

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 541(64+183.12):539.2

О СТРУКТУРЕ И ПРОНИЦАЕМОСТИ БИОСОРБЕНТА «КМТ-М»

*Кузнецова Н. Н., Юрченко В. С., Папукова К. П.,  
Муравьева Т. Д., Дубинина Н. И., Цуканова Л. М.,  
Самсонов Г. В.*

Важнейшими свойствами биосорбентов являются пористость и их проницаемость по отношению к макромолекулам белков.

В статье приведены экспериментальные данные, полученные при изучении пористости и проницаемости биосорбентов «КМТ-М» — карбоксильных сетчатых полиэлектролитов, полученных осадительной трехмерной сополимеризацией метакриловой кислоты (МАК) и гексагидро-1,3,5-триакрилоилтриамина (ГТА).

Электронно-микроскопическими исследованиями ранее было показано, что СПЭ, синтезированные в определенных условиях, характеризуются в гидратированном состоянии неоднородным распределением полимерной фазы — уплотненными гелевыми областями и разреженными негелевыми пространствами [1]. Они имеют развитую поверхность раздела (до 100—120 м<sup>2</sup>/мл набухшего сорбента), что свидетельствует об их пористой структуре.

Гетерогенная структура карбоксильных сетчатых полиэлектролитов формируется в процессе гетерофазной сополимеризации МАК и ГТА в среде разбавленных растворов уксусной кислоты, являющихся осадителями образующегося сополимера. При этом средство растворителя к сополимеру увеличивается по мере повышения концентрации уксусной кислоты. Плохим растворителем является 5%-ный водный раствор уксусной кислоты. Особенность сополимеризации МАК и ГТА в среде водных растворов уксусной кислоты состоит в том, что выделение образующихся в момент микрорасслоения дисперсных частиц в новую фазу на начальных стадиях происходит в гидратированном состоянии, способствующем срастанию микрочастиц при их взаимодействии по месту «подвешенных» двойных связей при дальнейшей сополимеризации. Структурирование дисперсных частиц осуществляется при небольших содержаниях ГТА и больших разбавлениях мономерной смеси. Образующаяся в результате неоднородная по плотности матрица удерживает в порах значительный объем растворителя (до 3—4 г на 1 г сополимера). Поэтому вследствие высокой конформационной подвижности межузловых цепей сетчатые полиэлектролиты обладают способностью обратимого сжатия и расширения в процессе высушивания — набухания.

В статье представлены данные по изучению влияния условий гетерофазной сополимеризации (качества растворителя, концентрации мономерной смеси и содержания ГТА) на характер пористости и проницаемость биосорбентов «КМТ-М» по отношению к белкам.

Изучение пористой структуры в гидратированном состоянии проводили методами малоуглового рентгеновского рассеяния [2, 3], а также по проницаемости декстранов различной молекулярной массы [4]. Результаты исследования пористости сорбентов сопоставлены с данными по набуханию и сорбционной емкости по белкам.

Исследованы образцы сетчатых полиэлектролитов, полученные сополимеризацией МАК и ГТА в среде «плохих» растворителей (5 и 30%-ной уксусной кислоте), отличающихся различным сродством по отношению к образуемому сополимеру, при различной концентрации мономерной смеси ( $y_m=0,1; 0,2; 0,3$ ), при изменении содержания ГТА от 4 до 27 вес.%. Сополимеризацию осуществляли в присутствии персульфата аммония – бисульфита натрия при 20°.

Расчет среднего радиуса пор биосорбента «КМТ-М» проводили по коэффициентам распределения декстранов различной молекулярной массы [5]. Предполагалось, что поры имеют цилиндрическую форму. Использовали фракции декстранов фирмы «Фармация Файн Кемиклз» (Швеция). Величины средне-квадратичных радиусов инерции молекул декстранов и методика определения коэффициентов распределения декстранов в сетчатых сополимерах описаны в работе [4].

Внутреннюю поверхность раздела сетчатых полиэлектролитов  $S_{уд}$  в набухшем состоянии рассчитывали по данным метода малоуглового рентгеновского рассеяния [2, 3].

Набухание полиэлектролитов определяли весовым методом с помощью центрифугирования и выражали в г  $H_2O$  на 1 г сухого ионита. В некоторых случаях использовали объемный коэффициент набухания  $K_{наб}$ .

Сорбцию террилитина и сывороточного альбумина проводили в статических условиях из 0,1 M ацетатного буферного раствора при pH 4,2 и 4,7 соответственно. Активность фермента определяли по модифицированному методу Кунитца [6] (время гидролиза 1%-ного раствора казеина 10 мин. при 37°). Концентрацию белков определяли по методу Лоури [7]. Десорбцию террилитина и сывороточного альбумина осуществляли фосфатным буферным раствором pH 7,0.

