G. Holyavka** – Professor, DSci (biology), Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Professor, Department of Physics, Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

**V.G. Artyukhov** – Head of the Department of Biophysics and Biotechnology, DSci (biology), Voronezh State University, Voronezh, Russia

Статья поступила в редакцию 03.04.2023; одобрена после рецензирования 31.10.2023; принята к публикации 01.11.2023.

The article was submitted 03.04.2023; approved after reviewing 31.10.2023; accepted for publication 01.11.2023.



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.218

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12027

### **Выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы дифференциальным ультрацентрифугированием и идентификация в них микроРНК miR165a**

**Дмитрий Николаевич Федорин, Виктория Олеговна Чуйкова, Александр Трофимович Епринцев** 

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru 

**Аннотация.** МикроРНК представляют собой класс некодирующих молекул РНК, как важнейших регуляторов различных биологических процессов в растениях. МикроРНК играют важнейшую регуляторную роль ранней ответной реакции клетки на стрессовое воздействие, в том числе и обеспечивая межклеточную сигнализацию. Внеклеточные везикулы растений играют ключевую роль в транспорте молекул в растениях. За последнее десятилетие были разработаны многочисленные методы выделения внеклеточных везикул, при этом дифференциальное центрифугирование позволяет выделять небольших маленьки везикулы. Применение метода дифференциального центрифугирования позволило выделить из листьев кукурузы две фракции внеклеточных везикул (Р40 и Р100), различающихся размером и молекулярной массой. Фракция больших везикул имела размер более 150 нм и содержала высокомолекулярные и низкомолекулярные нуклеиновые кислоты. При этом, для везикул фракции Р100 определен размер от 30 до 200 нм, которые содержат только низкомолекулярные нуклеиновые кислоты. Разработан специфический зонд для идентификации микроРНК miR165a с помощью полимеразной цепной реакции. Применение зонда типа «стебель-петля» позволило получить матрицы кДНК размером более 70 пар нуклеотидов (п.н.), что является достаточным для оценки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты ОТ-ПЦР-анализа со специфическими праймерами к микроРНК miR165a свидетельствуют о наличии продукта амплификации размером около 70-80 пар нуклеотидов, что соответствует теоретическим значениям. Следовательно, фракции внеклеточных везикул из листьев кукурузы содержат микроРНК miR165a, что, вероятно, обуславливает их физиологическую функцию межклеточного транспорта малых некодирующих РНК.

**Ключевые слова:** *Zea mays*, микроРНК, везикулы, ультрацентрифугирование, электрофорез, полимеразная цепная реакция.

**Для цитирования:** Федорин Д.Н., Чуйкова В.О., Епринцев А.Т. Выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы дифференциальным ультрацентрифугированием и идентификация в них микроРНК miR165a // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 139-146. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12027>

Original article

### **Isolation of extracellular vesicles from corn leaves using differential ultracentrifugation and the identification of miR165a microRNA**

**Dmitriy N. Fedorin, Viktoria O. Chuikova, Alexander T. Eprintsev** 

Voronezh State University, Voronezh, Russia, bc366@bio.vsu.ru 

**Abstract.** MicroRNAs are a class of non-coding RNA molecules that act as important regulators of various biological processes in plants. MicroRNAs play a significant regulatory role in the early reaction of the cell to a stressful impact, including intercellular signalling. Extracellular vesicles of plants are essential for the transport of molecules in plants. Numerous methods for isolating extracellular vesicles have been developed

over the past decade, and differential centrifugation allows the isolation of small vesicles. Using the differential centrifugation method, we managed to isolate two fractions of extracellular vesicles (P40 and P100) from corn leaves that were different in size and molecular weight. The fraction of large vesicles had a size of more than 150 nm and contained high and low molecular nucleic acids.

We also determined the sizes of vesicles of the P100 fraction which contained only low molecular nucleic acids: they were from 30 to 200 nm. A specific probe was designed to identify miR165a microRNA using polymerase chain reaction. Using the stem-loop probe allowed obtaining cDNA matrices larger than 70 nucleotide pairs (bp), which was sufficient to evaluate the polymerase chain reaction (PCR). The results of RT-PCR analysis with specific primers for miR165a microRNA showed the presence of an amplification product approximately 70-80 nucleotide pairs in size, which corresponded to theoretical values. Therefore, fractions of extracellular vesicle from corn leaves contained miR165a microRNA, which may explain their physiological function as intercellular transport of small non-coding RNAs.

**Keywords:** *Zea mays*, microRNA, vesicles, ultracentrifugation, electrophoresis, polymerase chain reaction.

**For citation:** Fedorin D.N., Chuikova V.O., Eprintsev A.T. Isolation of extracellular vesicles from corn leaves using differential ultracentrifugation and the identification of miR165a microRNA. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 139-146. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12027>

## Введение

В настоящее время наблюдается значительный рост исследований, связанных с внеклеточными везикулами растительного происхождения в биологических и медицинских областях [1]. Внеклеточные везикулы представляют собой мембранные округлые гетерогенные группы частиц, которые вырабатываются и секретируются прокариотическими и эукариотическими клетками как в нормальных, так и в патофизиологических условиях [2]. Первоначально предполагалось, что внеклеточные везикулы участвуют только в выведении ненужных соединений из клетки. Сегодня установлено, что они в основном осуществляют передачу сигналов между клетками и организмами.

Считается, что везикулы растений образуют гетерогенную популяцию везикул различного происхождения, включая многовезикулярные тельца (MVB), аутофагосомы, вакуоли и экзоцист-позитивные органеллы (EXPO). Размер колеблется в пределах 30-5000 нм и зависит от исходного материала и метода выделения. Внеклеточные везикулы разного размера выделяли из винограда (*V. vinifera*; 400 нм), апельсина (*C. aurantium*; 105-396 нм), имбиря (*Z. officinale*; 125-250 нм), брокколи (*B. oleracea*; 18-400 нм), моркови (*D. carota*; 100-1000 нм), хлопка (*G. arboreum*; 150 нм) [3].

Растительные везикулы представляют собой нано- и микроструктуры круглой формы, содержащие широкий спектр белков, нуклеиновых кислот (мРНК, микроРНК и другие типы коротких РНК) и вторичных метаболитов, окруженных липидным бислоем с мембранными белками, каналами, лигандами и рецепторами [4]. За последнее десятилетие было четко продемонстрировано их участие в иммунных реакциях и ответе на биотический и абиотический стрессы. Кроме того, они также могут быть вовлечены в реорганизацию клеточной стенки и в межклеточную коммуникацию [4], могут переноситься в клетки-реципиенты, изменять экспрессию генов и опосредовать функциональные эффекты [5].

Первые предположения о том, что микроРНК может транслоцироваться в соседние клетки, были получены в результате исследований miR165/166 у кукурузы и *Arabidopsis thaliana*. miR165a участвует в формировании меристемы, установлении адаксиальной/абаксиальной полярности листьев, формировании радиального рисунка корней и спецификации сосудов посредством понижающей регуляции факторов транскрипции гомеодоменлейциновой молнии III класса (HD-ZIP III) [6].

Выделение внеклеточных растительных везикул очень важно для последующего анализа микроРНК, однако имеются



различные ограничения, которые не позволяют применять один универсальный подход [1].

