

УДК 543.544:61

Новые разработки в области противоточной распределительной хроматографии. Башлов В.Д., Кофман В.М., Павленко И.В. // Научное приборостроение. Приборы и средства автоматизации для научных исследований. Л.: Наука, 1987, с. 52-57.

Описаны различные модификации спиральных центрифуг для противоточной распределительной хроматографии. Разработан макет планетарной центрифуги, позволяющий получить стабильное удерживание стационарной фазы для различных распределительных систем при небольших скоростях вращения центрифуги. Лит. - 6 назв., ил. - 4.

П. СОЗДАНИЕ ПРИБОРОВ ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В.Л.Башлов, В.М.Кофман, И.В.Павленко (НТО АН СССР)

НОВЫЕ РАЗРАБОТКИ В ОБЛАСТИ ПРОТИВОТОЧНОЙ РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Метод противоточной распределительной хроматографии (ПРХ) широко применяется в последнее время для анализа и препаративного разделения различных объектов. Разделение веществ в ПРХ основано на их неравномерном распределении в двухфазной системе жидкость-жидкость, т.е. осуществляется по механизму распределительной хроматографии. Отличительная особенность ПРХ состоит в том, что здесь не используются твердые носители для фиксации неподвижной фазы в разделительных колонках.

Неподвижная фаза удерживается в колонках за счет действия массовых сил и разницы в плотностях двух жидких фаз.

Отказ от твердого носителя определяет основные преимущества метода: его дешевизну и практически полное отсутствие потерь образца, возникающих в других видах

хроматографии за счет взаимодействия с матрицей сорбента.

Существует несколько способов создания проточных разделительных систем с удерживающейся в них за счет гравитационного или центробежного поля неподвижной фазой [1, 2]. Наиболее интересным представляется использование спиральной трубки, вращающейся в центробежном поле [3]. Этот способ реализуется с помощью разделительных устройств, получивших общее название спиральных центрифуг.

За 20 лет, прошедших с начала исследований в этой области, разработано несколько модификаций спиральных центрифуг для ПРХ [4].

Эти устройства различаются кинематическими схемами и конструкциями узла разделительных колонок.

Наиболее широко распространенный тип кинематической схемы получил название планетарной центрифуги, так как разделительная колонка или последовательность колонок совершает в этом случае планетарное движение, вращаясь вокруг центральной оси устройства (рис.1). Такая схема позволяет, во-первых, создать достаточно сильное поле и эффективно удерживать неподвижную фазу, а, во-вторых, избежать применения вращающихся уплотнений. Конструкция узла колонок в данном случае может быть различной - от последовательно соединенных спиральных трубок до многослойного барабана.

Существующие зарубежные аналоги планетарной центрифуги обладают рядом конструктивных недостатков, которые приводят с одной стороны к неудобствам в эксплуатации, а с другой серьезно лимитируют аналитические и препаративные возможности устройств.

Нами предпринята попытка разработки макета планетарной центрифуги усовершенствованной конструкции. Основные отличия макета от известных устройств состоят, во-первых, в оригинальной подвеске барабана колонок, уменьшающей вибрацию при работе центрифуги, и, следовательно, позволяющей повысить эффективность разделения и воспроизводимость результатов, во-вторых, в использовании замковой конструкции крепления барабана колонок, позволяющей легко и быстро заменять барабаны, и, таким образом, в рамках одного устройства использовать барабаны различных конфигураций; в-третьих, сам барабан колонок выполнен в виде модульного пакета, позволяющего устанавливать от одной до двадцати колонок, и, таким образом, варьировать препаративную емкость устройства.

Факторами, определяющими разделение веществ в ПРХ, являются состав двухфазной системы жидкостей и гидродинамика двухфазных жидкостных потоков.

Факторами, определяющими разделение веществ в ПРХ, являются состав двухфазной системы жидкостей и гидродинамика двухфазных жидкостных потоков.

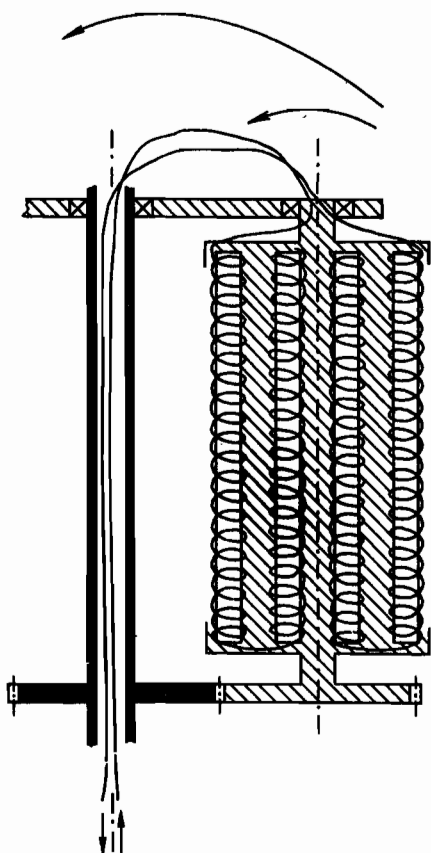


Рис.1. Принцип устройства планетарной центрифуги.