По данным проницаемости по отношению к декстранам получена приближенная оценка распределения пор по размерам в сетчатых полиэлектролитах (рис. 1), указывающая на высокую чувствительность процесса формирования пористости от условий сополимеризации.

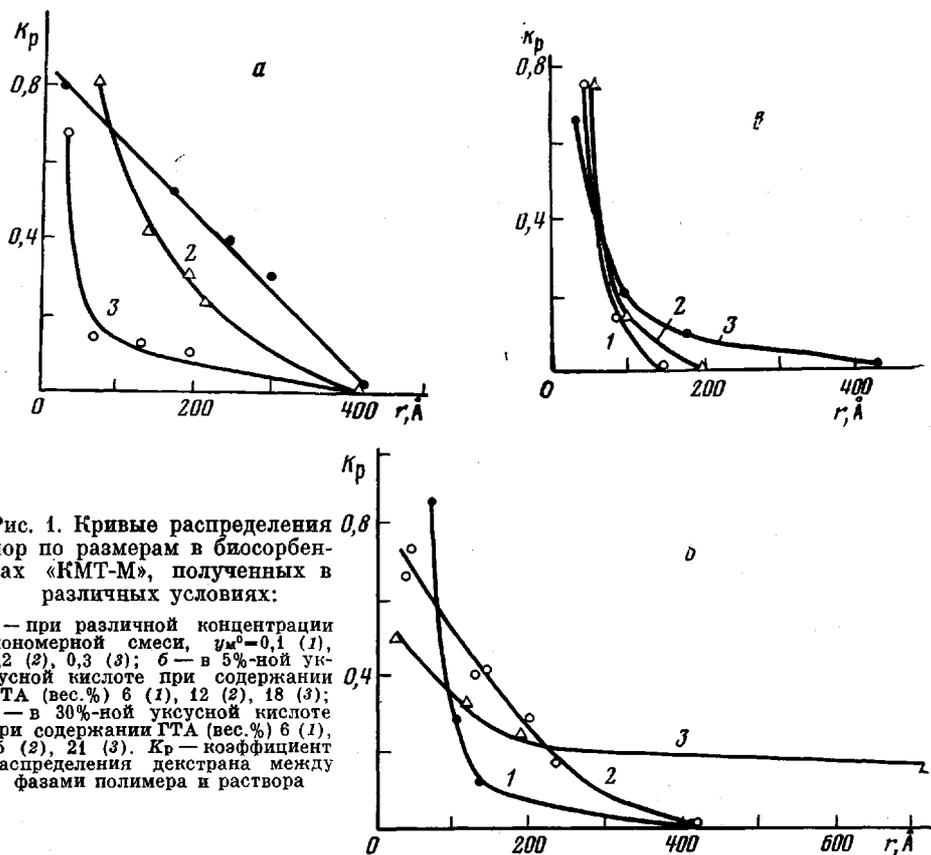


Рис. 1. Кривые распределения пор по размерам в биосорбентах «КМТ-М», полученных в различных условиях:

а — при различной концентрации мономерной смеси,  $y_m=0,1$  (1), 0,2 (2), 0,3 (3); б — в 5%-ной уксусной кислоте при содержании ГТА (вес.%) 6 (1), 12 (2), 18 (3); в — в 30%-ной уксусной кислоте при содержании ГТА (вес.%) 6 (1), 15 (2), 21 (3).  $K_p$  — коэффициент распределения декстрана между фазами полимера и раствора

При увеличении разбавления мономерной смеси растворителем формирование пористости сополимера происходит в большем объеме растворителя, что приводит как к увеличению размеров пор, так и к возрастанию

общей пористости (рис. 1). Последнее является причиной роста набухания сетчатых полиэлектролитов с ростом разбавления мономерной смеси [1].

