

Цыплухина Юлия Вячеславовна



ЭКСТРАКЦИЯ
 α -АМИНОКИСЛОТ С АРОМАТИЧЕСКИМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ
СИНТЕТИЧЕСКИМИ ВОДОРАСТВОРИМЫМИ ПОЛИМЕРАМИ

02.00.02 – Аналитическая химия

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Воронеж 2006

Работа выполнена в Воронежском государственном университете

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Шаталов Геннадий Валентинович

Научный консультант: кандидат химических наук, доцент
Хохлов Владимир Юрьевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Нифталиев Сабухи Ильич
доктор химических наук, доцент
Лачинов Михаил Борисович

Ведущая организация: Институт геохимии и аналитической
химии имени В.И. Вернадского
(РАН) г. Москва

Защита состоится 29 сентября 2006 года в 14:00 на заседании
диссертационного совета Д 212.038.19 при Воронежском государственном
университете по адресу: 394006, г. Воронеж. Университетская пл., 1. ауд. 290

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Воронежского
государственного университета.

Автореферат разослан

« 28 » августа 2006 года

Ученый секретарь диссертационного совета



Крысин М.Ю.

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Получение лекарственных препаратов, искусственной пищи и ряда других жизненно важных продуктов придает актуальность вопросам создания новых, совершенствования и развития известных способов концентрирования и количественного определения природных α -аминокислот.

Сведения об экстракции биологически активных соединений необходимы для обоснования условий их извлечения, концентрирования, селективного разделения и определения. Интерес к экстракции БАВ, в частности, α -аминокислот, обусловлен также экспрессностью и легкостью технологического оформления процесса их выделения.

Большинство исследований по экстракции α -аминокислот с ароматическими заместителями из ферментационных растворов и гидролизатов посвящено изучению распределения целевых веществ в системах «вода – низкомолекулярный органический растворитель». Но традиционные экстракционные системы, как правило, не достаточно эффективны в отношении важнейших представителей α -аминокислот - фенилаланина, тирозина и триптофана.

Поиск новых, экологически безопасных и эффективных экстракционных систем для выделения и разделения биологически активных веществ (БАВ) является актуальной задачей современной аналитической химии. Перспективным направлением в решении такой задачи является использование в экстракционных системах водорастворимых высокомолекулярных соединений. К их числу могут быть отнесены такие широко применяемые в науке, технике и медицине поли-N-виниламиды как поли-N-винилпирролидон (ПВП), поли-N-винилкапролактамы (ПВКЛ), поли-N-винил-N-метилацетамид (ПВМА), а также полиэтиленгликоль (ПЭГ). Эти полимеры занимают особое место среди водорастворимых высокомолекулярных соединений, благодаря практически важным свойствам (нетоксичности, устойчивости в широком диапазоне pH и др). Одной из важнейших характеристик таких полимеров является способность к комплексообразованию со многими соединениями, при этом они могут выступать в качестве носителей БАВ. Изучение комплексообразования поли-N-виниламидов с аминокислотами в водных растворах позволяет рассмотреть как особенности взаимодействия полимеров с ароматическими α -аминокислотами, так и новые области использования водорастворимых полимеров. Исследования по экстракции α -аминокислот в системах, содержащих поли-N-виниламиды и ПЭГ, не проводились.

Цель работы. Установление общих закономерностей экстракционного выделения α -аминокислот с ароматическим заместителем из водных сред синтетическими водорастворимыми полимерами ряда поли-N-виниламидов и полиэтиленгликолем.

В ходе работы решались следующие задачи:

- исследование комплексообразующей способности синтетических полимеров ряда поли-N-виниламидов по отношению к α -аминокислотам;
- установление закономерностей распределения фенилаланина, тирозина и триптофана в системах «водорастворимый полимер – водно-солевой раствор»;
- оптимизация процессов разделения и выделения α -аминокислот с ароматическими заместителями с помощью синтетических водорастворимых поли-N-виниламидов и полиэтиленгликоля.
- модификация неионогенного сорбента Стиросорб N-винилпирролидоном и поли-N-винилпирролидоном для сорбционного извлечения α -аминокислот с ароматическими заместителями из водных растворов.

Научная новизна. Установлен характер взаимодействий в водных растворах α -аминокислот (фенилаланин, тирозин и триптофан) с синтетическими водорастворимыми карбоцепными полимерами ряда поли-N-виниламидов и гетероцепным полимером - полиэтиленгликолем. Показано, что эффективность экстракционных систем обусловлена образованием комплексных соединений между полимером и аминокислотой. Рассчитаны константы устойчивости (связывания) комплексов, свидетельствующие о влиянии строения бокового заместителя карбоцепного полимера и основной цепи на способность связывания α -аминокислот полимерами.

В результате направленного поиска стабильных двухфазных систем «водорастворимый полимер - водно-солевой раствор» для выделения и разделения фенилаланина, тирозина и триптофана найдены эффективные системы на основе поли-N-виниламидов и ПЭГ, содержащие сульфаты натрия и аммония.