Метод ультрафильтрации, основанный на разделении по размеру, достаточно прост, эффективен, обладает высокой скоростью извлечения, а также не влияет на биологическую активность растительных везикул [7]. Ультрацентрифугирование включает последовательную смену низкоскоростного и высокоскоростного этапа, что использовалось для выделения микровезикул из листьев арабидопсиса, семян и проростков подсолнечника, впитывающих влагу, и листьев *Nicotiana benthamiana* [8]. Такой способ выделения обладает достаточно высоким процентом выхода чистых растительных везикул, содержащих вторичные метаболиты и нуклеиновые кислоты, которые могут быть использованы в качестве экспериментального материала в последующих исследованиях [7].

В связи с этим, целью данной работы являлось выделение внеклеточных растительных везикул с помощью дифференциального ультрацентрифугирования и исследование содержания микроРНК miR165a в разных фракциях.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования были использованы листья 14-дневной кукурузы (*Zea mays* L.), которая была выращена гидропонным способом при 25°C, 10-часовом световом дне с интенсивностью 90 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>.

Выделение растительных внеклеточных везикул осуществляли с помощью метода дифференциального ультрацентрифугирования. Из растительного материала массой 0,5 г осуществляли сбор чистой апопластической жидкости путем вакуумной инфильтрации и центрифугирования при 900 г. Выделение из апопластической жидкости двух фракций везикул производили последовательными этапами низкоскоростного центрифуги-

рования при 2000 г и 10000 г с дальнейшим высокоскоростным ультрацентрифугированием при 40000 г и 100000 г [8].

Визуализацию внеклеточных везикул после разделения на фракции P40 и P100 осуществляли с помощью метода микроскопирования на приборе Olympus CX41 (Olympus, Япония) с увеличением 1000×. Выделение нуклеиновых кислот из разных фракций везикул осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции [9].

Количественную оценку содержания нуклеиновых кислот в образцах, выделенных из фракций везикул P40 и P100, и их чистоту осуществляли спектрофотометрически на приборе NanoPhotometer C40 (Implen, Германия).

Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с набором MMLV (СибЭнзим, Россия) со специфическим разработанным зондом для miR165a, для чего брали 100 нг нуклеиновых кислот из каждой фракции. Параметры проведения обратной транскрипции следующие: инкубация смеси при 16°C – 30 мин, 42°C – 30 мин, 85°C – 5 мин [10].

Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе Терцик со специфическими праймерами с набором AmpliSence (Хеликон, Россия). Нуклеотидный состав праймеров miR165a: прямой – 5' cactgatcggaccaggcttca 3'; обратный – 5' gtcgatccagtcgagggtcc 3'. Параметры амплификации были следующие: предварительная денатурация – 95°C 5 минут, цикл – 95°C – 30 сек., 58°C – 30 сек., 72°C – 30 сек., финальная элонгация – 72°C – 10 минут.

Контроль качества продуктов амплификации осуществлялся с помощью гель-электрофореза в 2% агарозном геле с интеркалирующим красителем бромистым этидием.

Денситометрические исследования электрофореграмм продуктов амплификации, с применением программного обеспечения Gel Analyzer 19.1.

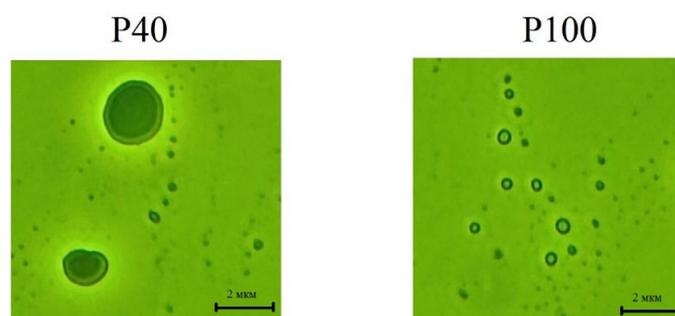


Рис. 1. Фотографии фракций внеклеточных везикул фракций P40 и P100, сделанных с помощью микроскопа Olympus CX41 с увеличением 1000×. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g, имеющая размер от 100 нм и более. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g и имеющая размер до 200 нм.

Fig. 1. Photographs of extracellular vesicle fractions P40 and P100 taken using an Olympus CX41 microscope with a magnification of 1000×. P40 is a fraction of vesicles obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g with a size of 100 nm or more. P100 is a fraction of vesicles isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g with a size of up to 200 nm.

Опыты проводились в 3-х кратной биологической и 4-х кратной аналитической повторности. В таблице представлены данные опытов, в которых каждое значение – это среднее арифметическое, посчитанное по результатам трех повторностей. Для получения достоверных данных использовались методы статистической обработки. Результаты являются достоверными, если различия между ними не больше  $p \leq 0.05$  [11]. Изображения представляют собой данные типичного эксперимента, повторенного три-четыре раза.

### Обсуждение результатов

Метод дифференциального центрифугирования является наиболее часто используемым способом выделения внеклеточных растительных везикул из клеточных культур и биологических жидкостей. Он состоит из нескольких этапов, включая выделение чистой апопластической жидкости с помощью вакуумной инфльтрации и центрифугирования; осуществления низкоскоростного центрифугирования при 2000 g и 10000 g для удаления мертвых клеток, клеточного мусора и крупных везикул с последующим высокоскоростным центрифугированием при

40000 g и 100000 g для получения крупных (P40) и мелких (P100) гранул везикул из листьев кукурузы [8].

Во фракции P40 основная доля наблюдаемых везикул имела диаметр более 150 нм, в то время как во фракции P100 размер полученных везикул находился в диапазоне 30-200 нм [8]. Следовательно, центрифугирование при 40000 g приводит к выделению более крупных растительных везикул, что обусловлено их большей массой (рис. 1). При этом, центрифугирование при 100000 g позволило получить везикулы небольшого размера с большой эффективностью. Применение метода дифференциального ультрацентрифугирования позволило провести качественное выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы в виде двух фракций, что обусловлено разницей их молекулярных масс. Масса везикул зависит от содержания в них веществ, которые включаются в ее состав при формировании самой везикулы, включая большое количество белковых компонентов, что характерно для фракции P40 [12]. Согласно литературным данным, в состав крупных и мелких везикул входят малые некодирующие РНК, в том числе и микроРНК [13].

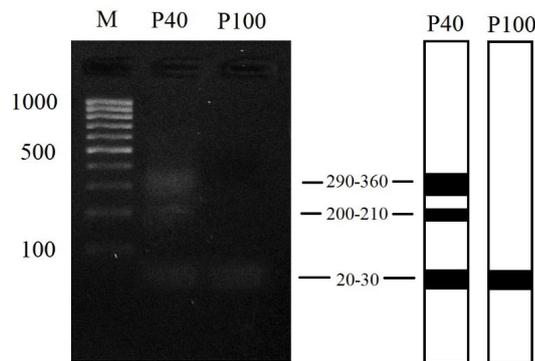


Рис. 2. Электрофореграмма нуклеиновых кислот, выделенных из фракций внеклеточных везикул P40 и P100 листьев кукурузы, в 2% агарозном геле. М – маркеры длин нуклеиновых кислот. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g.

