

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОРОНЕЖСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Сауд Али Мунир

**РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И
ХЛОРИДА НАТРИЯ ПРИ НЕЙТРАЛИЗАЦИОННОМ ДИАЛИЗЕ И
ЭЛЕКТРОДИАЛИЗЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕМБРАН С РАЗНОЙ
МАССОВОЙ ДОЛЕЙ СУЛЬФОКАТИОНООБМЕННОЙ СМОЛЫ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
доцент Васильева В. И.

Воронеж – 2022

Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Мембранные методы разделения и концентрирования аминокислот... 12	12
1.2. Возможности и ограничения атомно-эмиссионного метода фотометрии пламени	28
1.3. Обзор методов определения аминокислот	35
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1. Ионообменные мембраны и их основные физико-химические характеристики.....	42
2.2. Алкилароматическая аминокислота фенилаланин, ее свойства	44
2.3. Метод нейтрализационного диализа.....	47
2.4. Локально-распределительный анализ растворов в мембранных системах методом лазерной интерферометрии	49
2.5. Методика электродиализа и комплексного измерения массообменных и электрохимических характеристик, концентрационных полей, изучения гидродинамического состояния межфазных границ мембранной системы	54
2.6. Спектроскопический анализ шумов в электромембранных системах..	58
2.7. Методы компонентного анализа растворов.	63
2.7.1. Аргентометрическое определение концентрации хлорид-ионов. ...	63
2.7.2. Ионметрия.....	64
2.8. Визуализация и характеристика поверхности мембран методом растровой электронной микроскопии.....	64
2.9. Метрологические характеристики эксперимента.....	67
ГЛАВА 3. СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И ХЛОРИДА НАТРИЯ В СМЕШАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ.....	68
3.1. Спектрофотометрическое определение фенилаланина в водных растворах разной кислотности.....	68
3.2. Определение натрия в разбавленных смешанных растворах с фенилаланином атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени.	78
3.3. Апробация разработанного способа совместного определения фенилаланина и хлорида натрия в разбавленных водных растворах.....	88

ГЛАВА 4. РАЗДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И ХЛОРИДА НАТРИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИОННЫМ ДИАЛИЗОМ.....	93
4.1. Транспортные характеристики ионообменных мембран при нейтрализационном диализе смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия	93
4.2. Выбор анионообменной мембраны для разделения фенилаланина и хлорида натрия нейтрализационным диализом.....	98
4.3. Разделение аминокислоты и минерального компонента нейтрализационном диализом при использовании мембран с разной массовой долей сульфокатионообменной смолы	104
4.4. Сравнительный анализ параметров эффективности и селективности разделения аминокислоты и минеральной соли нейтрализационным методом с промышленными и экспериментальными мембранами.....	114
ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОМЕМБРАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ НЕЙТРАЛЬНОЙ АМИНОКИСЛОТЫ И МИНЕРАЛЬНЫХ ИОНОВ В СМЕШАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ.....	116
5.1. Электрохимические характеристики сульфокатионообменных мембран в смешанном растворе хлорида натрия и фенилаланина.....	116
5.2. Визуализация концентрационного поля и гидродинамических явлений в растворе на границе с катионообменными мембранами.	122
5.3. Спектральные свойства флуктуаций концентрационного поля в растворе хлорида натрия при высокоинтенсивных токовых режимах электродиализа	128
5.4. Влияние массовой доли ионообменной смолы в мембране на характеристики процесса электродиализного разделения фенилаланина и хлорида натрия.	137
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	149
СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	152
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Одной из основных задач современной аналитической химии является разработка избирательных и экологически безопасных методов пробоподготовки, совместимых с инструментальными методами химического анализа. Главным направлением аналитического применения мембранных методов является выделение веществ в химических формах, наиболее подходящих для последующего определения

Ароматическая аминокислота фенилаланин (органический амфолит) является актуальным объектом анализа, так как используется в качестве добавки при производстве пищевых продуктов, применяется в фармацевтической промышленности как препарат для спортивного питания, при профилактике и лечении различных заболеваний. Задачей аналитического контроля производства аминокислот является их надежное определение в смешанных растворах различного состава. В результате микробиологического синтеза целевой продукт, производственные сточные и промывные воды помимо фенилаланина содержат такие вещества как минеральные соли и сахар. Сложность определения заключается в возможности протекания различных побочных процессов с участием аминокислоты и образования многоионной смеси, затрудняющей разделение и определение компонентов.

