

**ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СОРБЕНТОВ  
МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ**

**Ю. С. Надежин, Л. Е. Шатаева, Н. Н. Кузнецова,  
А. В. Сидорович, Г. В. Самсонов**

Разработана методика измерения малоуглового рентгеновского рассеяния на образцах ионитов в набухшем состоянии. При помощи калибровочных измерений известных полимеров и растворов белков показано, что эта методика может быть использована для оценки площади внутренней поверхности и эффективных размеров пор в этих полимерах. Высокая концентрация белковых растворов и микропор в сорбентах не приводит к значительным ошибкам в измерении площади поверхности раздела рассеивающей фазы по методу Порода. Показано, что эти сорбенты типа биосорб имеют развитую внутреннюю поверхность порядка сотен  $\text{м}^2/\text{см}^3$ , создаваемую микропорами, размеры которых соизмеримы с размерами белков.

Определение микрогетерогенности различных сорбентов важно для понимания механизма сорбции, а также для получения моделей твердого тела с известной пористостью. Для этих целей используются различные методы: ртутная и газовая порометрия, малоугловое диффузное рассеяние рентгеновых лучей. Последний метод

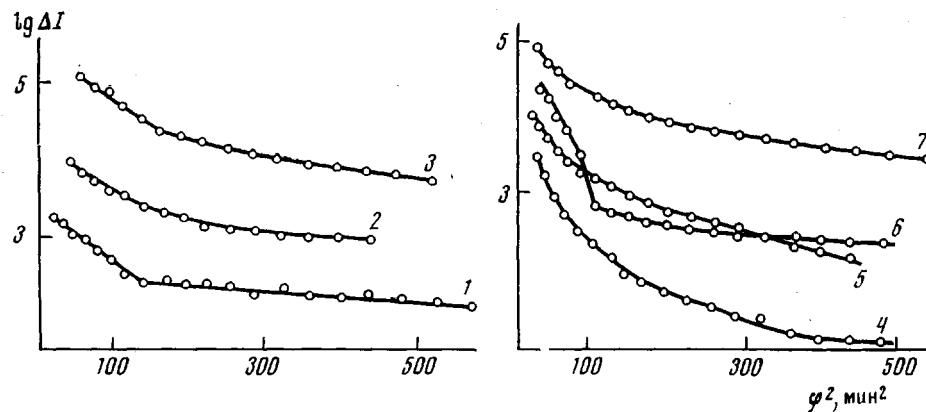


Рис. 1. Построение Гинье для растворов СА (1); рибонуклеазы (2); гемоглобина (3) и набухших катионитов КУ-23 (4); Б-12 (5); Б-33 (6) и Б-42 (7). Для рибонуклеазы приведены значения  $lg I(\Phi) - 1$

обладает существенными преимуществами в экспериментальном отношении, он находит широкое использование для определения различного типа неоднородностей. В связи с этим представлялось интересным выяснить его возможности для изучения структуры новых перспективных сорбентов типа КМТ (продукты сополимеризации метакриловой кислоты и триазина).

Поскольку рентгеновские данные могут давать информацию как о размерах неоднородностей, так и о валовых характеристиках гетерогенности, использовали два способа обработки экспериментальных результатов. Первый заключался в определении максимальных и минимальных размеров пор, второй – в расчете удельных поверхностей раздела фаз. Полученные результаты контролировали измерением тест-объектов, в качестве которых использовали растворы белков и образцы сорбентов, пористость которых была определена другими независимыми способами.

Использовали растворы следующих белков в 0,05 M фосфатном буфере с pH 5,8.

Сывороточный альбумин (СА), человеческий, кристаллический, фирмы Шухрадт (ФРГ) с концентрацией 38 мг/мл. Гемоглобин бычий, полученный в нашей лаборатории из свежих эритроцитов по методу Антонини [3], с концентрацией 48 мг/мл. Рибонуклеаза панкреатическая, препарат, выпускаемый Ленинградским комбинатом, дополнительно очищенный на биогеле Р-4, с концентрацией 50 мг/мл.

Использовали образцы сульфокатионита макропористого КУ-23, синтезированные с использованием гептана (КУ-23а) и фракции бензина «галоша» (КУ-23б).

Для исследования были выбраны следующие образцы карбоксильного катионита типа КМТ [4]: биосорб-12, синтезированный из водного раствора (Б-12); биосорб-33, синтезированный из 50% диметилформамида (Б-33), и биосорб-42, синтезированный из 5% уксусной кислоты (Б-42).