Fig. 2. Electropherogram of nucleic acids isolated from extracellular vesicle fractions P40 and P100 of corn leaves in 2% agarose gel. M – markers of nucleic acid lengths. P40 – vesicle fraction obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g. P100 – vesicle fraction isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g.

Для исследования наличия нуклеиновых кислот (НК), входящих в состав внеклеточных везикул, нами проведена их экстракция фенол-хлороформным методом. Аналитический электрофорез выделенной суммарной нуклеиновой кислоты из везикул фракций P40 и P100 проводили в 2% агарозном геле и установили различие в наборе высоко- и низкомолекулярных нуклеиновых кислот между исследуемыми фракциями. Показано, что везикулы фракции P40 содержат и высокомолекулярные соединения с молекулярной массой более 400 п.н., и низкомолекулярные – менее 100 п.н. (рис. 2). Однако, везикулы фракции P100 содержали только низкомолекулярные соединения.

Результаты денситометрии свидетельствуют о преобладании высокомолекулярных НК в везикулах P40 по сравнению с фракцией P100 (рис. 3). Наличие высокомолекулярных НК в везикулах фракции P40, вероятно, обусловлено их размерами, позволяющими включать в себя ряд мРНК, размер которых составляет до 500 п.н., что соответствует ранее полученным данным для модельного растительного объекта *A. thaliana* [14]. При этом, характер НК, наблюдаемый для об-

разца P40, полностью отличался от рисунка, наблюдаемого для тотальной клеточной РНК, что указывает на то, что выделение внеклеточных везикул методом дифференциального ультрацентрифугирования не вызывает существенного разрушения клеток. В то же время, результаты денситометрии указывают на наличие в маленьких везикулах фракции P100 только низкомолекулярных НК, размер которых не превышает 100 п.н., что соответствует большинству малых некодирующих РНК, в том числе и микроРНК.

Следовательно, фракции везикул P40 и P100 отличаются по размеру и качественному составу нуклеиновых кислот с преобладанием высокомолекулярных в составе везикул фракции P40. Высокомолекулярные молекулы нуклеиновых кислот в везикулах представлены мРНК [4], в то время как для везикул фракции P100 характерно наличие низкомолекулярных нуклеиновых кислот, в основном микроРНК и других малых некодирующих РНК.

Спектрофотометрически определено содержание нуклеиновых кислот во фракциях P40 и P100, что характеризовалось величинами 49.14 и 46.18 нг/мкл, со

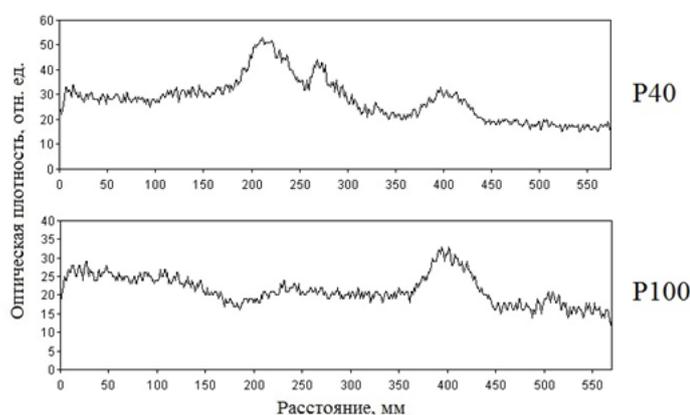


Рис. 3. Денситограмма образцов нуклеиновых кислот, выделенных из внеклеточных везикул листьев кукурузы. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g.

Fig. 3. Densitogram of nucleic acid samples isolated from extracellular vesicles of corn leaves. P40 – vesicle fraction obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g. P100 – vesicle fraction isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g.

Таблица 1. Количественные характеристики препаратов нуклеиновых кислот, выделенных из везикул фракций P40 и P100 листьев кукурузы

Table 1. Quantitative characteristics of nucleic acid preparations isolated from the P40 and P100 vesicle fractions of corn leaves

Фракция везикул	Концентрация НК, нг/мкл	Чистота препарата
P40	49.14 ± 2.45	1.828 ± 0.091
P100	46.18 ± 1.85	1.739 ± 0.069

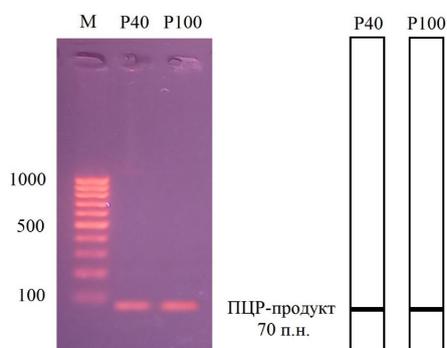


Рис. 4. Электрофореграмма ПЦР-продуктов со специфическими праймерами к микроРНК miR165a.

Fig. 4. Electropherogram of PCR products with specific primers for miR165a microRNA

ответственно (табл. 1). Для аналитических исследований нуклеиновых кислот, выделенных из фракций везикул P40 и P100, использовали 100 нг для идентификации в них микроРНК miR165a, расположение которой может быть, как на поверхности, так и внутри везикулы. Для этого применили схему обратной тран-

скрипции-ПЦР с использованием специфически созданного зонда по типу «стебель-петля», обеспечивающего формирование кДНК-матрицы для дальнейшего получения ПЦР-продукта на основе специфических праймеров [10].

Результаты ОТ-ПЦР-анализа со специфическими праймерами к miR165a показали наличие продукта амплификации

размером около 70-80 п.н. при электрофоретическом исследовании в 2% агарозном геле (рис. 4). Результаты ПЦР соотносятся с теоретическими данными, обусловленными применением зонда «стебель-петля», позволяющего сформировать кДНК длиной 70 п.н. Наличие ПЦР-продукта при амплификации НК, выделенных из везикул фракций P40 и P100, является доказательством присутствия в их составе микроРНК miR165a.

### Заключение

Известно, что растительные везикулы различаются по своим размерам, химическому и молекулярному составу, что отражается на их функциональном значении [15]. Применение метода дифференциального ультрацентрифугирования с предварительной вакуумной инфльтрацией позволило получить две фракции растительных внеклеточных везикул, отличающихся по молекулярной массе. Последовательная смена низкоскоростного центрифугирования при 2000 g и 10000 g и высокоскоростного ультрацентрифугирования при 40000 g и 100000 g позволило выделить из апопластического пространства тяжелые гранулы с большой молекулярной массой (P40), а также частицы (P100), молекулярная масса которых значительно меньше. Обе фракции везикул, выделенных из листьев кукурузы, отличаются размерами и молекулярной массой, что обусловлено особенностями их формирования и включением в их состав различных биомолекул, в том

числе и разных видов нуклеиновых кислот [12, 13].

Результаты электрофоретических исследований выделенной суммарной фракции нуклеиновых кислот из разных фракций везикул свидетельствуют об их разнородном составе с преобладанием высокомолекулярных соединений во фракции P40. Применение специфических праймеров к микроРНК miR165a позволило получить ПЦР-продукт, что подтверждает наличие во фракция P40 и P100 внеклеточных везикул микроРНК miR 165a.