При этом первый фактор оказывает влияние, в основном, на селективности, а второй на эффективность разделения и препаративную емкость системы. Интегральной характеристикой гидродинамического поведения двух жидких фаз является объем удержанной стационарной фазы. Эта характеристика непосредственно зависит от параметров режима работы центрифуги: скорости вращения и обращения и скорости потока подвижной фазы. Немаловажное значение имеет распределение стационарной фазы в колонках и интенсивность перемешивания двух фаз.

Многообразие распределительных жидкостных систем, которые могут использоваться в ПРХ весьма велико и определяется многообразием объектов разделения и задач, решаемых с помощью этого метода. Здесь и классические водно-органические системы, и системы на основе водных растворов полимеров [5], и полимерно-солевые системы, нашедшие применение в задачах экстракции ионов металлов [6].

В настоящей работе исследована гидродинамика широкого класса распределительных систем в разработанной спиральной центрифуге.

Изучалось влияние основных параметров режима работы центрифуги, а именно, скорости вращения и обращения, и скорости потока подвижной фазы на объем удержанной стационарной фазы.

Характеристики исследованных двухфазных жидкостных систем

Общий состав системы	Состав фаз системы	
	нижняя	верхняя
7,75 % ДТ 500	15,5 % ДТ 500	0,1 % ДТ 500
4,00 % ПЭГ 15000	1,7 % ПЭГ 15000	7,3 % ПЭГ 15000
в воде		
3,0 % ДТ 500	15 % ДТ 500	0,3 % ДТ 500
6,5 % ПЭГ 6000	3,5 % ПЭГ 6000	8 % ПЭГ 6000
в воде		
2,5 % ДТ 500	13 % ДТ 500	0,5 % ДТ 500
6,25 % ПЭГ 6000	1,5 % ПЭГ 6000	7 % ПЭГ 6000
в воде		
15 % ПЭГ 2000	1 % ПЭГ 2000	28 % ПЭГ 2000
12,5 % СА	14 % СА	6 % СА
в воде		
40 % - бутанол		
10 % - уксусная кислота		
50 % - вода		

Структурная схема экспериментальной установки представлена на рис.2.

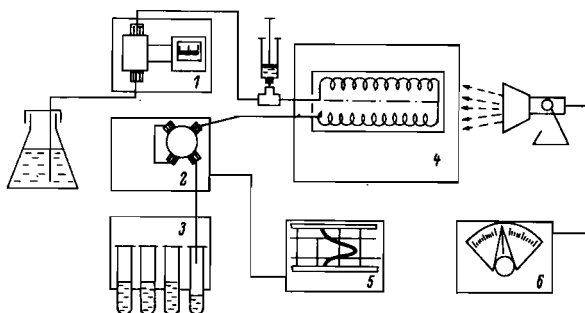


Рис.2. Структурная схема экспериментальной установки:

1 - насос; 2 - детектор; 3 - коллектор фракций; 4 - планетарная центрифуга; 5 - регистратор; 6 - тахометр.

Эксперимент осуществлялся следующим образом: колонна заполнялась стационарной фазой, а затем прокачивалась подвижная фаза. Элюат из колонок собирался с помощью коллектора фракций, и в отобранных фракциях определял объем вытесненной стационарной фазы. Удерживание стационарной фазы количественно характеризовалось коэффициентом удерживания K_y , определяемым как

$$K_y = \frac{V_c}{V_0} \cdot 100 (\%),$$

где V_c - объем удержанной в колонках стационарной фазы; V_0 - общий объем колонок.

В качестве стационарной фазы использовалась как верхняя, так и нижняя фазы исследованных систем.

Для всех исследованных систем удалось получить стабильное удерживание стационарной фазы.