Для решения проблемы выделения аминокислоты из смеси с сильными электролитами мембранные методы являются экологически и экономически целесообразными. Основными недостатками мембранных методов очистки и выделения аминокислот являются низкие скорость и селективность транспорта компонентов. Эффективность мембранного процесса определяется двумя факторами: потоком (массоперенос) и селективностью. Селективность транспорта в ионообменных мембранах определяется структурой их пор и каналов. При электродиализе разбавленных растворов на эффективность разделения существенно влияют поверхностные свойства мембран. Параметры поверхности мембраны оказывают сильное влияние на развитие таких эффектов, как интенсивность электроконвекции и генерации H^+ и OH^-

ионов, возникающих на границе раздела мембрана / раствор. В связи с тем, что перечень промышленно выпускаемых мембран достаточно ограничен, то современные исследования направлены на улучшение их свойств путем модифицирования или незначительных изменений в технологии изготовления. Селективные и транспортные характеристики мембран можно оптимизировать, варьируя их состав (ионообменная смола, инертное связующее и добавки) и физические параметры (толщина, дисперсность, пористость и т. д.).

Таким образом, развитие мембранных методов разделения аминокислотных проб сложного состава является актуальным для решения задач пробоподготовки и повышения аналитических свойств компонентов.

Актуальность темы исследования подтверждается поддержкой, оказанной работе РФФИ (грант № 21-19-00397, <https://rscf.ru/project/21-19-00397/>)

Степень разработанности темы.

Большой вклад в развитие мембранных методов разделения аминокислотсодержащих растворов внесли работы Бобрешовой О.В., Заболоцкого В.И., Елисеевой Т.В., Никоненко В.В., Письменской Н.Д., Шапошника В.А., Grib H., Sandeaux J., Gallagher Ch.J., Chérif M. и др. Однако, несмотря на достаточно высокий уровень разработанности темы по совершенствованию методики и техники диализа и электродиализа для препаративных и промышленных целей аналитической химии, на современном этапе поиск и создание новых селективнопроницаемых мембран остаются актуальной проблемой. Влияние на эффективность мембранных процессов разделения изменения свойств промышленно выпускаемых мембран путем варьирования содержания ионообменной смолы в мембране до настоящего времени не были исследованы.

Анализ информационной научно-технической базы показал, что общим недостатком большинства методик спектрофотометрического определения ароматических аминокислот в водных средах являются

несистематизированные экспериментальные данные о влиянии кислотности растворов на результаты определения, отсутствие четких сведений о диапазонах величин рН, вызывающих спектральные изменения, не указаны возможности минимизации ошибок. Для построения градуировочных зависимостей обычно применяют модельные водные растворы при нейтральных значениях рН, что требует предварительной пробоподготовки анализируемых объектов. Известно, что присутствие азотсодержащих органических (мочевина) и неорганических (HNO_3 , NH_4Cl) веществ в растворе понижает фототок эмиссии щелочных металлов. Влияние присутствия в растворе аминокислот на результаты определения щелочных металлов атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени не исследовано.

Цель работы: разработка способа совместного определения фенилаланина и хлорида натрия и изучение закономерностей их разделения нейтрализационным диализом и электродиализом с использованием мембран с разной массовой долей сульфокатионообменной смолы.

Задачи работы:

1. Разработка способа совместного определения фенилаланина и хлорида натрия спектральными методами в разбавленных водных растворах произвольной кислотности;

2. Исследование влияния массовой доли сульфокатионообменной смолы в гетерогенных мембранах на характеристики (фактор разделения, степень извлечения, потери целевого продукта) процесса разделения фенилаланина и минеральной соли нейтрализационным диализом.

3. Выбор условий эффективного извлечения минеральных ионов из водно-солевого раствора фенилаланина методом электродиализа на основе изучения обобщенных (скорость массопереноса) и локальных (концентрационные профили, размер области конвективной неустойчивости) характеристик массопереноса компонентов в широком диапазоне плотностей тока.

4. Выяснение механизма переноса аминокислоты и минеральных ионов через мембраны с разным содержанием сульфокатионообменной смолы в

интенсивных токовых режимах электродиализа методами динамического лазерно-интерферометрического анализа и фликкер-шумовой спектроскопии.

5. Проведение апробации разработанного способа совместного определения фенилаланина и ионов натрия в модельных растворах, фармацевтических препаратах, а также для контроля содержания компонентов после разделения мембранными методами.

Научная новизна основных результатов:

▪ Экспериментально получены зависимости аналитической длины волны и молярного коэффициента поглощения фенилаланина от показателя pH среды. Установлен длинноволновый (батахромный) сдвиг максимума полосы поглощения при переходе от положительного к отрицательному заряду молекулы фенилаланина с ростом величины pH раствора. Установлены три диапазона величин pH, в которых изменение кислотности растворов не вызывает спектральных изменений, соответствующие преимущественному нахождению аминокислоты в катионной ($pH < 2$), биполярной ($4 < pH < 8$) и анионной ($pH > 10$) формах.

▪ Выявлен систематический тип погрешностей при определении натрия в разбавленных смешанных водных растворах с фенилаланином атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени. Обнаружено уменьшение эмиссии фототока натрия в присутствии аминокислоты. Основными вероятными причинами статистически значимого характера влияния фенилаланина на чувствительность определения натрия в разбавленных растворах атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени являются увеличение вязкости растворов и размера частиц в аэрозоле, что приводит к снижению скорости распыления в анализаторе.