Таким образом, применение дифференциального ультрацентрифугирования позволило получить внеклеточные везикулы из листьев кукурузы и выделить две фракции на основе их молекулярных масс. Крупные везикулы (фракция P40) осаждались при 40000 g и имели размер от 150 до 2000 нм, маленькие везикулы (фракция P100), размером менее 200 нм, осаждались при 100000 g. Обе фракции внеклеточных везикул из листьев кукурузы содержат микроРНК miR165a, что, вероятно, обуславливает их физиологическую функцию межклеточного транспорта малых некодирующих РНК [16].

### 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. Xu Z., Xu Y., Zhang K., Liu Y., Liang Q., Thakur A., Liu W., Yan Y. Plant-derived extracellular vesicles (PDEVs) in nanomedicine for human disease and therapeutic modalities. *J Nanobiotechnology*. 2023; 21: 114. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01858-7>
2. Zhou Q., Ma K., Hu H., Xing X., Huang X., Gao H. Extracellular vesicles: Their functions in plant-pathogen interactions.

*Mol Plant Pathol*. 2022; 23: 760-771. <https://doi.org/10.1111/mpp.13170>

3. Kocholata M., Maly J., Martinec J., Auer Malinska H. Plant Extracellular Vesicles and Their Potential in Human Health Research, the Practical Approach. *Physiol Res*. 2022; 71: 327-339. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934886>

4. Alfieri M., Leone A., Ambrosone A. Plant-Derived Nano and Microvesicles for Human Health and Therapeutic Potential in Nanomedicine. *Pharmaceutics*. 2021; 13:



498. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040498>
5. Turchinovich A., Samatov T.R., Tonevitsky A.G., Burwinkel B. Circulating miRNAs: cell-cell communication function? *Front. Genet.* 2013; 4: 119. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00119>
6. Marin-Gonzalez E, Suarez-Lopez P. "And yet it moves": cell-to-cell and long-distance signaling by plant microRNAs. *Plant Sci.* 2012; 196: 18-30. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.009>
7. Xu D., Di K., Fan B., Wu J., Gu X., Sun Y., Khan A., Li P., Li Z. MicroRNAs in extracellular vesicles: Sorting mechanisms, diagnostic value, isolation, and detection technology. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022; 10: 948959. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.948959>
8. Huang Y., Wang S., Cai Q., Jin H. Effective methods for isolation and purification of extracellular vesicles from plants. *J Integr Plant Biol.* 2021; 63: 2020-2030. <https://doi.org/10.1111/jipb.13181>
9. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry.* 1987; 162: 156-159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
10. Fedorin D.N., Chuykova V.O., Yeprintsev A.T. Sozdaniye spetsificheskogo zonda «stebel'-petlya» dlya identifikatsii mikroRNK miR165a v list'yakh kukuruzy. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya.* 2023; 4: 41-47. (In Russ.)
11. Lakin G.F. Biometrics. M.: Higher school, 1990. 351 p. (In Russ.)
12. Cai Q., Halilovic L., Shi T., Chen A., He B., Wu H., Jin H. Extracellular vesicles: cross-organismal RNA trafficking in plants, microbes, and mammalian cells. *Extracell Vesicles Circ Nucleic Acids.* 2023; 4: 262-282. <https://doi.org/10.20517/evcna.2023.10>
13. Cai Q., Qiao L., Wang M, He B., Lin F-M., Palmquist J., Huang S-D., Jin H. Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes. *Science.* 2018; 360: 1126-1129. <https://doi.org/10.1126/science.aar4142>
14. Karimi H.Z., Baldrich P., Rutter B.D., Borniego L., Zajt K.K., Meyers B.C., Innes R.W. Arabidopsis apoplastic fluid contains sRNA- and circular RNA-protein complexes that are located outside extracellular vesicles. *The Plant Cell.* 2022; 34: 1863-1881. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac043>
15. Rutter B.D., Innes R.W. Extracellular Vesicles Isolated from the Leaf Apoplast Carry Stress-Response Proteins. *Plant Physiology.* 2017; 173: 728-741. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01253>
16. Yan Y., Ham B-K. The Mobile Small RNAs: Important Messengers for Long-Distance Communication in Plants. *Front Plant Sci.* 2022; 13: 928729. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.928729>

### Информация об авторах / Information about the authors

**Д.Н. Федорин** – доцент кафедры биохимии и физиологии клетки, доцент, кандидат биологических наук. Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**В.О. Чуйкова** – бакалавр кафедры биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**А.Т. Епринцев** – заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки, профессор, доктор биологических наук. Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**D.N. Fedorin** – Associate Professor of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Associate Professor, Candidate of Biological Sciences. Voronezh State University, Voronezh, Russia

**V.O. Chuykova** – Bachelor of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russia

**A.T. Eprintsev** – Head of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Professor, Doctor of Biological Sciences. Voronezh State University, Voronezh, Russia

Статья поступила в редакцию 04.12.2023; одобрена после рецензирования 20.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.

The article was submitted 04.12.2023; approved after reviewing 20.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.



## **25-летний юбилей фармацевтического факультета ВГУ**

Фармацевтический факультет ВГУ – это комплексная современная система многоуровневой подготовки специалистов с высшим фармацевтическим образованием. Внедренные в ВГУ передовые технологии обучения, чёткое видение перспектив в организации учебной, научной, инновационной и воспитательной работы, новые механизмы управления процессами обучения, проведения производственных практик у будущих фармацевтов, провизоров, ординаторов гарантируют выпускникам факультета конкурентные преимущества на рынке труда и помогают дипломированным специалистам в их дальнейшем профессиональном становлении.

Причиной открытия специальности подготовки провизоров и фармацевтов в ВГУ в начале девяностых годов двадцатого века послужил острый дефицит фармацевтических кадров в Воронеже и Воронежской области. Нехватка специалистов по фармации стала ощущаться и в соседних Липецкой, Тамбовской и Белгородской областях. Причина: в стране была отменена система распределения молодых специалистов и значительное снижение выделения бюджетных мест, в частности, в Курском государственном медицинском университете с 400 до 70 и т.д.

У истоков открытия нового медицинского направления в ВГУ – фармации стояли известные ученые, крупные руководители в структуре университета, талантливые организаторы и прекрасные люди ректор ВГУ Гусев В.В., проректор Суворовцев И.С., проректор, ставший с 1998 года ректором ВГУ Борисов И.И., проректор по международным связям Зорников И.Н., декан биолого-почвенного факультета Артюхов В.Г., декан химического факультета Афиногенов Ю.П., заведующий кафедрой аналитической химии Селеменов В.Ф., заведующий кафедрой физиологии человека и животных Салей А.П.

Идея открытия новой образовательной программы по подготовке фармацевтических кадров в ВГУ принадлежала тогда заместителю декана по научной работе химического факультета доценту Сливкину А.И., который по своей научной деятельности тесно связан с поиском, созданием и разработкой методов контроля качества новых лекарственных веществ. Специальность «Фармация» была открыта в 1993 году решением Ученого совета ВГУ. Так как образовательная программа по специальности предусматривала освоение медицинских дисциплин, к реализации специальности была приглашена медицинская академия. Был заключен межвузовский учредительный договор по подготовке провизоров на 5 лет. Первые наборы студентов были осуществлены из контингента иностранных обучающихся и курировались проректором по международной деятельности Зорниковым И.Н.