Определены параметры экстракции (коэффициент распределения D, степень извлечения R,%) фенилаланина, тирозина и триптофана синтетическими водорастворимыми полимерами. По экстракционной способности синтетические водорастворимые полимеры по отношению к α -аминокислотам с ароматическими заместителями располагаются в ряд: ПВП > ПВКЛ > ПВМА > ПЭГ. Показано, что максимальная степень извлечения фенилаланина в предложенных экстракционных системах достигает 98% при двукратной экстракции.

Установлено, что применение поли-N-винилкапролактама позволяет проводить безреагентную рекстракцию за счет нагревания экстракционной системы до температуры фазового разделения.

Практическая значимость работы. На основании установленных закономерностей межфазного распределения фенилаланина, тирозина и триптофана предложены экстракционные системы для их извлечения и разделения синтетическими водорастворимыми карбо- и гетероцепными полимерами ряда поли-N-виниламидов и полиэтиленгликолем. С помощью пакета статистических программ Бокса оптимизированы условия

экстракционного выделения α -аминокислот. Выявлена возможность разделения двухкомпонентных смесей α -аминокислот с помощью ПЭГ.

Проведена модификация неионогенного сорбента Стиросорб N-винилпирролидоном и ПВП под действием γ -излучения, позволяющая повысить его сорбционные характеристики по отношению к α -аминокислотам.

Положения, представляемые к защите:

- взаимодействия в системах водорастворимый полимер - аминокислота;
- экстракционные системы «полимер – водно-солевой раствор аминокислоты», содержащие водорастворимые поли-N-виниламиды и ПЭГ, для извлечения и разделения α -аминокислот с ароматическими заместителями;
- количественные характеристики межфазного распределения α -аминокислот между водорастворимыми карбоцепными полимерами ряда поли-N-виниламидов и гетероцепным полиэтиленгликолем и водно-солевыми растворами;
- способ модификации неионогенного сорбента N-винилпирролидоном и поли-N-винилпирролидоном с целью улучшения его сорбционного действия.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, из них 5 статей в рецензируемых журналах и 6 тезисов докладов на международных и российских научных конференциях.

Апробация. Отдельные разделы работы доложены на Международном форуме «Аналитика и Аналитики» (Воронеж, 2-6 июня 2003 г.), XLVI Съезде Польского Химического общества (Lublin, Польша, 15-18 сентября 2003 г.), XVII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (г.Казань, 21-26 сентября 2003 г.), конференции «Полимеры 2003» (Москва, 25-29 октября 2003г.), XIII Российской конференции по экстракции (Москва, 19 - 24 сентября 2004 г.), конференции «Аналитика России», (Москва, 25-29 сентября 2004 года).

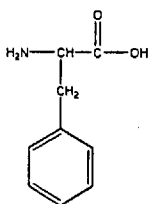
Объем и структура диссертации. Работа изложена на 140 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 169 ссылок, и приложения; содержит 42 рисунка и 21 таблицу.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

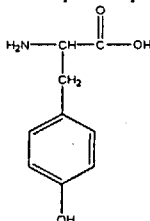
В обзоре приведены сведения о современных химических и физико-химических методах разделения и определения α -аминокислот. Дана оценка известным экстракционным системам для выделения α -аминокислот. Обзор свидетельствует, что поиск новых экстракционных систем для выделения и разделения аминокислот является одной из важнейших научных и практических задач. Расширение возможностей разделения веществ методом жидкостной экстракции путем использования двухфазных водных систем, доступность, устойчивость водорастворимых полимеров в широком диапазоне pH, послужили основанием для постановки данного исследования.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

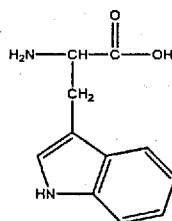
В главе II приводятся физико-химические свойства ароматических аминокислот фенилаланина, тирозина и триптофана:



Phe

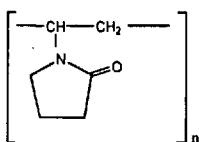


Tyr

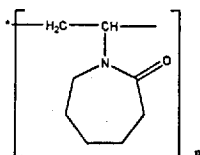


Trp

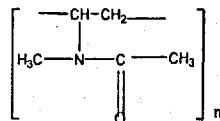
В качестве экстрагентов применены синтетические водорастворимые полимеры — поли-N-винилпирролидон, поли-N-винилкапролактам, поли-N-винил-N-метилацетамид, и полиэтиленгликоль:



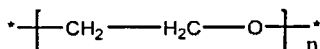
ПВП



ПВКЛ



ПВМА



ПЭГ

Средневязкостные молекулярные массы полимеров (M_n) составили: ПВП- $1,0 \cdot 10^4$ г/моль, ПВКЛ- $2,0 \cdot 10^4$ г/моль, ПВМА- $1,7 \cdot 10^4$ г/моль, ПЭГ- $5,0 \cdot 10^3$ г/моль.