▪ На основании изучения закономерностей разделения фенилаланина и хлорида натрия методом нейтрализационного диализа показано влияние массовой доли смолы в сульфокатионообменной мембране и типа функциональных групп анионообменной мембраны в канале диализатора на изменение показателя pH деминерализуемого раствора. Закисление

смешанного раствора фенилаланина и хлорида натрия с ростом содержания сульфокатионообменника в мембране и при использовании высокоосновных анионообменных мембран приводит к увеличению потерь целевого продукта за счет создания условий для трансмембранного переноса аминокислоты в катионной форме.

▪ Выявлена роль фактора кислотности среды и явления электроконвекции в увеличении потерь аминокислоты при сверхпредельных токовых режимах электродиализа. Методами лазерной интерферометрии и фликкер-шумовой спектроскопии показано, что одной из основных причин роста нежелательного переноса аминокислоты через сульфокатионообменную мембрану в интенсивных токовых режимах является электроконвективное перемешивание раствора, негативно влияющее на процесс диссоциации воды и разрушающее барьерное действие примембранных слоев раствора с высоким значением показателя рН.

▪ Для разделения мембранными методами нейтральных аминокислот и минеральных солей в разбавленных растворах рекомендованы мембраны с содержанием сульфокатионообменной смолы 70%, преимуществом которых являются максимальные значения фактора разделения, потери целевого продукта не более 1% и возможность практически полного электромембранного извлечения минеральных ионов при минимальной степени поляризации системы.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Выявленные закономерности переноса в системах, содержащих водно-солевые растворы фенилаланина и гетерогенные мембраны с разной массовой долей ионообменника, позволяют прогнозировать условия и режимы эффективного разделения аналитов на стадии пробоподготовки с последующим определением спектральными методами.

Предложенный способ определения фенилаланина спектрофотометрическим методом, основанный на использовании экспериментально полученных корреляций аналитической длины волны и

молярного коэффициента поглощения от показателя рН среды, применим в лабораторных и производственных условиях, выполняется с использованием стандартного оборудования, менее трудоемок и более экспрессен, так как не предусматривает необходимости предварительной коррекции рН растворов и применения вспомогательных реактивов.

Методология и методы исследования.

Работа выполнена с использованием комплекса современных методов и измерительных приборов: абсорбционная молекулярная спектроскопия в УФ-области (спектрофотометр СФ-2000, Россия), атомно-эмиссионный метод фотометрии пламени (пламенно – фотометрический анализатор жидкостей ПАЖ–1, Россия), лазерная интерферометрия (интерферометр Маха-Цендера), растровая электронная микроскопия (микроскоп JSM-6380 LV, Япония), фликкер-шумовая спектроскопия, стандартные методы испытания ионообменных мембран.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Способ определения фенилаланина спектрофотометрическим методом, учитывающий влияние фактора кислотности среды на положение максимума абсорбции и величину молярного коэффициента поглощения, позволяющий повысить чувствительность и уменьшить систематическую относительную погрешность определения в щелочных водных средах на 20%.

2. Результаты исследований влияния массовой доли сульфокатионообменной смолы в гетерогенных мембранах на особенности транспорта и селективные характеристики процесса разделения фенилаланина и хлорида натрия нейтрализационным диализом, которое заключается в смещении равновесия реакции протонирования биполярных ионов аминокислоты в деминерализуемом растворе.

3. Обоснование условий наиболее эффективного разделения аминокислоты и минеральной соли электродиализом, соответствующих области сверхпредельных токовых режимов и использованию мембран с максимальным содержанием сульфокатионообменной смолы.

Степень достоверности результатов работы подтверждается большим объемом статистически обработанных экспериментальных данных, использованием современного сертифицированного оборудования, согласованием полученных результатов с современными представлениями и результатами исследований, имеющихся в литературе.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены и обсуждены на конференциях: Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2019); Всероссийская научная конференция "Мембраны" (Сочи, 2019); Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2020, 2021); Международная конференция «Ion transport in organic and inorganic membranes» (Сочи, 2021); Всероссийский симпозиум «Кинетика и динамика обменных процессов» фундаментальные проблемы separation science (Москва, 2019); Всероссийская конференция «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах» «ФАГРАН» (Воронеж, 2018, 2021).

Публикации: по теме работы опубликовано 19 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых и реферируемых журналах из перечня ВАК, а 14 являются материалами и тезисами докладов на международных и Всероссийских научных конференциях.