Начало занятий было сопряжено со многими организационными трудностями, которые были успешно преодолены при активном участии декана биолого-почвенного факультета, профессора Артюхова В.Г., декана химического факультета Афиногенова Ю.П., ректора ВГМА Фаустова А.С., заведующего кафедрой аналитической химии Селеменова В.Ф.

Научно-методическая часть становления специальности принадлежит Сливкину А.И., который много ездил и осуществлял контакты по фармацевтическим ВУЗам и факультетам страны, знакомясь и перенимая опыт по подготовке фармацевтических кадров в Пятигорске, Санкт-Петербурге, Москве, Курске. Сразу

с 1993 года он стал заниматься подготовкой, оснащением специальных лабораторий для профильных дисциплин.

Решением ректората ВГУ здание бывшего НИИ химии ВГУ по ул. Студенческая, д. 3 было передано межвузовскому факультету для реализации фармацевтических дисциплин, на базе которого был открыт учебный корпус №7, где в последующем был открыт фармацевтический факультет. В 1995 году начались занятия по профильным дисциплинам. До 1997 года зав. отделением «Фармация» в ВГУ был Селеменев В.Ф., а в ВГМА – Кедров С.И.

В 1998 году была получена лицензия на реализацию образовательной программы высшего образования «Фармация» при большой поддержке проректора Зорникова И.Н. и декана биолого-почвенного факультета, профессора Артюхова В.Г.

Заложенные принципы интеграции научных и образовательных потенциалов химического, биолого-почвенного, физического, математического факультетов, до настоящего времени обеспечивают фундаментальность подготовки провизоров в ВГУ, что отражается на качестве и конкурентоспособности его выпускников. Медицинский блок дисциплин преподавался до 2000 года в медицинской академии им. Н.Н. Бурденко (ВГМА). Занятия по чисто химическим предметам и поныне преподаются на химическом факультете, по биологическим дисциплинам – на медико-биологическом (биолого-почвенном) факультете.

Начиная с 1998 года помощь в становлении факультета оказывал новый ректор Борисов И.И. и первый проректор Запрыгаев С.А.

В 1998 году была открыта кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии – заведующим кафедрой назначается Сливкин А.И.

В 1999 году на базе ВГМА открывается кафедра фармацевтического дела, в структуру которой были включены дисциплины: фармакогнозия, аптечная технология, организация и экономика фармации, фармацевтическое и медицинское товароведение, история фармации. И.О. заведующего кафедрой назначается к.ф.н., доцент Сидоренко А.Ф. Медицинские дисциплины преподаются на профильных кафедрах ВГМА.

В 1998 году межвузовский фармацевтический факультет, образованный в Воронежском государственном университете с участием Воронежской государственной медицинской академии, осуществил первый выпуск провизоров. Даже самым отъявленным скептикам стало ясно: факультет является самостоятельной структурной единицей – факультет состоялся.

Первый выпуск студентов поставил факультет в один ряд с другими факультетами университета, а значит, потребовал и своей собственной системы управления. Назрела необходимость создания на факультете собственного Ученого совета как выборного представительного органа, осуществляющего руководство факультетом.

Поскольку факультет в то время имел статус межвузовского, в первый состав его ученого совета вошли представители нескольких кафедр, участвующих в реализации учебного процесса, как университета (ВГУ), так и медицинской академии (ВГМА). Приказом ректора ВГУ № 242 от 20.10.1998 года состав совета был утвержден и приступил к работе. Председатель – декан Сливкин А.И., ученый секретарь – доцент Ковалева Т.А. Следующие изменения в статусе и составе ученого совета связаны со структурными изменениями, произошедшими после аттестации специальности «Фармация» и изменения статуса фармацевтического факультета, который закончил свое существование как межвузовский и вошел в структуру Воронежского университета в 2001 году.



После получения лицензии в 1998 году и документированного по двум ВУЗам оформления и утверждения фармацевтического факультета (по началу межвузовского) осуществлен первый набор российских студентов наряду с иностранными на специальность «Фармация» только на договорной основе. И в том же году на факультете был первый выпуск провизоров. Это были 25 граждан Сирии. Назначенный деканом факультета в 1998 году Сливкин А.И. на первом Ученом совете факультета главными задачами на ближайшее время поставил: добиваться: 1) выделения бюджетных мест, 2) открытия вечернего отделения по подготовке кадров для бурно развивающейся отрасли, в том числе для получения второй специальности «провизор» педагогами факультета, 3) открытия отделения среднего профессионального образования. В 1999 году был осуществлен первый набор на вечернюю (очно-заочную) форму и первый набор на отделение СПО на базе 11 классов, на договорной основе.

Перед факультетом стояли нелегкие задачи по самоутверждению, подготовке кадров высшей квалификации, завоеванию определенного авторитета в фармацевтических кругах страны и СНГ. Необходимо было выстроить целостную систему непрерывного фармацевтического образования.

В 2000 году ВГУ отдельно от ВГМА прошел лицензионную экспертизу, аттестацию и аккредитацию по специальности «Фармация». Комиссия Министерства образования указала на нелегитимность функционирования межвузовского факультета, размытия ответственности за подготовку специалистов, что противоречило закону об образовании. В числе причин перевода учебного процесса полностью в ВГУ были: наличие отдельного корпуса для факультета, хорошая материальная база, учебно-лабораторное и научное оборудование, значительное вложение средств в развитие факультета. В 2001 году заканчивался срок Учредительного договора между ВГУ и ВГМА. С учетом рекомендаций аттестационной комиссии в 2000 году, замечаний Министерства, университет не возобновил Учредительный договор с ВГМА.

Для полного обеспечения учебного процесса университетом открываются еще две кафедры, в том числе на клинической базе в ТМО № 11.

В условиях полной самостоятельности руководство факультета в конце 2001 года приняло решение основные усилия в первую очередь направить на улучшение условий обучения студентов. Ученый совет факультета обратился в ректорат с обоснованным предложением о генеральной реконструкции учебного корпуса № 7 с полным обновлением учебно-лабораторной и научной базы. Ректорат поддержал просьбу и, начиная с 2002 года начались капитальные ремонтные работы в корпусе №7. 2002 год для занятий был тяжелым. Преподаватели и студенты работали и учились в стесненных условиях, в помещениях, выделенных в разных корпусах ВГУ, в читальных залах общежитий. Но терпеть «лишения» и неудобства было ради чего, и студенты это понимали. Уже к маю 2003 года реконструкция трехэтажной части здания закончилась. Появился четвертый – мансардный аудиторный этаж, а ремонт одноэтажной части корпуса был выполнен раньше – в 2002 году. Началось наполнение перепланированных комнат новыми, заранее заказанными оборудованием и лабораторной мебелью. 2003/04 учебный год начался уже в реконструированном корпусе, в современных учебных лабораториях, соответствующих требованиям СНИП, самых современных на тот момент в ВГУ.