Влияние содержания ГТА и «качества» растворителя, используемого при сополимеризации, на пористость образующихся полиэлектролитов

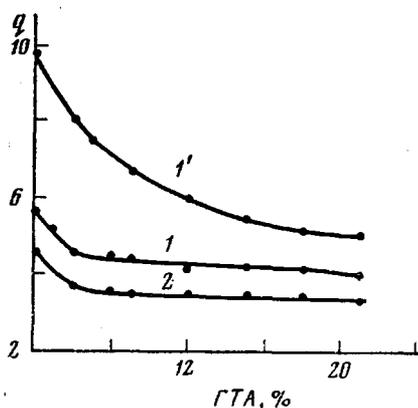


Рис. 2. Зависимость степени набухания  $q$  ( $g$   $H_2O/g$  сорбента)  $H$ -формы биосорбентов «КТМ-М» в воде и в буферном растворе (рН 6,8) от содержания ГТА при сополимеризации в среде 5%-ной (1, 1') и 30%-ной уксусной кислоты (2)

представлено на рис. 1, б и в. В сетчатых полиэлектролитах, полученных в среде 5%-ной уксусной кислоты (12% ГТА), преимущественную долю составляют поры размером 100–200 Å, причем с повышением содержания ГТА наблюдается увеличение доли крупных пор.

В области небольших содержаний ГТА (6 вес.%) имеет место преимущественное образование пор размером 100 Å и менее. Эти данные вполне согласуются с ходом кривых зависимости набухания с изменением содержания ГТА. Падение набухания с увеличением содержания ГТА (до 6 вес.%, левая ветвь на кривых набухания, рис. 2) указывает, что в области малых содержаний ГТА набухание в основном определяется сетчатостью гелевой полимерной фазы. При дальнейшем повышении содержания ГТА набухание полиэлектролитов практически не изменяется. Это

можно объяснить тем, что увеличение плотности поперечного связывания полимерных частиц и уменьшение их степени гидратации в процессе структурирования дисперсии в гидратированном состоянии в постоянном объеме разбавителя связано с одновременным возрастанием негелевых пространств — пор внутри полимерной фазы. Образование последних обуславливает высокое набухание сетчатых полиэлектролитов в  $H$ -форме в широкой области содержания ГТА. Удельная поверхность полиэлектролитов, вычисленная по данным метода малоуглового рентгеновского рассеяния, имеет наибольшую величину при содержании ГТА, равном 12 вес.%. Снижение поверхности раздела при дальнейшем повышении содержания ГТА можно объяснить преимущественным увеличением доли крупных пор, что согласуется с данными по проницаемости декстранов (табл. 1).

Использование 30%-ной уксусной кислоты в качестве растворителя при сополимеризации, обладающей лучшей сольватирующей способностью по отношению к сополимеру по сравнению с 5%-ной уксусной кислотой, приводит к получению сетчатых полиэлектролитов с меньшими размерами пор, порядка 50–100 Å (рис. 1, в). Максимальная удельная поверхность наблюдается у сополимеров с большим содержанием ГТА по сравнению с сополимерами, полученными в среде 5%-ной уксусной кислоты. Уменьшение размеров пор и удельной поверхности раздела указывает на снижение доли негелевых пор.

На исследованных образцах была проведена сорбция сывороточного альбумина ( $M=68\ 000$ ) и протеазы *Aspergillus terricola* — террилитина ( $M=27\ 000$ ) (табл. 2). Большая сорбционная емкость по террилитину наблюдается на образцах, полученных в среде 5%-ной уксусной кислоты. При этом для полиэлектролитов, полученных в широкой области содержания ГТА (4–21 вес.%), характеризующихся порами размером от 70 до 300 Å, сорбционные емкости изменяются незначительно, причем во всех случаях наблюдается высокий выход активного фермента при десорбции.

Таблица 1

Изменение удельной поверхности сетчатых полиэлектролитов в гидратированном состоянии от содержания ГТА и «качества» растворителя при сополимеризации

Содержание ГТА, вес. %	S <sub>уд</sub> , м <sup>2</sup> /мл		Содержание ГТА, вес. %	S <sub>уд</sub> , м <sup>2</sup> /мл	
	КМТ-М-1 *	КМТ-М-2 *		КМТ-М-1 *	КМТ-М-2 *
9	87	3	21	70	26
12	120	—	24	77	—
15	68	30	27	—	26
18	54	78			

\* КМТ-М-1 — получен в 5%-ной, КМТ-М-2 — в 30%-ной уксусной кислоте.

Таблица 2

Сорбция террилитина и сывороточного альбумина биосорбентами «КМТ-М», полученными в различных условиях

Содержание ГТА, %	Емкость, ПЕ */г	Степень десорбции активного фермента, %	Емкость, мг/г	Степень десорбции, %	Емкость, ПЕ/г	Степень десорбции активного фермента, %	Емкость, мг/г	Степень десорбции, %
	КМТ-М-1				КМТ-М-2			
	террилитина		сывороточного альбумина		террилитина		сывороточного альбумина	
4	6400	90	—	—	7200	30 **	—	—
6	5200	90	Нет сорбции		2600	60	Нет сорбции	
9	5500	100	900	100	—	—	Нет сорбции	
12	5700	100	1500	80	—	—	Нет сорбции	
15	4900	100	1000	85	4000	90	400	85
18	5900	90	700	—	—	—	500	100
21	4800	90	600	85	4900	60 **	700	70
27	—	—	350	95	—	—	Нет сорбции	

\* ПЕ — протеолитические единицы.