Личный вклад автора состоял в систематизации литературных данных, подготовке, планировании и проведении экспериментальных исследований по разработке способа совместного определения аминокислоты и минеральной соли, выбору рациональных условий разделения компонентов мембранными методами; обработке полученных данных, подготовке выступлений по результатам исследований. Постановка цели и задач, трактовка полученных результатов, формулирование выводов, подготовка публикаций проведены совместно с научным руководителем.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, 5 глав, заключения и списка литературы, изложена на 172 страницах машинописного

текста, включая 19 таблиц, 70 рисунков и библиографический список, содержащий 183 наименования литературных источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Мембранные методы разделения и концентрирования аминокислот

Синтетические аминокислоты представляют собой важный класс соединений, применяемый в качестве пищевых и кормовых добавок, фармацевтических препаратов [1]. Хотя существуют различные пути синтеза аминокислот, для большинства аминокислот обычно используется ферментативное производство, за которым следует многоступенчатая схема обработки, включающая центрифугирование, ультрафильтрацию, ионный обмен и кристаллизацию [2-4]. Финальная очистка аминокислот обычно выполняется сложными в техническом плане методами хроматографической адсорбции и фракционной кристаллизации [5]. К тому же, данные методы имеют более низкую эффективность разделения [6]. Их замена на одноэтапный эффективный метод очистки позволяет не только упростить процесс, но и понизить затраты на производство аминокислот.

В процессе производства аминокислот может образоваться большое количество сточных вод, которые также содержат остаточные аминокислоты. Например, при производстве искусственного подсластителя аспартама основным сырьем являются L-фенилаланин и L-аспарагиновая кислота; этот процесс может привести к загрязнению окружающей среды, если L-аминокислоты не разделены и не извлечены из ферментационного «бульона» [7]. Метод экстракции растворителем эффективен при разделении L-аминокислот, однако при использовании этого метода трудно извлечь экстрагенты [8].

Поскольку аминокислоты являются амфотерными электролитами, диссоциирующими на различные ионные формы в зависимости от pH раствора при решении практических проблем для их концентрирования, удаления или разделения в смесях, в промывных и сточных водах используются такие мембранные технологии, как диализ и электродиализ.

Диализ – это метод разделения, при котором растворенные вещества под действием градиента концентрации в качестве движущей силы диффундируют

с одной стороны мембраны к другой. Существует два типа диализ: обычный (диффузионный) и доннановский (обменный) [9].

Процесс разделения с использованием ионной диффузии из-за разницы концентраций на мембране называется диффузионный диализ [10]. Это явление регулируется законом Фика, и скорость диффузии обычно невелика. Для повышения эффективности процесса становится необходимым уменьшить толщину мембраны и увеличить ее площадь. В процессе используется высокая подвижность ионов водорода через анионообменную мембрану, что применяется для извлечения кислоты из раствора электролита.

Доннановский диализ – это ионообменный процесс, в котором ионообменная мембрана помещается между двумя растворами: исходным и принимающим [10]. Ионная сила исходного раствора относительно низкая по сравнению с ионной силой раствора электролита приемника. Движущей силой в этом типа диализа является не градиент химического потенциала, а градиент электрохимического потенциала. Поэтому в работе [11] явления переноса в системе с доннановским диализом обсуждаются на основе уравнения Нернста-Планка с коэффициентом массопереноса в пограничном слое.

Нейтрализационный диализ (НД), впервые предложенный Игава (Igawa) [12], основан на принципе доннановского диализа. Подлежащий деионизации раствор подают в отсек между катионообменной и анионообменной мембранами. Кислоту подают в секцию, примыкающую к катионообменной мембране, а щелочь – в секцию, примыкающую к анионообменной мембране. Катионы в деионизационной секции удаляются из-за противоточной диффузии с H^+ в кислотном растворе через катионообменную мембрану. Анионы в этой секции могут быть удалены из-за противодействующей диффузии с OH^- -ионами в основном растворе через анионообменную мембрану. В результате этого, ионы H^+ и OH^- , входящие в секцию деионизации, вызывают реакцию нейтрализации [13].

Диализ не требует прямых расходов электричества, больших инвестиционных затрат, высококвалифицированных специалистов.

Проведение процесса в мягких условиях и простота технического использования позволяет применять различные варианты диализа в фармацевтической промышленности и медицине [14], разделении смесей аминокислот [15], электролитов и неэлектролитов [16].

Особая роль природы и свойств аминокислот проявляется в особенностях переноса через ионообменные материалы. Механизм транспорта аминокислот в мембранах определяют особенности химического взаимодействия биполярных ионов аминокислот с ионами в ионообменной мембране. Протонирование биполярных ионов аминокислоты противоионами водорода мембраны приводит к возникновению эффекта ускорения диффузии, что позволяет значительно интенсифицировать массоперенос аминокислот [17]. Использование этого явления в значительной мере повышает селективность процесса диализного извлечения и фракционирования аминокислот [15, 16].