Факультет первым в ВГУ под руководством молодого, талантливого педагога и менеджера, в то время канд. фарм. н., зам. декана Е.Е. Чупандиной создал и



сертифицировал в 2006 году систему менеджмента качества, которая успешно поддерживается до настоящего времени, и позволяет планомерно и целенаправленно улучшать основные и вспомогательные процессы, происходящие на факультете. Образовательный процесс, как один из основных в системе управления факультета, строился факультетом, как было отмечено выше, на принципах уникального сочетания фундаментальности образования и его соответствия требованиям работодателей.

Такой подход подготовки позволяет вооружить специалиста универсальными знаниями не только в сфере обращения лекарственных средств, но и в более широкой области профессиональной практики (например, организация и управления персоналом и др.).

Следующим этапом развития факультета стал поиск и формирование собственного научного направления. Были приняты решения о проведении крупных конференций по актуальной тематике, о развертывании издательской деятельности. В сериях научных изданий Вестника Воронежского государственного университета появляется раздел «Фармация», где теперь публикуются аспиранты, преподаватели, научные сотрудники факультета. Гармоничное сочетание в обновленной серии «Химия. Биология. Фармация» наук, генетически связанных и взаимодополняющих друг друга, послужило причиной роста популярности журнала в большинстве регионов Российской Федерации. В данной серии стали активно публиковаться также ученые в области фармации Москвы, Санкт-Петербурга, Курска, из регионов Поволжья, Кубани, Ставрополя, Урала, Сибири, а также Белоруссии. С 2003 года при активной поддержке ректората регулярно проводятся всероссийские конференции по проблемам фармацевтического образования и науки, всё более популярные в России и СНГ. По материалам конференций издаются научные сборники. Всероссийская газета «Фармацевтический вестник» размещает публикации о нашем факультете, информацию о конференциях на актуальные темы, проводимых в ВГУ.

Подготовка кадров высшей квалификации на факультете началась через институт соискательства на фармацевтических факультетах Курска, Москвы, Пятигорска. В Воронеже раньше не было фармацевтических учебных заведений и НИИ для подготовки дипломированных и остепененных фармацевтических кадров.

Конечно, был план подготовки научных кадров на факультете, выполнение его требовало максимума усилий преподавателей – энтузиастов. Медленно, но пошли защиты: 2001 год – первой докторской в Воронеже по фармацевтическим наукам, 2002 - 2007 годы – кандидатских диссертаций соискателями по фармацевтическим специальностям.

В 2005 году на факультете открываются аспирантура по трем специальностям и интернатура. По решению ректора В. Т. Титова и при поддержке Ученого совета университета создаются Учебный центр «Фармация» и кафедра фармации последипломного образования в структуре данного центра. Начинают работать курсы повышения квалификации аптечных работников. Таким образом, на факультете было завершено создание системы непрерывного фармацевтического образования. В 2013 году решением Ученого совета Учебный центр «Фармация» был закрыт, кафедра фармации последипломного образования в 2017 году расформировывается из-за ликвидации Минздравом интернатуры в стране. Курсы повышения квалификации передаются на факультет. Нагрузка по ординатуре



распределяется по кафедрам факультета. Первый набор 20 ординаторов на договорной основе после получения лицензии и прохождения аккредитации был сделан в 2017 году на кафедру управления и экономики фармации.

На факультете в настоящее время функционируют три кафедры: кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии, основателем и бессменным руководителем которой с 1998 года является доктор фармацевтических наук, профессор А.И. Сливкин; кафедра управления и экономики фармации и фармакогнозии, созданная в 2001 году, заведовали кафедрой до 2008г кандидат фармацевтических наук, доцент Шустова Г.Н., Т. Г. Афанасьева. С 2008 по 2023 года кафедрой заведовала прекрасный педагог, серьезный учёный и талантливый менеджер доктор фармацевтических наук, профессор Чупандина Е.Е. С 01.09.2023 кафедрой заведует кандидат фармацевтических наук, доцент Занина И.А. В 2001 году была создана кафедра экспериментальной и клинической фармакологии, которую возглавил доктор медицинских наук, профессор В. А. Николаевский. В 2007 году данная кафедра была разделена на две: кафедру фармакологии и кафедру клинической фармакологии. Кафедрой фармакологии возглавил профессор В. А. Николаевский, кафедру клинической фармакологии – доктор медицинских наук, профессор В. М. Щербаков, главный врач ТМО № 11. В 2018 году данная кафедра выведена из состава факультета и получила статус общеуниверситетской кафедры медицинских дисциплин с размещением в учебном корпусе № 4 по ул. Пушкинская, 16. В 2019 году она вошла в состав медико-биологического факультета. С 2015 года кафедру фармакологии и клинической фармакологии возглавляет доктор медицинских наук, профессор Бузлама А.В.

На всех кафедрах факультета рабочие программы дисциплин построены на основе новейших достижений науки и практики. На сегодня практически все преподаватели владеют навыками работы на ЭВМ, умеют работать с обучающими и контролирующими тестовыми программами, пользуются мультимедийными презентациями и совершенствуют их в процессе обучения студентов. Уровень организации и методического обеспечения учебного процесса, использование современных технологий обучения, внедрение системы менеджмента качества на основе международных стандартов повышают рейтинг вуза, делают его более привлекательным для потенциальных абитуриентов. Перспективы дальнейшего трудоустройства выпускников – молодых специалистов зависят от уровня их профессиональной подготовки, способности самостоятельно углублять свои знания, переучиваться при необходимости, готовности к творческому восприятию реалий и адаптации к меняющимся условиям. Выпускники факультета востребованы на рынке труда по всей России как грамотные специалисты.

При подготовке провизоров и фармацевтов на фармацевтическом факультете огромное внимание уделяется практикам. Учебным планом предусмотрено девять видов практик, охватывающих весь период обучения от первого до последнего курса. Учебные практики проводятся на начальных курсах на базе аптечных организаций города Воронежа, по ботанике и фармакогнозии проводятся на базе ботанического сада ВГУ, биологического учебно-научного центра «Веневитиново», заповедника «Галичья гора», ботанического музея ВГУ. Медицинская ознакомительная практика проходит на базе областной клинической больницы, городской клинической больницы «Электроника». Для освоения практических навыков активно используются возможности обучающего симуляционного центра, анатомического музея ВГУ. Производственные практики и практики по НИР проводятся на старших курсах: по фармацевтической технологии



проходят на фармацевтическом предприятии ООО «РАФАРМА» Липецкой области, в аптеках, где готовят лекарственные средства (ЛС) по рецептам, по контролю качества ЛС, управлению и экономике фармации – в аптечных учреждениях Воронежа и Воронежской области различных форм собственности (имеющих лицензии на разнообразные функции, включая производственные), в воронежском Центре по контролю качества и сертификации лекарственных средств. Многолетний опыт работы с аптечными сетями и фармацевтическими объединениями, предприятиями Воронежа и области, а также близлежащих регионов позволяет обеспечить всех студентов, ординаторов базами практик. Все виды практик имеют необходимое учебно-методическое обеспечение (рабочие программы, методические рекомендации для преподавателей и студентов, учебные пособия, фонды оценочных средств, лабораторное оснащение). Таким образом, практики являются неотъемлемой частью учебного процесса и предназначены для закрепления теоретических знаний, приобретения практических умений и навыков на практических занятиях, при прохождении учебных, научно – исследовательских, производственных практик. На факультете имеется учебная аптека. Работа студентов в учебной аптеке способствует формированию необходимых профессиональных компетенций. Факультет завершает оборудование аккредитационно-демонстрационного центра для проведения аккредитационных процедур и демонстрационных экзаменов выпускников факультета.