Приведены свойства высаливателей, синтетических водорастворимых полимеров и неионогенного сорбента Стиросорб. Изложены методики построения фазовых диаграмм систем соль—полимер—вода, экстракционного извлечения, спектрофотометрического определения аминокислот и полимеров, констант устойчивости комплексных соединений (метод молярных отношений). Приведена методика анализа фаз до и после экстракции методом ИК-спектроскопии. Представлены методики синтеза и определения M_n полимеров. Описана иммобилизация N-винилпирролидона и поли-N-винилпирролидона на поверхности сорбента Стиросорб под действием γ -излучения, а также сорбция аминокислот на полученном модифицированном сорбенте.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Исследование комплексообразования в водных растворах полимеров с α -аминокислотами

Используемые водорастворимые поли-N-виниламиды характеризуются способностью к комплексообразованию по отношению к органическим соединениям различного строения. При экстракции α -аминокислот в водной среде поли-N-виниламидами происходит образование растворимых комплексов, что позволяет оптимизировать процесс выделения аминокислот.

При исследовании процессов комплексообразования в системах полимер — аминокислота в водной среде применены методы УФ - и ИК - спектроскопии. Как известно, ароматические аминокислоты обладают заметным поглощением в УФ - области спектра. Максимумы поглощения составляют 257, 275, и 279 нм для фенилаланина, тирозина и триптофана соответственно. В случае взаимодействия водорастворимых полимеров с α -аминокислотами будет проходить образование комплексов, характеризующихся оптическими параметрами, отличными от исходных компонентов.

На рис. 1. представлены спектры поглощения водного раствора ПВП, фенилаланина, а также их смеси.

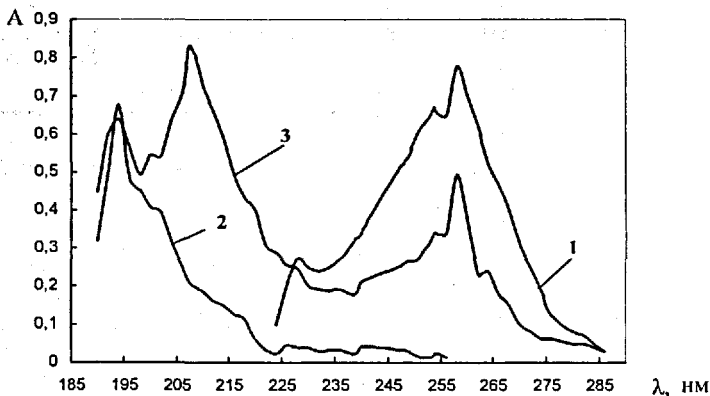


Рис. 1. УФ-спектр поглощения фенилаланина (1), поли-N-винилпирролидона (2), и их смеси (3).

На спектре проявляются максимумы поглощения индивидуальных компонентов — λ_{\max} (Phe) = 257 нм и λ_{\max} (ПВП) = 194 нм, а также

обнаруживается новый максимум при 210 нм. Это свидетельствует об образовании комплексного соединения в системе ПВП-Phe. Факт образования комплексного соединения также подтверждается данными ИК-спектроскопии. Уширение полос в области $\nu = 3400-3500 \text{ см}^{-1}$, а также смещение полосы поглощения карбонильной группы полимера ($\nu = 1620 \text{ см}^{-1}$), свидетельствует о наличии в системе межмолекулярных водородных связей.

С целью подтверждения комплексобразования полимеров с аминокислотами аналогичным образом исследованы системы ПВП -Тгр, ПВКЛ-Phe, ПВКЛ-Тгр, ПВМА-Phe, ПВМА-Тгр. На УФ-спектрах поглощения проявляются неспецифичные для индивидуальных компонентов максимумы — 222 нм для системы ПВКЛ - Тгр и 219 нм для ПВМА - Тгр.

На основании данных ИК-спектроскопии изученных систем, сделано заключение, что комплексобразование в системе водорастворимый полимер-аминокислота происходит за счет сочетания ион-дипольных, диполь-дипольных и водородных взаимодействий между $=\text{CO}$ и $-\text{NH}_3^+$ группами аминокислоты и поляризованными молекулами воды из гидратного окружения $\text{C}=\text{O}$ группы полимера.

Для количественной оценки комплексобразующей способности полимеров рассчитаны константы устойчивости образующихся соединений ($K_{уст}$). При определении $K_{уст}$ применен метод изомольных серий, основанный на измерении оптической плотности растворов в максимуме поглощения комплексного соединения при постоянном мольном соотношении компонентов. На основании экспериментальных данных находится переменная Δ , равная соотношению: $\Delta = \frac{A_1 - A_p}{A_1}$, где A_1 и A_p — оптическая плотность исходного и разбавленного раствора соответственно. При $\alpha_1 \ll 1$, где α_1 — мольная концентрация несвязанных молекул вещества в растворе $\Delta = \alpha_1(\sqrt{p} - 1)$, где p — кратность разбавления. С учетом полученных величин α_1 , выражение для константы устойчивости приобретает вид:

$$K_{уст} = \frac{(1 - \alpha_1)C_M}{m(\alpha_1 C_M)^m \left(\frac{n}{m} \alpha_1 C_M\right)^n},$$

где C_M — концентрация комплексобразователя, n и m — это соотношения концентраций двух серий растворов, α_1 — мольная концентрация несвязанных молекул.