Диффузионный диализ – экологически чистый метод разделения компонентов, которые нестабильны при таких внешних воздействиях, как высокая температура, высокое давление, наличие электрического поля. Препятствием на пути к более широкому применению метода диффузионного диализа для разделения и очистки аминокислот является относительно низкая скорость и селективность диффузионного транспорта этих веществ через ионообменные мембраны. В работах [18, 19] рассматриваются механизмы избирательного транспорта аминокислот и возможности увеличения их потока через катионообменную мембрану. В частности, исследован эффект замены плоской катионообменной мембраны МК-40 на ее модификацию с профилированной поверхностью. Установлено, что относительно высокий селективный транспорт фенилаланина обусловлен его облегченной диффузией, в то время как диффузия NaCl уменьшается за счет эффект Доннана. Профилированная мембрана позволяет увеличить поток фенилаланина в 8 раз по сравнению с плоской мембраной. Это увеличение связано с увеличением доступной для массопереноса поверхности (в 2.3 раза),

улучшением гидродинамики, уменьшением толщины диффузионного слоя и увеличением доли проводящей поверхности и более высоким радиусом пор вследствие испарения воды внутри пор мембраны в процессе ее профилирования.

В работах [16, 20] показан избирательный перенос аминокислот через двойную мембранную систему, состоящую из катионообменной и анионообменной мембран, без регулирования рН подаваемого раствора. Взаимное разделение нейтральной кислоты аланина и основной кислоты лизина [20] было эффективно проведено, когда мембрана на стороне исходного раствора была анионообменной, а мембрана на стороне принимающей фазы была катионообменной; при этом соотношение потоков превышало 4000.

Уено (Ueno) и соавт. [16] предпринята попытка разделения схожих по молекулярной массе и химическим свойствам аминокислот серина и валина. Для эксперимента КОМ в H^+ -форме была обращена в секцию с подаваемым раствором; АОМ OH^- -форме была обращена в приемную камеру. Нейтральные аминокислоты AN^{\pm} в исходном растворе реагируют с протонами в КОМ с образованием катионов AN_2^+ , которые транспортируются к противоположной стороне мембраны под градиентом концентрации. На межфазной границе мембрана-раствор происходит реакция ионного обмена между катионами аминокислоты и гидроксильными ионами АОМ с образованием анионов аминокислоты A^- . Выявлено различие в проницаемости серина и валина вследствие их разных гидрофобных характеристик. Поток гидрофильного серина из смешанного водного раствора аминокислот был в 1.88 раз больше, чем поток гидрофобного валина.

НД эффективно применяется при разделении органических электролитов [21] и неэлектролитов [22], опреснении морской и водопроводной воды [23, 24], разделении слабых кислот и оснований [25], деминерализации водных растворов углеводов и молочной сыворотки [26], очистке раствора аминокислоты от минеральных солей [27]. Предполагается,

что НД подходит для очистки воды, поскольку слабые кислоты (уксусная кислота, карбонат- и бикарбонат-ионы) и слабые основания (например, амины, аммиак) легко проникают через мембраны [28, 29].

Основными факторы, влияющими на эффективность процесса обменного и нейтрализационного диализа являются концентрация компонентов исходного раствора [15, 28, 30], температура [28], тип валентности ионов [31, 32], скорость и концентрация кислоты или щелочи в принимающем растворе [15, 33], природа и тип ионообменных мембран [28]. Так, Мийоши (Miyoshi) [31] измерил коэффициенты диффузии ионов через ионообменные мембраны при доннановском диализе с использованием катионов разной валентности в растворах. Установлено, что для получения большего потока ионов лучше использовать одновалентные ионы, чем двухвалентные, последние сильнее взаимодействуют с ионопроводящими участками мембраны.

Возможность разделения смеси ароматической аминокислоты и ионов металла обменным диализом с использованием профилированной сульфокатионообменной мембраной показана в работах [34, 35]. Изучены оптимальные условия для интенсивности транспорта ионов натрия из смеси. Установлено сильное влияние концентрации кислоты в принимающей секции на величину фактора разделения. Зависимость эффективности процесса разделения от кислотности принимающего раствора охарактеризуется экстремумом, приходящимся на интервал $pH = 0.4-0.5$. Это обусловлено тем, что в этом диапазоне pH содержанию катионной формы фенилаланина составляет 40–56%. При $pH > 2.4$ фактор разделения имел очень маленькие значения ($S_F < 1$). По мнению автора, причиной является большой диффузионный перенос биполярных ионов фенилаланина по облегченному механизму и ограничением переноса ионов минеральной соли за счет доннановского исключения. При $pH < 0.4$ установлено снижение эффективности процесса разделения за счет конкурентного переноса катионов фенилаланина.

Разделение смесей аминокислот обменным диализом описано в работах [15,36]. В работе [36] показана возможность разделения смешанных растворов глутаминовой кислоты и фенилаланина или глутаминовой кислоты и аланина Доннановским диализом в диапазоне концентраций 0.5–50 моль/м³. При увеличении концентрации смеси аминокислот свыше 0.01 М наблюдается рост переноса глутаминовой кислоты более чем в 100 раз переноса другой аминокислоты. В области средних концентраций при уменьшении концентрации в сырье поток глутаминовой кислоты уменьшался, но поток фенилаланина или аланина увеличивался. При концентрации ниже 1 моль/м³ разница между потоками двух аминокислот была небольшая, и поток уменьшался с уменьшением исходной концентрации кислоты. Наиболее эффективное разделение аминокислот, когда соотношение потоков двух аминокислот было максимальным, было достигнуто, когда исходная концентрация составляла 10 моль/м³.