Учебный процесс на факультете тесно связан с научно-исследовательской работой студентов и использованием новых научных разработок в учебном процессе. Профессора, доценты, ассистенты, аспиранты факультета ведут интенсивную научную работу. Результаты их исследований представлены в монографиях, авторитетных отечественных и зарубежных изданиях, индексируемых в Scopus, e-library, университетских периодических изданиях, входящих в перечень ВАК, сборниках научных статей. Важное место в издательской деятельности факультета занимает журнал «Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.», входящий в перечень периодических изданий ВАК. Учёные факультета являются членами редакционных коллегий профильных центральных и региональных журналов в области фармации, химии. На факультете успешно функционирует аспирантура, докторантура. За 25 лет на факультете защищено по фармацевтическим наукам 7 докторских, 15 кандидатских диссертаций. За последние пять лет защищено три докторских, шесть кандидатских диссертаций, издано пять монографий, получено восемнадцать патентов на изобретения, вышли в свет более 500 статей. Важное место отводится проведению научно – методических конференций по актуальным проблемам фармацевтического образования и науки. Благодаря таким мероприятиям создаётся и реализуется возможность межрегионального обмена опытом в развитии научно – исследовательской и учебной работы, внедрения новых технологий, развития единого образовательного пространства.

На факультете большое внимание уделяется студенческой науке. Активно работает на всех кафедрах научное студенческое общество. Успешно курируют общество преподаватели Дьякова Н.А., Провоторова С.И., Куролап М.С., Гудкова А.А. и другие. Ежегодно проводятся научные студенческие конференции, конкурсы научных студенческих работ и докладов. Студенты регулярно публикуются в научных журналах (25-27 статей ежегодно) и сборниках конференций



(10-12 ежегодно). Кафедрой УЭФФ организована ежегодная студенческая конференция «Фармация будущего». Студенты старших курсов принимают участие в конкурсах инноваций «Умник», занимая первые и призовые места.

В системе управления факультетом существенную роль играет студенческое самоуправление, которое было создано в 2002 году и за это время активно помогало развивать и управлять факультетом. Студенты факультета входят в Студенческий совет ВГУ, основная цель которого состоит в обеспечении прав обучающихся на участие в управлении вузом, решении важных вопросов жизнедеятельности студенческой молодёжи, развитии социальной активности, поддержке и реализации социальных инициатив. Студенческое самоуправление также принимает участие в решении ряда других важных задач, среди которых – воспитание патриотического отношения к Родине, родному вузу, формирование активной гражданской позиции, содействие реализации молодёжных инициатив, в организации досуга и быта обучающихся, в пропаганде здорового образа жизни, успеваемости, выбору направления трудовой деятельности и др.

Работа по взаимодействию с потенциальными работодателями по вопросам трудоустройства выпускников проводится на факультете на постоянной основе. Осуществляется мониторинг потребностей фармацевтических, медицинских организаций и предприятий в кадрах. Ежегодно 2 раза на факультете проводится «Ярмарка вакансий». На данный форум, в котором обязательно участвуют студенты старших курсов, ординаторы, приглашаются руководители аптечных сетей, менеджеры фармацевтических холдингов, фармацевтических предприятий, руководители городской и областной служб занятости, представители НИИ, контрольных служб, в том числе из других регионов. Постоянно обновляется реестр работодателей. В ходе встреч студенты имеют возможность определиться с потенциальным местом работы. Поддерживается связь с выпускниками факультета, мониторируется их карьерный рост и пожелания в приобретении новых компетенций. Средний показатель трудоустройства 90-93%; 3.5% выпускников уходят в декретный отпуск, 4-5% выпускников СПО поступают на ВО.

Воспитательная работа, как неотъемлемая часть подготовки студентов на факультете, осуществляется по всем значимым направлениям: духовно--нравственному, гражданско-патриотическому, правовому, экологическому, культурно-досуговому и социальному. Основная цель воспитательной работы - создание условий для реализации и развития потенциала личности каждого студента в соответствии с его индивидуальными особенностями, воспитание гражданина России, любящего Родину, культурного человека, профессионала. Воспитательная деятельность в ВГУ осуществляется по ряду направлений, ведущим из которых является духовно-нравственное и патриотическое воспитание. Для ее достижения на факультете построена система кураторства, привлекается студенческий совет и актив. Необходимо отметить, что воспитательный процесс на факультете осуществляется в тесном контакте с ректоратом, с кафедрой физического воспитания и службами университета по воспитательной работе. Это дает возможность талантливым студентам проявить свои творческие способности в конкурсах художественной самодеятельности, спортивно-одаренным студентам – совершенствовать свое мастерство в соревнованиях за право быть лучшим в избранном виде спорта. Участие в волонтерском движении наших студентов формирует у них сознание общечеловеческих ценностей.

Развитие международного сотрудничества в образовательной и научной сферах – одна из приоритетных задач стратегического развития фармацевтического



факультета. На фармацевтическом факультете осуществляется научное сотрудничество с университетом им. Мартина Лютера (Германия), Университетом Юты (США), Приднестровским государственным университетом им. Т.Г. Шевченко (Приднестровье), Циндаоским научно-технологическим университетом (КНР), Витебским государственным медицинским университетом (Республика Беларусь), с европейской фармацевтической компанией Bionorica SE, с университетом г. Загреб (Хорватия) в рамках программы Erasmus+. По линии образовательных программ факультет сотрудничает с ВУЗами Казахстана, Киргизии, Узбекистана.

Формирование факультета, его становление и развитие происходило под руководством Сливкина А.И. Более двух десятков лет он по крупицам собирал коллектив, спланировал его. Факультет приобрел авторитет и известность в фармацевтическом сообществе. Идет активное создание научной школы на факультете в области фармацевтической химии и фармацевтической технологии под его руководством. Многолетние усилия Алексея Ивановича по достоинству были оценены президентом РФ, который присвоил ему в 2023 году звание **«Заслуженный работник высшей школы РФ»**.

В 2022 году деканом факультета при поддержке коллектива избрана по конкурсу профессор Чупандина Елена Евгеньевна талантливый организатор, замечательный педагог, человек нового поколения. Как опытный менеджер Елена Евгеньевна сформировала команду из молодых, продвинутых педагогов. Заместителями декана стали д.фарм.н. Тринеева О.В., д.фарм.н. Дьякова Н.А., д.фарм.н. Полковникова Ю.А., доцент Занина И.А., ассистент Журавлева Т.И. Новым председателем НМС стала доцент Беленова А.С., прекрасно знающая учебно-методическую работу, отвечающая за первичную и специализированную аккредитацию выпускников, очень работоспособный и авторитетный специалист.

Факультет постоянно обновляет свою материально-техническую, учебную и научную базы. Закуплено уникальное научное оборудование для лаборатории доклинических исследований на кафедре фармакологии и клинической фармакологии, приобретена новая лаборатория для токсикологической химии, в корпусе идут ремонтные работы по обновлению помещений и лабораторий.