Все катиониты использовали в водородной форме в набухшем виде состоянии.

Измерение малоуглового рентгеновского рассеяния проводили на приборе КРМ-1. Угловая расходимость рентгеновского луча составляла 2,7 угл. мин. Источником рентгеновых лучей служила трубка БСВ-11 с  $\text{Cu}K_{\alpha}$ -излучением, отфильтрованным никелевыми фильтрами. Образцы помещали в специально изготовленные кюветы с лавсановыми окнами, позволяющие производить измерение рассеяния от растворов и сорбентов в набухшем состоянии, не нарушая вакуума в камере. Измерение рассеяния от образцов производили методом Уоррена [5], т. е. поочередно помещали кювету в положение рассеяния и перед первой щелью. Внутренняя поверхность образцов ионитов и эффективные размеры радиусов инерции рассеивающих частиц в фазе ионита рассчитывали по методам, описанным в работах [5, 8].

Измерение интенсивности малоуглового рентгеновского рассеяния проводили в интервале углов 4–50°. На рис. 1 приведены графики Гинье для растворов белков и исследованных сорбентов. Оценку максимальных и минимальных эффективных размеров рассеивающих частиц проводили по методу, описанному в работе Кратки [6]. Средний радиус инерции частиц  $R_s$  определяли по наклону кривой в начальной части графика, т. е. при  $\phi \rightarrow 0$ , используя соотношение

$$R_s = \frac{6.9\lambda^2}{16\pi^2} \operatorname{tg} \alpha; \quad \operatorname{tg} \alpha = \frac{d(\lg \Delta I)}{d(\phi^2)} \quad (1)$$

Здесь  $\Delta I$  – измеряемая интенсивность рассеянного излучения с поправкой на фон,  $\lambda$  – длина волны, а угол  $\phi$  выражен в радианах.

$R_s$  связан с размерами крупных  $R_{\max}$  и мелких  $R_{\min}$  частиц следующим отношением:

$$R_s = KR_{\min}^2 + (1-K)R_{\max}^2 \quad (2)$$

где  $K$  – отношение интенсивности рассеяния меньших частиц к общей интенсивности рассеяния при нулевом угле.  $R_{\min}$  определяли по наклону кривой в правой части графика.

Таблица 1

Размеры рассеивающих частиц для калибровочных объектов и для исследуемых катионитов биосорб

Объект	$K$	$R_{\min}, \text{\AA}$	$R_{\max}, \text{\AA}$	$R_{\text{реф}}, \text{\AA}$	Литература
СА	0,125	31,3	103	29,9	[7]
Гемоглобин	0,056	47,2	92	55	[3]
Рибонукле- аза	0,09	24,8	100	18,3	[9]
КУ-23а	0,01	31	190	—	—
КУ-23б	0,01	60	180	—	—
Б-12	0,1	57	136	—	—
Б-33	0,01	24,8	140	—	—
Б-42	0,1	37,4	119	—	—

Таблица 2

Удельные площади внутренней поверхности сорбентов в набухшем состоянии

Сорбент	$\lim_{h \rightarrow \infty} [h^3 I(h)]$	$P$	$S/V, \text{м}^2/\text{см}^3$	
			рентгенографи- чески	БЭТ
КУ-23а	0,376	37,2	101	87
КУ-23б	0,016	7,1	22,5	17,8
Б-12	0,021	1,7	127	—
Б-33	0,012	40,4	3,0	—
Б-42	0,08	3,48	230	—

В табл. 1 приведены средние значения нескольких измерений  $R_{\max}$  и  $R_{\min}$  для калибровочных и исследуемых образцов полимеров, а также для белков, размеры которых  $R_{\text{реф}}$  известны из литературы.

Из табл. 1 видно, что принятый нами метод измерения и расчетов позволяет удовлетворительно оценить размеры рассеивающих частиц по  $R_{\min}$ . Несмотря на высокую концентрацию белков в растворе (50 мг/мл), среднее отклонение полученных нами размеров от литературных данных не превышает 20%. Полученные значения  $R_{\max}$ , по-видимому, объясняются ассоциацией белков при данной ионной силе раствора и

достаточно высоких концентрациях. Определенные размеры макропористых катионитов КУ-23 с точностью до 20% совпадают с величинами, определенными для аналогичных полимеров методом ртутной порометрии [2].