Рассчитанные константы устойчивости образующихся комплексов приведены в Табл. I.

Константы устойчивости комплексов полимеров с α -аминокислотами

Система	ПВП - Phe	ПВП - Trp	ПВКЛ- Phe	ПВКЛ- Trp	ПВМА- Phe	ПВМА- Trp
$K_{уст.}$ л/моль	72,1	63,4	46,38	34,58	41,2	39,13

Расчитанные константы устойчивости образующихся комплексов для всех исследованных системах свидетельствуют, что исследуемые поли-N-виниламиды образуют так называемые «мягкие» комплексы с аминокислотами, т.е. комплексы со значениями констант устойчивости от 1 до 10^4 л/моль.

2. Фазовые равновесия в системах полимер—соль—вода

С целью поиска наиболее стабильной экстракционной гетерогенной системы проведено исследование водно-солевых растворов ПВП, ПВКЛ, ПВМА и ПЭГ. В качестве высаливателей применены: Na_2SO_3 , Na_2SO_4 , NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4HSO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KCl , K_2SO_4 , $\text{K}_2\text{SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Эффективность высаливателей оценена по полноте выделения (Р) раствора полимера в отдельную фазу ($P = V_{\text{равн}}/V_{\text{исх}}$), где $V_{\text{равн}}$ - объем водного раствора полимера в равновесии с насыщенным раствором соли, $V_{\text{исх}}$ - исходный объем водного раствора полимера.

Действие высаливателя на экстракционное равновесие обусловлено, как известно, его влиянием на диэлектрическую постоянную водного раствора и структуру воды. Вследствие гидратации больших количеств соли количество несвязанной воды уменьшается, что приводит к снижению растворимости полимеров в воде. В практическом отношении важно, что введение солей в водную фазу значительно повышает коэффициент распределения экстрагируемого вещества и, следовательно, влияет на полноту извлечения.

Установлено, что в системах с кислыми солями двухфазные системы не образуются. Так как высаливающее действие соли аддитивно складывается из действия катиона и аниона, уменьшение высаливающей способности кислых солей связано с меньшим ионным радиусом иона водорода.

Для последующей работы выбраны высаливатели $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и Na_2SO_3 , позволяющие получать двухфазные системы в широком диапазоне концентраций. Методом титрования раствора полимера раствором соли известной концентрации построены фазовые диаграммы водосодержащих систем ПВМА— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ПВМА— Na_2SO_3 , ПЭГ— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ПЭГ—

Na_2SO_3 , ПВП— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ПВП— Na_2SO_3 , ПВКЛ— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и ПВКЛ— Na_2SO_3 . Составу образующихся фаз отвечают величины, находящиеся выше бинадальной кривой. На рис.2 в качестве примера представлена фазовая диаграмма систем с ПВМА.

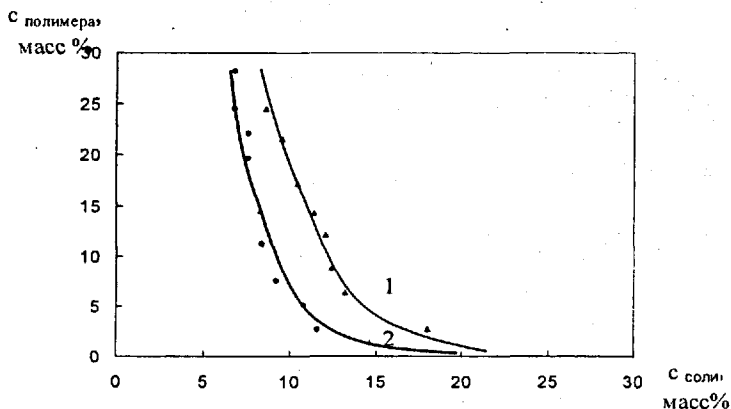


Рис.2. Фазовая диаграмма систем ПВМА— Na_2SO_3 (1) и ПВМА— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2)

Выявлено, что расслаивание системы с сульфатом аммония по сравнению с сульфитом натрия во всех исследуемых системах происходит при меньших концентрациях соли и полимера. Установлено, что при использовании в качестве высаливателя $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ гетерогенность системы не нарушается в широком диапазоне pH, а при использовании Na_2SO_3 двухфазная система образуется только в нейтральной среде. Это обстоятельство позволяет использовать экстракционные системы с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в широком диапазоне pH (pH=2...13), а Na_2SO_3 - только в нейтральной среде.

Принимая во внимание, что распределение низкомолекулярного вещества между фазами будет тем неравномернее, чем значительнее состав системы отличается от равновесного, то, с наибольшей эффективностью выделение изучаемых аминокислот в данных системах будет протекать с концентрациями полимеров свыше 10 масс % и насыщенными растворами солей. Таким образом, наиболее оптимальными экстракционными системами на основе изученных синтетических водорастворимых полимеров ряда поли-N-виниламидов и гетероцепного полиэтиленгликоля будут системы с высаливателями $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и Na_2SO_3 . Следует отметить, что применение ПВКЛ в качестве экстрагента позволяет расширить круг высаливателей, так как этот полимер образует гетерогенные системы со всеми используемыми неорганическими солями.