Факультет активно участвует в цифровизации образовательного процесса – полные электронные версии учебных дисциплин, закрепленных за кафедрами факультета, доступны студентам, электронные журналы посещаемости, учета занятий и успеваемости, электронные зачетные книжки, апробируются электронные документы об образовании.

Факультет развивается, так держать!

профессор Шаталов Г.В.  
профессор Семенов В.Н.  
профессор Селеменев В.Ф.

## ПЕРСОНАЛИИ

### К 70-летию со дня рождения Владимира Александровича Иванова



3 января 2024 года отмечает свой юбилей член редакционной коллегии журнала «Сорбционные и хроматографические процессы», доктор химических наук, профессор Иванов Владимир Александрович.

Вся жизнь В.А. Иванова связана с химическим факультетом Московского государственного университета, который он закончил в 1976 году. Потом была учеба в аспирантуре в лаборатории стабильных изотопов под руководством профессора В.И. Горшкова и успешная защита кандидатской диссертации в 1980 году. А дальше научная работа в лаборатории, преподавание и организационная деятельность на кафедре физической химии, воспитание учеников, выступления на кон-

ференциях и семинарах, подготовка научных статей и патентов. Глубокие знания, творческая энергия, любовь к науке и стремление к развитию выбранного направления исследований ионообменных процессов привели к блестящей защите докторской диссертации (2000г.) «Новые возможности разделения веществ на ионитах с карбоксильными группами».

Владимир Александрович ведет большую работу как член редакции журнала «Сорбционные и хроматографические процессы», он – постоянный участник Всероссийских конференций «Физико-химические основы ионообменных процессов-ИОНИТЫ», школ-семинаров для молодых ученых «Сорбция и хроматография», проводимых кафедрой аналитической химии и НОЦ «Иониты и мембраны» Воронежского государственного университета. Его доклады интересны и известным ученым, и молодежи. Владимир Александрович является настоящим популяризатором науки, переводит книги, мы знаем его как уважаемого оппонента докторских и кандидатских диссертаций, который всегда глубоко вникает в суть работ, помогает молодым ученым подчеркнуть достижения в выполненных исследованиях и не пропустить недостатки.

Профессор В.А. Иванов – замечательный ученый и прекрасный разносторонний человек! Внутренняя интеллигентность, отзывчивость и скромность притягивают к нему людей, вызывают искреннее уважение. Владимир Александрович всегда в спортивной форме, много лет был в команде химфака МГУ по лыжным гонкам, участвовал в марафонских пробегах. А спортивный характер помогает добиться результатов во всех начинаниях.

Такие люди как Владимир Александрович Иванов – настоящая гордость российской науки и высшей школы! Здоровья Вам, благополучия и дальнейших успехов, дорогой Владимир Александрович! С юбилеем!

Коллектив кафедры аналитической химии ВГУ  
Редакция журнала «Сорбционные и хроматографические процессы»

# ХРОМАТОГРАФИЯ – ОБЛАСТЬ НАШЕЙ КОМПЕТЕНЦИИ

инновации, технологии, оборудование и расходные материалы

## РАЗРАБАТЫВАЕМ:

- технологии очистки субстанций
- методы выделения и очистки примесей
- сорбенты для всех видов жидкостной хроматографии
- методы контроля безопасности и подлинности продуктов питания и кормов



## ПРОИЗВОДИМ:

- сорбенты для хроматографии
- концентрирующие патроны «Диапак»
- аналитические ВЭЖХ-колонки «Диасфер» и «Наутилус»
- аналитические комплекты для экологического анализа и контроля подлинности и безопасности продуктов питания и кормов
- препаративные колонны динамического аксиального сжатия АХИОМА диаметром 100 и 200 мм для очистки субстанций методом ВЭЖХ
- стеклянные колонки аксиального сжатия диаметром от 24 до 450 мм, объемом до 50 л
- автоматизированные хроматографические комплексы низкого давления АХИОМА для очистки субстанций с потоками элюента до 1 литра в минуту

К нам обращаются фармацевтические компании и другие организации для разработки технологий очистки субстанций «под ключ» и наработки стандартных образцов или примесей субстанций, когда это сложно или невыгодно делать на собственном производстве. Мы изучаем и сравниваем существующие методы очистки, опираясь на 30-летний опыт работы, добиваемся целевых показателей, масштабируем результаты, подбираем оборудование и расходные материалы, обучаем персонал заказчика. Не занимаемся технологиями очистки в нормально-фазовом режиме с применением органических растворителей в качестве элюентов.

Рассматриваем работы как по выделению и очистке небольших количеств субстанций или примесей, так и технологии очистки промышленного масштаба. Внедрим технологию на вашем производстве, используя современные непрерывные технологии очистки и колонки большого диаметра, увеличим производительность, снизим риск ошибок, обеспечим устойчивость технологического процесса.



**Biotage**

**ChromaCon**

**KNAUER**

**Kromasil**

### ПРЕДСТАВЛЯЕМ ПРОДУКЦИЮ:

- **Biotage AB (Швеция)** – пробоподготовка, органический и пептидный синтез
- **Chromacon (Швейцария)** – препаративные системы для непрерывной хроматографии
- **Knauder GmbH (Германия)** – препаративная и аналитическая хроматография
- **Nouryon (Швеция)** – сорбенты и колонки для хроматографии
- **A.I.T.France (Франция)** – оборудование для безопасной работы с растворителями

Увеличьте производительность пептидного и органического синтеза, используя микроволновые реакторы Initiator+. Для быстрой очистки полученных соединений используйте флеш-хроматографы Select. Высокоскоростные упариватели позволят вам получить готовое вещество из раствора за считанные минуты. Быстрота получения результатов, удобство работы и надежность оборудования – девиз компании Biotage.

Компания Chromacon с препаративной хроматографической системой Contichrom не имеет аналогов в мире. Она позволяет в непрерывном режиме MCSGP нарабатывать высокоочищенные субстанции, а в режиме N-Rich – примеси с производительностью и качеством, не достижимыми традиционными методами.

Препаративные хроматографические системы AZURA позволяют на одном приборе и разрабатывать, и масштабировать метод очистки за счет широкого диапазона скоростей потока и разнообразия используемых модулей в блоках Assistant.

Автоматизированное оборудование Biotage для подготовки проб позволит сделать рутинную работу легкой и займет совсем немного времени, а хроматографические сорбенты и ВЭЖХ-колонки Kromasil (Nouryon) незаменимы, если важна максимальная воспроизводимость от партии к партии как в контроле фармацевтических препаратов, так и в технологиях очистки.

Простое оборудование A.I.T.France обеспечит безопасную работу Вашего персонала с элюентами, содержащими токсические компоненты и растворители.

*Цена свободная*

*Подписка по каталогу «Почта России»,  
подписной индекс ПН132*

*При перепечатке и цитировании  
ссылка на «Сорбционные и хроматографические процессы»  
обязательна*

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

*Авторы статей, опубликованных в данном журнале, декларируют отсутствие явных  
и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией их статей*

Подписано в печать 10.04.2024. Формат 60×84 ½

Дата выхода в свет 22.04.2024

Усл. печ. л. 18,73. Тираж 50 экз. Заказ 74

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](mailto:nautyp@yandex.ru)

6+