На рис.3 и 4 представлены типичные графики зависимостей коэффициента удержи-

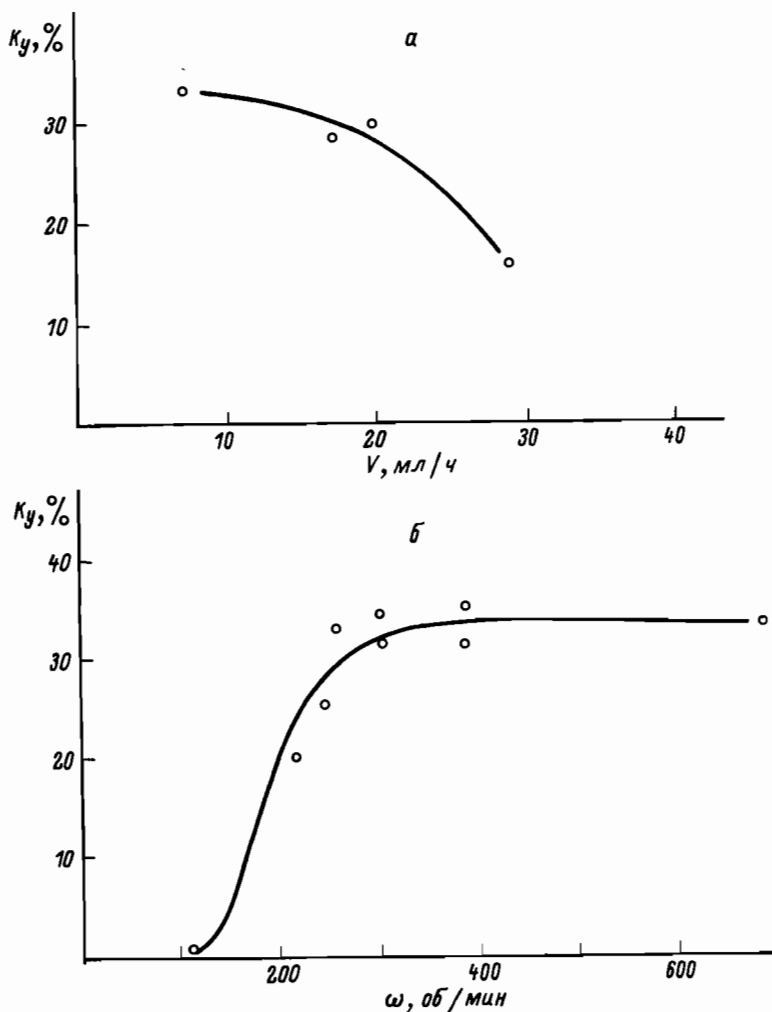


Рис.3. Исследование влияния параметров режима работы центрифуги - скорости потока (а) и скорости вращения (б) на удерживание стационарной фазы для системы. 7,75 % 1500 - 4,00 % ПЭГ 15000, скорость прокачки 18 мл/ч.

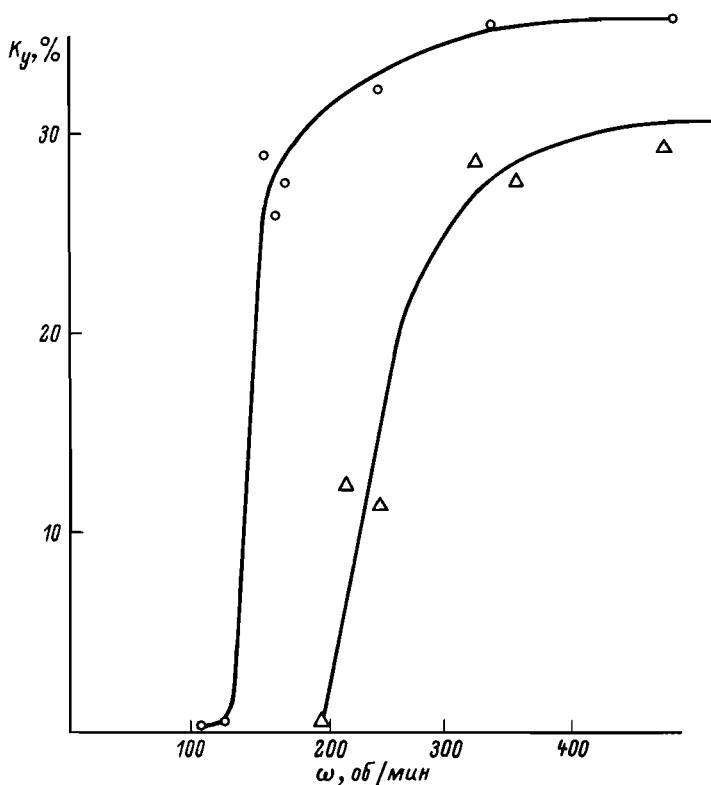


Рис. 4. Зависимость удерживания стационарной фазы от скорости вращения для системы 40 % ПЭГ 2000 - $(NH_4)_2SO_4$ - H_2O (1:0,75:1); O - верхняя фаза стационарная
 Δ - нижняя фаза стационарная.