3. Экстракционное извлечение ароматических α-аминокислот из водно-солевых растворов водорастворимыми полимерами

Найденные коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R, %) фенилаланина, тирозина и триптофана в водно-солевых растворах аминокислот и поли-N-винилпирролидона приведены в табл. 2 и 3.

Установлено, что двукратная экстракция поли-N-винилпирролидоном в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и Na_2SO_3 при близких соотношениях объемов фаз позволяет до 98% извлечь α-аминокислоту из водно-солевых растворов (табл.2,3). Этим данным отвечают наиболее высокие значения констант устойчивости комплексов ПВП.

Таблица 2

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) тирозина, триптофана и фенилаланина поли- N-винилпирролидоном
 C (пвп) = $2,6 \cdot 10^{-2}$ моль /дм³, $C_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}$ = 5,7 моль /дм³

Аминокислота	pH	г	D	R ¹ ,%	R ² ,%
Тирозин	2,00	1,46	1,7	53,8	86,1
	5,63	1,50	2,16	58,9	87,5
	9,01	1,52	0,27	15,5	38,0
Триптофан	2,00	1,60	1,60	50,1	85,2
	5,88	1,54	2,16	57,8	86,2
	9,00	1,48	0,38	23,0	47,7
Фенилаланин	2,00	1,57	1,78	53,3	87,1
	5,91	1,49	5,96	80,1	98,0
	9,02	1,51	5,12	76,9	97,0

Таблица 3

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) тирозина, триптофана и фенилаланина поли-N-винилпирролидоном
 $C_{\text{ПВП}} = 2,6 \cdot 10^{-2}$ моль /дм³, $C_{\text{Na}_2\text{SO}_3} = 3,3$ моль/дм³

Аминокислота	pH	r	D	R ¹ ,%	R ² ,%
Тирозин	2,00	1,46	1,78	54,8	87,1
	5,63	1,54	2,31	60,0	91,2
	9,01	1,50	0,26	17,2	37,2
Триптофан	2,00	1,60	1,26	44,2	80,4
	5,88	1,54	2,23	59,2	90,4
	9,00	1,48	0,37	20,0	47,3
Фенилаланин	2,00	1,57	2,01	55,6	89,0
	5,91	1,46	5,46	78,8	97,7
	9,02	1,31	3,58	73,2	95,3

Коэффициенты распределения и степени извлечения аминокислот в системах с ПВКЛ приведены в табл. 4 и 5. Из представленных данных следует, что для фенилаланина и триптофана наблюдаются максимальные степени извлечения в системах с хлоридами натрия и калия.

С целью наибольшей полноты извлечения аминокислоты экстракция триптофана проведена (табл.5.) при различном соотношении фаз (r). Вследствие высокой взаимной растворимости фаз, соотношение равновесных объемов фаз значительно отличается от исходного ($r_{\text{исх}}=0,5$). Из представленных данных следует, что наибольшие степени извлечения α -аминокислот наблюдаются при меньшем соотношении объемов фаз.

Как известно, особенностью водных растворов ПВКЛ является наличие невысоких значений температуры фазового разделения ($T_{\text{фр}}$). Для макромолекул ПВКЛ с $M > 5000$ $T_{\text{фр}}$ находится в интервале 32-37 °С. Установлено, что при повышении температуры до $T_{\text{фр}}$, происходит выделение полимера в отдельную фазу. Это позволяет проводить с помощью ПВКЛ безреагентную рекстракцию.

Таблица 4

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) фенилаланина
поли-N-винилкапролактамом

$$c_{\text{гвкл}} = 4,8 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3, c_{\text{pnc}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3$$

Высаливатель	Концентрация соли, моль/дм ³	г	D	R, %
NaCl	6,16	2,2	2,20	50,0
KCl	4,56	1,8	2,13	54,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	5,70	1,4	1,31	48,3
Na ₂ SO ₃	2,10	0,9	0,64	41,7
CH ₃ COONa	5,70	0,8	0,65	45,0

Таблица 5

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) триптофана
поли-N-винилкапролактамом

$$c_{\text{гвкл}} = 4,8 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3$$

Высаливатель	Концентрация соли, моль/дм ³	г	D	R, %
NaCl	6,16	1,60	5,50	87,5
		3,00	5,88	76,2
KCl	4,56	1,60	2,58	61,6
		3,00	1,92	39,2
(NH ₄) ₂ SO ₄	5,70	1,28	0,53	29,2
		3,00	0,99	25,0
		1,25	0,40	24,2
		1,60	0,58	26,6

На основании данных ИК- спектров, сделано заключение о гидратном механизме экстракции, протекающем за счет образования водородных связей гидратной оболочки пирролидинового кольца, а также $=\text{CO}$ и $-\text{NH}_2$ группами аминокислоты. Об этом свидетельствуют уширение полос в ИК-спектрах в области $3400 - 3050 \text{ см}^{-1}$, характерных для воды, изменение интенсивности полос поглощения при 1620 см^{-1} , характерных для валентных колебаний карбонильной группы.