Сато (Sato) [15] было показано влияние концентрации принимающего раствора (раствора гидроксида натрия) на степень разделения смешанных растворов глутаминовой кислоты и аланина. Поток глутаминовой кислоты увеличивался с ростом концентрации принимающего раствора и был примерно постоянным в области выше определенной концентрации. С другой стороны, поток аланина монотонно увеличивался с ростом концентрации NaOH. Соотношение потоков глутаминовой кислоты к аланину также варьировалось в зависимости от концентрации, но имело максимальные значения. Принимая во внимание, что удовлетворительное соотношение потоков для разделения глутаминовой кислоты и аланина выше 100, верхние пределы концентрации раствора NaOH составляли 20, 90 и 160 моль/м³ для $C_F = 5, 10$ и 15 моль/м³, соответственно. По мере того, как концентрация аминокислот в исходном растворе становилась выше, верхний предел концентрации принимающего раствора, пригодный для разделения, также становился выше.

Замена существующих процессов разделения и извлечения аминокислот электродиализом открывает широкие возможности. Действительно, используя свойства аминокислот, которые имеют разные ионные формы в зависимости от значения рН, использование метода электродиализа является популярным для разделения и очистки смесей аминокислот [5, 37-39].

Аминокислота – это амфотерный электролит, и его поведение отличается от поведения обычных электролитов. Итои (Itoi) и Уцунумия (Utsunomiya) проводили электродиализ водных растворов метионина и глицина, содержащих формиат натрия [37]. Раствор подавали в электродиализатор с катионо- и анионообменными мембранами Selemion. При изменении рН и поддержании напряжения на ячейке на уровне 15 В (средняя плотность тока около 1 А/дм²) измеряли коэффициент проницаемости аминокислот, который становится минимальным вблизи изоэлектрической точки аминокислоты. Изменяя плотность тока и поддерживая рН около изоэлектрической точки аминокислоты, измеряли проницаемость для аминокислот (соотношение количества аминокислоты, переносимой через мембранную пару по отношению к электричеству). Установлено, что проницаемость для аминокислот становится минимальной при приложении предельной плотности тока.

Электродиализ может быть применен для разделения аминокислот с разными константами диссоциации pK_s и изоэлектрической точкой pI [5, 38-40]. Пример эффективного разделения аминокислот с разными значениями pI является разделение глутаминовой кислоты ($pI=3.08$) и гистидина ($pI=7.60$) [38]. При $pH=3.40$ глутаминовая кислота находится в форме анионов и цвиттер-ионов, поэтому мигрирует только через АОМ. Гистидин при этой величине рН практически полностью находится в форме катионов, поэтому способен мигрировать только через КОМ. Кумаром (Kumar) и соавт. [40] предложен способ изоэлектрического разделения глутаминовой кислоты и лизина из их смеси вследствие доминирующего переноса глутаминовой

кислоты через анионообменную мембрану при рН 8.0 по сравнению с лизином. В результате извлечение глутаминовой кислоты достигало 85%.

В работе [5] селективное выделение глутаминовой кислоты, метионина и лизина из смеси их растворов проводили электродиализом с ионообменными мембранами Selemion в диапазоне рН=1-12. Авторам удалось отделить аминокислоты друг от друга, т.к. глутаминовая кислота транспортировалась через АОМ, лизин – через КОМ, а метионин задерживался в подаваемом растворе. Их потоки через мембраны характеризуются экстремумами, приходящимися в нейтральном диапазоне рН (рис. 1.1 а, б) и почти линейной зависимостью от плотностью тока (рис. 1.1 в, г).