Кроме того, нами была предпринята попытка оценить удельную поверхность раздела рассеивающей фазы по методу Порода [5].

Как видно из рис. 2, интенсивность фона  $I_\Phi$  хорошо подчиняется зависимости  $I_\Phi = K_{1/\varphi^3} + K_2$  (3), где  $\varphi$  — половина угла рассеяния,  $K_1$  и  $K_2$  — постоянные. Соотношение (3) соответствует коллимации бесконечно длинными щелями. При этом удельная поверхность раздела фаз в образце будет вычисляться по формуле

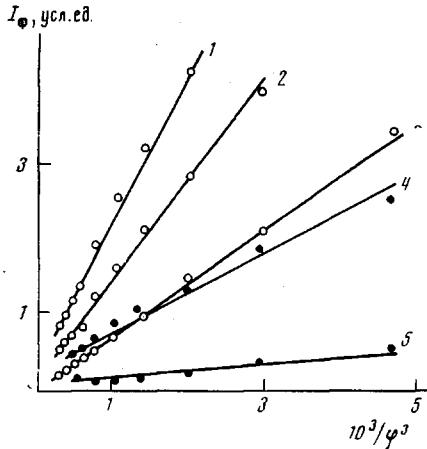


Рис. 2. Зависимость интенсивности фона измеряемых образцов от  $1/\varphi^3$  для растворов гемоглобина (1); рибонуклеазы (2); СА (3); набухших сорбентов Б-33 (4) и КУ-23 (5).

Из табл. 2 видно, что для макропористых сульфкатионитов КУ-23 величины  $S/V$ , определенные из рентгеновских измерений, хорошо совпадают с величинами, определенными по методу БЭТ. Следует отметить, что использованный нами метод расчета удельной поверхности раздела рассеивающей фазы в исследованных сорбентах дает достоверную валовую характеристику полимера, чем оценка  $R_{\min}$  и  $R_{\max}$ , поскольку метод расчета  $S/V$  менее чувствителен к высокой концентрации рассеивающих объектов.

$$S/V = 4c(1-c) \frac{\lim[h^3 I(h)]}{P}, \quad (4)$$

где  $c$  — удельный объем рассеивающей фазы;  $h = \frac{4\pi}{\lambda} \varphi$ , а  $P = \int h \cdot I(h) dh$  определяется графически при  $h \rightarrow \infty$ .

В связи с тем, что при увеличении  $h$  кривые быстро выходят на насыщение, достаточно было производить измерение до 30'.

Для проверки этого метода расчета определяли площадь поверхности раздела в калибровочных белковых растворах СА, гемоглобина и рибонуклеазы, и получили, что этот метод позволяет определить от 80 до 98% действительной поверхности раздела, которую можно рассчитать по геометрическим размерам белков, известным из литературы [3, 7, 9].

В табл. 2 приведены полученные значения  $P$ ,  $\lim[h^3 I(h)]$  и рассчитанные из них значения  $S/V$ . При расчете предполагали, что для полимеров  $c=0,5$ . В последнем столбце указаны величины  $S/V$ , определенные методом БЭТ по сорбции азота при низкой температуре [1].

Таблица 3  
Емкость сорбции белков на катионитах биосорб

Белок	Размер глобулы, Å	Б-12		Б-42	
		мг/г	об. %	мг/г	об. %
СА	29,9	810	19,2	580	13,7
Химотрипсиноген		330	7,7	320	7,6
Рибонуклеаза	19	230	5,6	350	8,8
Террилитин	26 *	102	2,4	610	14,5

\* Выделение и физико-химические свойства протеазы террилитина описаны в [10].

Для сравнения полученных из рентгеновских измерений результатов с результатами, полученными из других методов, были определены предельные емкости сорбции катионитов биосорб по отношению к различным белкам. Емкости сорбции определяли в статических условиях при оптимальном для сорбции значении pH равновесного раствора из 0,05 M фосфатного буфера. Исходные концентрации белков составляли 5–20 мг/мл.