Наряду с использованием при экстракции ПВП и ПВКЛ, проведено исследование эффективности экстракционных систем на основе поли-N-винил-N-метилацетамида. Установлено, что эффективность извлечения триптофана с помощью ПВМА в присутствии NH_4_2SO_4 и Na_2SO_3 при однократной экстракции достаточно высока ($R = 73,4 \%$). Это объясняется наличием в молекуле ПВМА двух центров с повышенной электронной плотностью, приводящих к усилению ион - дипольного взаимодействия между функциональными группами полимера и аминокислоты. Следует отметить, что максимальные степени извлечения аминокислот достигаются при $\text{pH} = \text{pI}$. (табл.6).

Таблица 6

Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R) триптофана поли-N-винил-N-метилацетамидом;

$$C_{\text{ПВМА}} = 3,2 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3 \quad C_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} = 5,7 \text{ моль /дм}^3$$

Аминокислота	pH	r	D	R, %
Триптофан	2,10	0,42	0,52	55,5
	5,88	0,32	0,88	73,4
	9,05	0,38	0,66	63,1
Тирозин	2,07	0,42	0,25	37,3
	5,63	0,37	0,66	63,6
	8,92	0,35	0,78	69,2
Фенилаланин	2,15	0,38	0,13	25,3
	5,91	0,43	0,04	9,7
	9,02	0,42	0,11	21,5

Учитывая, что для экстракции различных неорганических ионов успешно применяют системы с полиэтиленгликолем, проведено изучение экстракционного извлечения α -аминокислот из водно-солевых растворов ПЭГ. Установлено, что максимальная степень извлечения с использованием ПЭГ в качестве экстрагента 60,6% для триптофана при однократной экстракции.

Выявлено, что экстракционные системы с ПЭГ, как и в случае с ПВМА, не эффективны в отношении фенилаланина. Таким образом установлено, что наименее эффективной из изученных систем являются системы с ПЭГ. Это объясняется строением полимера. Экстракция аминокислот в присутствии ПЭГ обусловлена, видимо, в значительной степени гидрофобными взаимодействиями этиленовых групп молекулы полимера. Сила таких взаимодействий невелика, что находит свое отражение в невысоких коэффициентах распределения.

На основании полученных экспериментальных данных рассчитано количество последовательных экстракций, необходимых для полного извлечения аминокислот (Табл.7.).

Таблица 7

Количество последовательных экстракций, необходимое для полного извлечения вещества

Аминокислота	Полимер			
	ПВМА	ПЭГ	ПВП	ПВКЛ
	(NH ₄) ₂ SO ₄			NaCl
Тирозин	4	5	3	2
Триптофан	3	4	3	2
Фенилаланин	16	18	2	3

Сравнение экстракционных характеристик применяемых полимеров представлено на рис. 5. Из данных табл. 7 и рис. 5 следует, что наиболее эффективными экстракционными системами для извлечения ароматических аминокислот является поли-N-винилпирролидон – (NH₄)₂SO₄ — аминокислота и поли-N-винилкапролактан – NaCl—аминокислота. При этом выявлено, что для полного извлечения α-аминокислот необходимо провести 2 и/или 3 последовательные экстракции новой порцией экстрагента в системах с ПВП и ПВКЛ.

На основании полученных экспериментальных данных установлено, что эффективность используемых полимеров по отношению к аминокислотам изменяется в ряду: поли-N-винилпирролидон > поли-N-винилкапролактан > поли-N-винил-N-метилацетамид > полиэтиленгликоль. Последовательность в ряду поли-N-виниламидов согласуется с найденными величинами констант устойчивости комплексов.

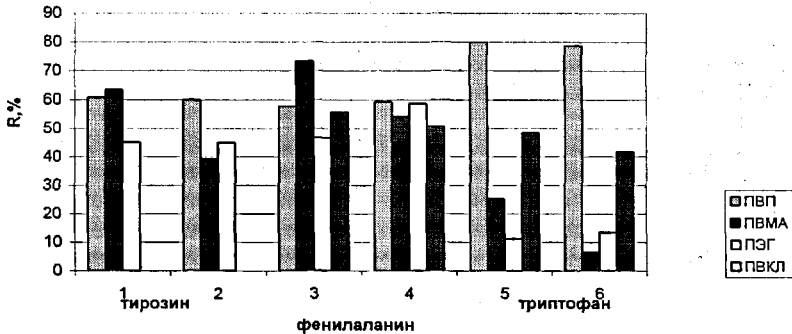


Рис.5. Эффективность экстракции синтетическими водорастворимыми полимерами в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1,3,5) и Na_2SO_3 (2,4,6)

Для каждой группы наблюдений с помощью пакета статистических программ Бокса строились диаграммы размаха параметров экстракции. Диаграмма размаха степени извлечения для каждой из аминокислот (рис.6) отображает изменения значений степени извлечения аминокислот в отдельных группах, включающих в себя влияние всех возможных факторов для каждого полимера в отдельности.