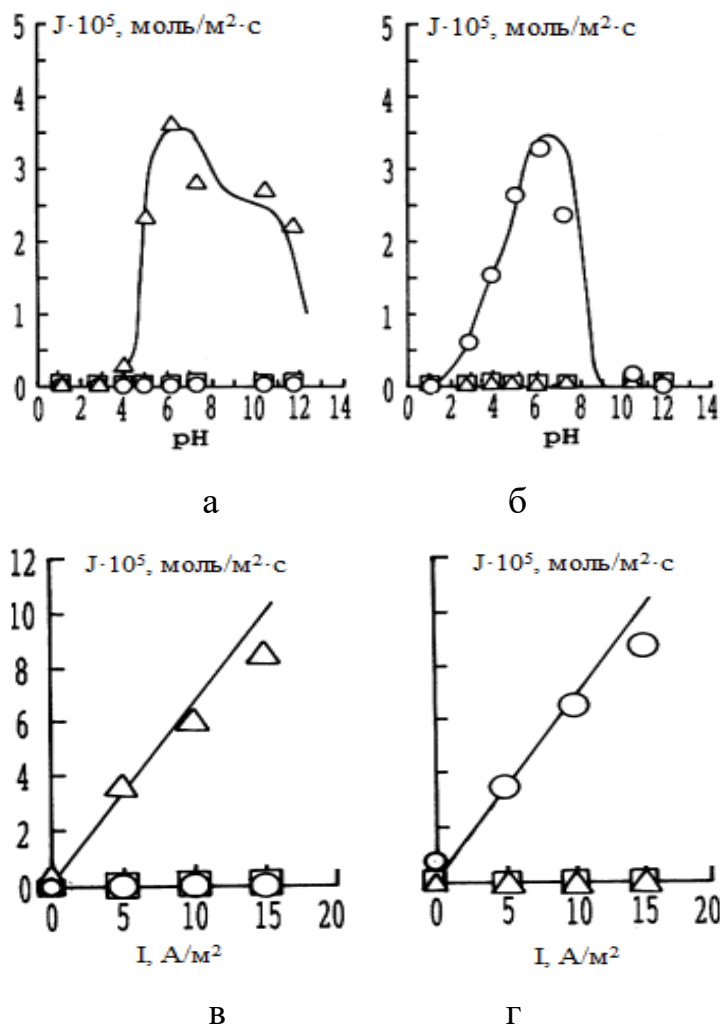


Рис. 1.1. Зависимость потоков аминокислот от pH раствора (а, б) и плотности тока (в, г). Обозначение: \triangle – глутаминовая кислота, \square – метионин, \circ – лизин. Адаптировано из [5].

Электродиализ также можно использовать для получения аминокислот из их солей [41], выделения из ферментационных бульонов и стоков [42, 43] или рацемических смесей [44].

Монтъелем (Montiel) и соавторами [41] показана возможность электродиализного извлечения D- α -p-гидроксифенилглицина из образующегося в ходе его осаждения маточного раствора с высоким содержанием фосфатов и сульфатов и концентрацией аминокислоты примерно 0.12–0.15 М. Предлагаемый способ позволяет извлекать 85% аминокислоты и снизить содержание соли на 70% по сравнению с исходным маточным раствором.

При электродиализе аминокислот изменение рН играет важную роль на эффективность процесса [45]. Установлено снижение извлечения целевых ионов или чистоты продукта вследствие изменения заряда аминокислот. Внешний контроль рН с добавлением кислот щелочей или буферных растворов сопровождается снижением производительности процесса из-за присутствия более мелких ионов, конкурирующих с аминокислотами во время разделения. При разделении смеси аминокислот серин и этаноламин выявлено снижение чистоты продукта из-за совместного транспорта аланина вследствие его перезарядки при снижении рН в загрузочном отсеке.

В патенте [42] предложен способ очистки содержащих аминокислоты растворов с помощью трехциклового электродиализа с биполярными мембранами. Так, раствор, содержащий лизин в катионной форме, например, как лизин гидрохлорид, вводится в камеру обессоливания и впоследствии переносится в так называемый основной цикл через КОМ. Из протонированного лизина, присутствующего в основном цикле, лизиновое основание высвобождается гидроксид-ионами, образующимися на биполярной мембране. Анионы, например, хлорид-ионы или сульфат-ионы переносятся через АОМ в так называемую камеру кислотного цикла и образуют соответствующую кислоту вместе с протонами, высвобождаемыми там на биполярной мембране. Камера с дилуатом удерживает незаряженные

частицы биомассы, так что очистка лизина происходит одновременно с его выделением.

Гриб (Grib) и др. [46] сообщили об извлечении пяти нейтральных аминокислот (глицин, серин, аланин, валин, фенилаланин) и контроле pH с помощью электродиализа с биполярными мембранами без необходимости добавления реагентов. Установлено, что серин и глицин экстрагировались предпочтительно по сравнению с другими аминокислотами. При начальных значениях pH 9.5 и 2 в загрузочной и приемной секциях были найдены следующие коэффициенты извлечения: 87.6% для глицина, 83.2% для серина, 71.6% для аланина, 44.8% для валина, 64.2% для фенилаланина. Перенос этих аминокислот может быть связан как с размером их молекул, так и с величиной pK_2 (NH_3^+). С одной стороны, перенос увеличивается, если растет количество анионов. С другой стороны, проницаемость мембраны больше для более мелких частиц. Самый высокий коэффициент извлечения был получен для глицина из-за его самой низкой молекулярной массы. Однако серина несмотря на его более высокую молекулярную массу было экстрагировано больше, чем аланина, из-за его более низкой величины pK_2 (NH_3^+). По тем же причинам коэффициент извлечения фенилаланина больше, чем валина.

Авторами [45] предложен способ разделения этаноламина и аланина с помощью электродиализа с сегментированной биполярной мембраной, имеющей как монополярные, так и биполярные области. В нейтральной среде этаноламин существует в катионной форме и способствует к переносу через монополярные области не влияя на эффективность разделения. В то же время расщепление воды усиливается в биполярных областях, поддерживая постоянный pH во время эксперимента. Этот подход привел к извлечению 37% этаноламина, в то время как аланин полностью оставался в исходном растворе.