В табл. 3 приведены полученные емкости сорбции различных белков и расчетная величина объемной доли, занятой белком данного молекулярного веса в объеме набухшего полимера. При расчете предполагалось, что средняя плотность белковых молекул равна  $1,6 \text{ г}/\text{см}^3$ , а средняя плотность набухшего сорбента составляет  $0,38 \text{ г}/\text{см}^3$ . Сорбция белков, обладающих ферментной активностью на образце Б-33, как правило, сопровождалась инактивацией фермента, а сорбция глобулярных сывороточных белков проходила необратимо. Поэтому результаты, полученные для Б-33, не рассматриваются.

Из табл. 3 следует, что катиониты Б-12 и Б-42 обладают высокой емкостью сорбции по отношению к белкам различного молекулярного веса и размера. При сравнении табл. 1 и 2 с табл. 3 видно, что емкость сорбции белков находится в соответствии с  $R_{\min}$  и  $R_{\max}$  сорбентов, и удельный объем, занимаемый белками в сорбенте, разумно коррелирует с удельной внутренней поверхностью сорбентов. Б-42 по сравнению с Б-12 обладает повышенной способностью сорбировать белки с молекулярным весом 30 000, а Б-12 с наибольшей емкостью сорбирует СА (молекулярный вес  $\sim 60\ 000$ ). Это позволяет предположить различные формы распределения микропор по размерам в исследованных нами карбоксильных катионитах.

Институт высокомолекулярных соединений АН СССР

Поступила в редакцию  
10 IV 1974

#### ЛИТЕРАТУРА

1. К. М. Салададзе, Т. К. Бруцкус, Э. А. Уварова, М. А. Федотова, Пласт. массы, 1971, № 2, 28.
2. G. P. Herz, Energie und Technik, 21, 63, 1969.
3. E. Antonini, Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands, N. Y., 1972.
4. Н. Н. Кузнецова, К. М. Генендер, Г. В. Самсонов, А. А. Селезнева, Г. П. Бабенко, Т. А. Козлова, О. Я. Виталс, А. А. Штраус, Авт. свид. 322332; Бюлл. изобретений, 1971, № 36.
5. A. Guinier, G. Fournet, Small-angle Scattering of X-rays, N. Y., 1955, p. 156.
6. O. Kratky, Progress in Biophys and Molec. Biol., 13, 105, 1963.
7. H. N. Ritland, P. Kaesberg, W. W. Beeman, J. Amer. Phys., 18, 1237, 1950.
8. Сб. Новейшие методы исследования полимеров, под ред. В. А. Каргина, Н. А. Платова, «Мир», 1966, стр. 197.
9. The Enzymes, ed. P. D. Boyer, N. Y., 1971, p. 704.
10. Г. В. Самсонов, Л. К. Шатаева, О. В. Орлиевская, Докл. АН СССР, 206, 497, 1972.

УДК 541.64:535.37

#### К ВОПРОСУ ОБ ОПРЕДЕЛЕНИИ ОРИЕНТАЦИИ ПОЛИМЕРНЫХ ЦЕПЕЙ МЕТОДОМ ПОЛЯРИЗОВАННОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Ю. В. Бресткин, Э. С. Эдилян, С. Я. Френкель

Работа посвящена методике определения параметров функции ориентации сегментов полимерных цепей в блоке, основанной на измерении интенсивности поляризованной люминесценции.

В теориях метода поляризованной люминесценции [1, 2], используемого для определения ориентации макромолекул в ориентированных полимерных пленках, отсутствует коррекция на различие направлений вектора внешнего электрического поля, возбуждающего люминесценцию, и вектора эффективного локального поля. Предпринятое нами исследование преследовало цель учесть это различие в выражениях, связывающих интенсивность люминесценции с параметрами функции ориентации осцилляторов люминесценции.

Пусть пучок возбуждающего излучения падает на поверхность пленки под углом  $\alpha$ , а регистрируемое люминесцентное излучение направлено перпендикулярно к ее поверхности (рисунок). Обозначим через  $\gamma$  угол между плоскостью падения и осью деформации пленки. Если электрический вектор возбуждающего света вне полимерной пленки параллелен плоскости падения, то при  $\gamma=0$  и  $90^\circ$  вектор эффективного локального поля также параллелен этой плоскости, а при различиях показателей преломления пленки вдоль и перпендикулярно оси деформации, не превосходящих 0,02, этот вектор направлен под углом  $\beta=\arcsin[(\sin \alpha)/n]$  к поверхности пленки. Последнее вытекает из закона преломления и соответствует приближению Лоренца [3] ( $n$  — средний показатель преломления). Будем определять отношение интен-