вания от скорости вращения и обращения, и скорости потока подвижной фазы. Как свидетельствуют полученные результаты, варьируя параметры режима работы центрифуги можно изменять в значительных пределах объем удержанной стационарной фазы и таким образом изменять условия проведения разделения.

Для системы ПЭГ - сульфат аммония изучалось также распределение двух фаз по длине колонки с помощью окрашивания полимерсодержащей фазы красителем арсеназо III и визуального наблюдения распределения фаз при стробоскопическом освещении. Было отмечено равномерное распределение сегментов фаз по длине колонки и в каждом витке.

Время выхода центрифуги на стационарный режим (характеризуемое прекращением вымывания неподвижной фазы) составляло от 2 до 4 ч в зависимости от типа распределительной системы. С целью сокращения этого времени были исследованы различные способы заполнения колонок и предложен оптимальный способ, заключающийся в следующем: колонки заполнялись псевдогомоченным раствором (непрерывно перемешиваемой смесью) двух фаз в соотношении, определяемом значением коэффициента удерживания при данных скорости вращения и скорости потока элюента. Затем производился запуск центрифуги, и после установления требуемого числа оборотов начиналась прокачка подвижной фазы. Вымывание стационарной фазы при таком способе заполнения колонок не наблюдалось, равновесный режим устанавливался практически мгновенно.

Общая емкость колонок, устанавливаемых на барабанах той или иной конфигурации для разработанного макета варьируется от 5 до 250 мл.

Минимальная загрузка образца определяет чувствительность используемого детектора и зависит от вида образца.

Максимально допустимая загрузка зависит от состава и вида образца. Для образцов пептидов, полученных методом твердофазного синтеза, содержание примесей в составе которых составляет около 70 % загрузка образца для системы колонок емкостью 250 мл может варьироваться от 5 до 500 мг без заметного ухудшения разрешения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hostettmann K. / Chem. für Labor und Bet, 1981, Bd. 32, N 5, S.211-212.
2. Ito Y., Bowman R.L. / J.Chromatogr. Sci., 1970, V.8, p. 315-323.
3. Ito Y., Bowman R.L. / Science, 1971, V. 173, p. 420-423.
4. Ito Y. / Anal. Chem., 1984, V.58, N 4, P. A534-A536, A538, A540, A542, A544, A548, A550, A552, A554.
5. Альбертсон П.О. Разделение клеточных частиц и макромолекул. М.: Мир, 1974.- 381 с.
6. Зварова Т.И., Шкинев В.М., Спиваков Б.Я., Золотов Ю.А.//ДАН СССР, 1983, Т.273, № 1, С.107-110.

И.В.Павленко, Т.А.Сальникова (НТО АН СССР), Л.М.Михеева, Н.М.Местечкина
(Ин-т элементоорганических соединений АН СССР)

ИССЛЕДОВАНИЕ И ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ ДВУХФАЗНЫХ ВОДНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Многообразие задач современной биологии и биотехнологии вызывает развитие и исследование новых методов фракционирования биологически активных веществ.

Особый интерес представляют мягкие методы, не оказывающие разрушающего действия на лабильные биологические объекты. Предложенный Альбертсоном [1] метод распределения в двухфазных водных полимерных системах (ДВПС) является одним из наиболее мягких методов фракционирования и применим к широкому классу биологических объектов - от аминокислот до клеток.

В основе разделения с использованием ДВПС лежит неравномерное избирательное распределение веществ между двумя фазами, представляющими собой водные растворы полимеров. Количественной характеристикой распределения вещества в ДВПС является коэффициент распределения, который определяется как отношение концентраций вещества в верхней и нижней фазах и зависит от всей суммы поверхностных свойств молекулы или частицы. Последнее обстоятельство определяет высокую эффективность метода. Особенно ярко это проявляется при реализации многоступенчатых или непрерывных процессов с применением ДВПС, а именно противоточного распределения и противоточной распределительной хроматографии (ПРХ).

ПРХ с использованием ДВПС может служить экономичным и эффективным способом фракционирования и очистки лабильных биологических объектов в технологических процессах получения.

Значительный интерес представляет возможность применения ПРХ с использованием ДВПС для фракционирования белков плазмы крови, в частности, для разделения альбуминовой и глобулиновой фракций. В настоящее время фракционирование белков плазмы крови при промышленном получении препаратов осуществляется с помощью последовательного осаждения этиловым спиртом при пониженной температуре. Необходимость