\*\* Степень десорбции по белку 100%.

Сорбционная емкость по сывороточному альбумину, имеющему большую молекулярную массу, значительно снижается при уменьшении размера пор до 100 Å и менее.

Наибольшая емкость наблюдается лишь на образцах с 9–15% ГТА, содержащих максимальное количество пор размером 100–200 Å.

Слабосшитые сетчатые полиэлектролиты, полученные в 30%-ной уксусной кислоте при малом содержании ГТА (4 вес. %), характеризующиеся лишь гелевой сетчатостью, также показывают высокую сорбционную емкость по террилитину. Однако в данном случае наблюдается низкий выход активного фермента при десорбции, в то время как выход по белку — полный (табл. 2). Причиной потери ферментативной активности на гелевых матрицах может быть денатурация террилитина под влиянием конформационных изменений цепей полимерной сетки в процессе сорбции — десорбции. При увеличении содержания ГТА до 6 вес. % вследствие возрастания степени сетчатости полимерной фазы сорбционная емкость по террилитину падает почти в 3 раза. Повышение емкости по террилитину наблюдается лишь при содержании ГТА 15 вес. %, т. е. на образцах, имеющих гетерогенную структуру. Однако при содержании ГТА 21 вес. % заметно снижается выход активного фермента.

Таким образом, наибольшей сорбционной емкостью для изученных белков при практической полной их десорбции обладают сорбенты, полученные сополимеризацией МАК и ГТА в «плохом» растворителе — 5%-ной уксусной кислоте при содержании ГТА 12–18 вес.%. На этих сорбентах разработаны эффективные методы выделения белков, в том числе ферментов, из культуральных жидкостей.

Институт высокомолекулярных соединений АН СССР

Поступила в редакцию  
29 III 1978

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Н. Кузнецова, К. М. Рожецкая, Б. В. Москвичев, Л. К. Шатаева, А. А. Селезнева, И. М. Огородникова, Г. В. Самсонов, *Высокомолек. соед.*, А18, 355, 1976.
2. Ю. С. Надежин, Л. К. Шатаева, Н. Н. Кузнецова, А. В. Сидорович, Г. В. Самсонов, *Высокомолек. соед.*, А17, 448, 1975.
3. Л. К. Шатаева, Н. Н. Кузнецова, К. М. Рожецкая, Х. Г. Мармор, Ю. С. Надежин, Г. В. Самсонов, *Высокомолек. соед.*, Б17, 770, 1975.
4. В. С. Юрченко, Кандидатская диссертация, Ленинград, ИВС АН СССР, 1977.
5. E. F. Cassasa, *J. Polymer Sci.*, B5, 773, 1967.
6. M. Kunitz, *J. Gen. Physiol.*, 30, 291, 1940.
7. O. H. Lowry, *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1967.

УДК 541.64:542.954

### СИНТЕЗ И СВОЙСТВА АДАМАНТАНСОДЕРЖАЩИХ РАСТВОРИМЫХ ПОЛИИМИДОВ

*Коршак В. В., Новиков С. С., Виноградва С. В., Хардин А. П., Выгодский Я. С., Новаков И. А., Орлинсон Б. С., Радченко С. С.*

Ранее [1] были синтезированы полиамидокислоты (ПАК) и полиимиды (ПИ) на основе диаминов с адамантановыми группами и диангидридов пиромеллитовой и 3,3',4,4'-бензофенонтетракарбоновой кислоты. Подобно большинству других полиимидов эти полимеры оказались нерастворимыми в органических растворителях, что препятствовало углубленному исследованию их физико-химических свойств и ограничивало возможные области их практического использования.

С целью придания адамантансодержащим полиимидам растворимости, которая открывала бы возможность выявления специфического влияния адамантановой группы на свойства полиимидов, в настоящей работе для поликонденсации с адамантансодержащими диаминными (1,3-диаминоадамантан, 1,3-бис-(аминометил) адамантан, 1,3-бис-(аминоэтил) адамантан, 1,3-бис-(4'-аминофенил) адамантан) были использованы диангидриды 3,3-бис-(3',4'-дикарбоксифенил) фталида и 3,3',4,4'-тетракарбоксидифенилоксида