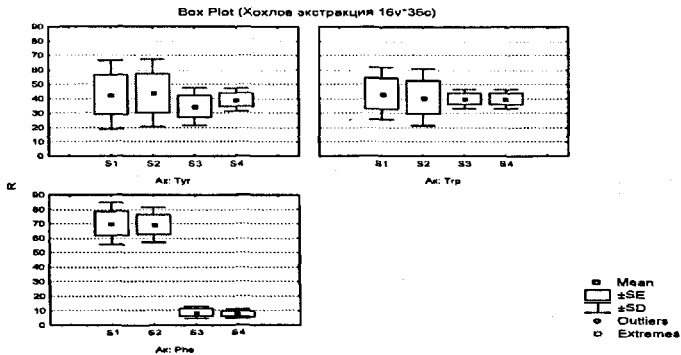


Рис.6. Диаграмма размаха степени извлечения (R) для каждой из аминокислот. S1-ПВП; S2-ПВКЛ; S3-ПВМА; S4-ПЭГ.

Точкой внутри прямоугольника представлено среднее значение для каждой группы результатов. Среднее значение показывает "центральное положение" переменной R. Прямоугольник соответствует значениям стандартного отклонения. Диаграммы размаха различных параметров процесса позволяют учитывать взаимное влияние всех факторов на определяемую количественную характеристику.

4. Разделение бинарных смесей аминокислот

При экстракции α -аминокислот в присутствии ПЭГ наблюдаются значительные различия коэффициентов распределения, что указывает на возможность разделения смесей аминокислот. Критерием разделения двух соединений при однократной экстракции является фактор разделения γ , равный отношению коэффициентов распределения разделяемых веществ ($\gamma = D_1/D_2$)

Результаты разделения (табл.8) фенилаланина и триптофана в присутствии ПЭГ с использованием $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ как наиболее эффективного высаливателя для этой системы показывают, что максимальные значения γ составляет 8,37. В этом случае степень извлечения R триптофана значительно больше, чем фенилаланина.

Таблица 8

Разделение фенилаланина и триптофана полиэтиленгликолем
Высаливатель $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Аминокислота	$C_{\text{исх. в смеси}}$ Моль / дм^3	D	R, %	γ Коэффициент разделения
Триптофан	$4,9 \cdot 10^{-4}$	1,75	63,2	8,37
Фенилаланин	$5,9 \cdot 10^{-3}$	0,3	15	

Полученный фактор разделения аминокислот свидетельствует о возможности разделения α -аминокислот методом экстракции с применением ПЭГ.

5. Сорбционное выделение фенилаланина неионогенным сорбентом, модифицированным поли-N-винилпирролидоном и N-винилпирролидоном

С учетом полученных данных о комплексообразовании α -аминокислот с поли-N-виниламидами и установленного эффективного применения полимеров

в экстракции, проведена модификация неионогенного сверхсшитого сорбента Стиросорб МХДЭ-100 N-винилпирролидоном и ПВП под действием γ -излучения. Целью модификации являлось улучшение сорбционных характеристик сорбента в случае его применения для выделения α -аминокислот из водных растворов. Модификация осуществлена обработкой сорбента водным раствором ПВП и раствором N-винилпирролидона в динамических и статических условиях при различных температурах и последующим воздействием γ -излучения. Сорбционное выделение проведено на примере фенилаланина.

Количество сорбированного мономера и полимера в равновесном растворе контролировали спектрофотометрически. Установлено, что до облучения при проведении процесса в статических условиях сорбируется от 32% (при 25°C) до 46% (при 80°C) N-винилпирролидона, а также от 28% (при 25°C) до 39% (при 80°C) ПВП от исходного количества реагентов в растворах.

В случае проведения процесса обработки сорбента до облучения в динамических условиях со скоростью процесса растворения 2 мл/мин при 25°C сорбировалось N-винилпирролидона и ПВП за 2 часа 16% и 14% соответственно.

Для изучения влияния γ -излучения на сорбенты, а также для необратимой иммобилизации ПВП и N-винилпирролидона исходный и модифицированный образцы Стиросорба облучали дозами γ -излучения 10^5 - 10^6 рад.

Методом ИК-спектроскопии подтверждена прошедшая модификация Стиросорба. В образцах модифицированного Стиросорба появляются характеристические для ПВП полосы поглощения: 1101 см^{-1} — пирролидоновый цикл, 1650 - 1630 см^{-1} — валентные колебания $>CO$ и др.

Полученные данные о сорбции (в динамических и статических условиях) фенилаланина модифицированным и немодифицированным сорбентом свидетельствуют, что модификация поли-N-винилпирролидоном приводит к увеличению количества сорбированной аминокислоты до 20%.

Выводы

1. Изучено взаимодействие высокомолекулярных соединений ряда поли-N-виниламидов, различающихся строением бокового заместителя, с α -аминокислотами (фенилаланином, тирозином и триптофаном) в водных растворах. Спектральными методами подтверждено комплексобразование за счет межмолекулярных водородных связей.
2. Получены стабильные гетерогенные системы «полимер - водно-солевой раствор» с использованием поли-N-винилпирролидона (ПВП), -капролактама (ПВКЛ), -N-метилацетамида (ПВМА) и полиэтиленгликоля (ПЭГ) для экстракционного извлечения и разделения α -аминокислот с ароматическими заместителями. Показано, что устойчивые двухфазные системы образуются с сульфатом аммония в широком диапазоне pH растворов и с сульфитом натрия в нейтральных средах.

3. Рассчитаны количественные характеристики межфазного распределения α -аминокислот с ароматическими заместителями в 35 экстракционных системах. Найдено, что максимальная степень извлечения аминокислот (98%) достигается при двукратной экстракции фенилаланина. С помощью пакета статистических программ оптимизирован состав фаз и условия экстракционного выделения аминокислот в водных полимерных системах
4. Обнаружено, что применение в качестве экстрагента водных растворов поли-N-винилкапролактама, проявляющего способность к термоосаждению при невысоких температурах, позволяет проводить безреагентную рекстракцию путем нагревания раствора выше температуры фазового разделения.
5. Предложен способ модификации неионогенного сорбента Стиросорб N-винилпирролидоном и ПВП под действием γ -излучения для извлечения α -аминокислот из водных растворов. Показано, что модификация сорбента приводит к увеличению количества сорбированной аминокислоты на 20 %.

Основные положения диссертации изложены в следующих публикациях:

1. Цыплухина Ю.В. Применение водорастворимых полимеров для экстракционного извлечения ароматических аминокислот / Ю.В. Цыплухина, Н.Я.Мокшина, Г.В.Шаталов [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология.-2006.-Т.60, вып.6.-с.137-141
2. Цыплухина Ю.В. Спектроскопическое исследование комплексов поли-N-винилпирролидона с фенилаланином и валином /Ю.В. Цыплухина, Н.Я.Мокшина, Г.В.Шаталов [и др.] // Известия вузов. Химия и химическая технология.-2005.-Т.48, вып.6.-с.214-218.
3. Цыплухина Ю.В. Имобилизация N-винилпирролидона на поверхности неионогенного сорбента / Ю.В. Цыплухина, В.Ю. Хохлов [и др.] // Конденсированные среды и межфазные границы.-2004.-Т.6.-№4.-С.411-415.
4. Хохлов В.Ю. Определение состава и устойчивости комплексов аминокислот с поли-N -виниламидами методом УФ-спектроскопии / В.Ю.Хохлов, Ю.В. Цыплухина [и др.] // Аналитика России: тез. докл. Междунар. конф., Москва, 2004 г. – С.191.
5. Мокшина Н.Я. Экстракция фенилаланина водорастворимыми полимерами / Н.Я.Мокшина, Ю.В. Цыплухина [и др.] // XIII Российская конференция по экстракции: тез. докл., Москва, 2004 г.-Ч.2 - С.68.
6. Хохлов В.Ю. Модификация макросетчатого сорбента Стиросорб N-винилпирролидоном / В.Ю.Хохлов, Ю.В. Шляхина, В.Ф. Селеменев [и др.] // Полимеры 2003: тез. докл., Москва, 2003 г. – Т.2.-С.147-148
7. Мокшина Н.Я. Получение селективных сорбентов на основе Стиросорба для выделения и разделения аминокислот/ Н.Я. Мокшина,

- В.Ю.Хохлов, Ю.В. Цыплухина [и др.] / XVII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тез. докл., г. Казань, 2003 г.-С.298.
8. Мокшина Н.Я. Экстракционно-спектрофотометрическое определение витамина А в водных растворах / Н.Я.Мокшина, Ю.В. Цыплухина [и др.] // XLVI Съезд Польского Химического общества: тез. докл.- Lublin, Польша, 2003 г- Т.1, секция S1-S5, С.347.
 9. Мокшина Н.Я. Фотометрическое определение витамина А и провитамина А при совместном присутствии / Н.Я. Мокшина, Ю.В. Цыплухина [и др.] // Вестник Воронежского госуниверситета.- № 2 .- 2003, с.53-55
 10. Мокшина Н.Я. Спектрофотометрическое определение микроколичеств витамина А и провитамина А (β -каротина) / Н.Я. Мокшина, В.Ю. Хохлов, Ю.В. Цыплухина // Международный форум "Аналитика и Аналитики"- тез. докл.-Воронеж, 2003 г. -Т.2., С.436.
 11. Хохлов В.Ю. Сорбция аминокислот из водно - бутанольных растворов катионитом КУ-28/ В.Ю. Хохлов, Ю.В. Цыплухина [и др.] //Сорбционные и хроматографические процессы.-2002.-вып.5-6.-Т.2.- с. 545-548.