В статье [47] показано влияние предварительной подготовки мембраны на степень извлечения фенилаланина из потока промышленных стоков с помощью электродиализа с сульфокатионообменной мембраной (CDS-Morgane Solvay) и сетчатой мембраной с ароматическими четвертичными

аммонийными группами (ADP-Morgane). Эти мембраны без предварительной обработки оказались менее эффективными, чем мембраны, погруженные в раствор солевых стоков на 18 часов. В процессе электродиализа с предварительно обработанными мембранами степень извлечения фенилаланина составила 87%, причем концентрация солей Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ по сравнению с исходным раствором уменьшилась на 98%. При предварительной обработке мембраны раствором бычьего сывороточного альбумина на 2 ч до начала эксперимента потеря фенилаланина значительно снизилась и не превышала 5%.

Елисеевой Т.В. и соавт. [48] показано влияние природы иона минеральных солей и функциональных групп мембран на потоки аминокислот и минеральных ионов через мембраны при сверхпредельных режимах электродиализа. Сравнением электрохимических характеристик мембран выявлены большие потери тирозина и фенилаланина из-за их сопряженного транспорта с катионами натрия через катионообменную мембрану, чем с ионами калия. Установлено, что максимальные потери исследуемых аминокислот можно прогнозировать из растворов, содержащих ионы бромида, из-за их более высокого сопряженного потока через анионообменную мембрану МА-41 и из растворов, содержащих анионы хлора, в системе с мембраной МА-40.

Влияние конфигурации электродиализатора на процесс выделения L-фенилаланина из ферментационного бульона показано в [49]. Установлено, что эффективность извлечения L-фенилаланина посредством электродиализа в течение 100 минут достигала 95% для АFX и 85% для АМ-1. В обессоливающей конфигурации электродиализа рН раствора должен быть доведен до щелочного значения, чтобы извлечь L-Phe через анионообменную мембрану. Без корректировки рН раствора применялся электродиализатор с биполярной мембраной, генерирующей гидроксид-ионы.

Авторами [43] предложена установка для промышленного обессоливания ферментационных растворов, содержащих нейтральные аминокислоты, электродиализом. Показано превосходство замены сорбции

при микробиологическом синтезе электродиализным методом; выбрана оптимальная плотность тока, при которой было достигнуто обессоливание до 99.3%. Для предотвращения деструкции ионообменных мембран в результате значительного разогрева растворов в секциях при данной плотности тока (431 А/м²) было проведено их охлаждение до 35-38 °С. Показано, что потери аминокислот в результате электромиграции и электроосмотического переноса составляют не более 5-7%. Установлено, что расход воды при электродиализе снижен примерно в 2.5 раза по сравнению с сорбционным методом.

Преимущество применения электродеионизации по сравнению с электродиализом при очистке аминокислот было показано в [51, 51]. Авторами [51] показаны преимущества турбулентного режима течения жидкости над ламинарным, выражающиеся в достижении больших значений степени обессоливания. Способ очистки растворов аминокислоты методом электродеионизации может быть использован как более энергосберегающий, так как при плотностях тока, не превышающих предельную величину, достигаются значения степени обессоливания более 70%. Установлено, что электродеионизационный метод позволяет провести глубокое обессоливание раствора фенилаланина в интенсивных токовых режимах, однако, потери целевого продукта при этом увеличиваются.

В работе [50] было показано влияние природы ионообменных смол на процесс восстановления аминокислот Glu и Lys при электродеионизации. Установлено, что 25-50 % инертной смолы, добавляемой в секции обессоливания электродеионизатора способствует увеличению эффективности тока и облегчению транспорта аминокислот за счет усиления турбулентности раствора. Показано, что сильноокислотная смола способствовала транспортировке глутаминовой кислоты и лизина при начальной концентрации 37 г/дм³, в то время как она оказывала незначительное влияние на их миграцию при концентрации 71 г/дм³. Применение сильноосновного анионообменника способствовало увеличению транспорта аминокислот в обоих случаях, что, по мнению авторов, связано с

каталитической активностью в реакции диссоциации аминокислот слабоосновных третичных аминогрупп, образующихся в результате гидролиза Гоффмана. Кроме того, показано, что после введения ионообменных смол выход по току был улучшен на 20–30%, при этом потребление энергии снизилось на 15–30%.

В работах [52, 53] рассматривают циркуляционный и барьерный эффекты переноса ионов амфолитов в каналах обессоливания электродиализатора. При плотностях тока выше предельной диффузионной изменение рН у поверхности мембраны, по мнению авторов [54], препятствует миграции ионов органического амфолита из секции обессоливания вместе с потоками минеральных ионов. Такое перераспределение потоков солей и органических амфолитов (в частности, аминокислот) авторы [54] назвали «барьерным эффектом». В дальнейшем понятие «барьерного эффекта» поляризованных пограничных слоев около мембраны в запредельном режиме тока развито в работе [53], в которых, авторами установлено, что поток аминокислоты максимален при предельной диффузионной плотности тока (рис. 1.2).

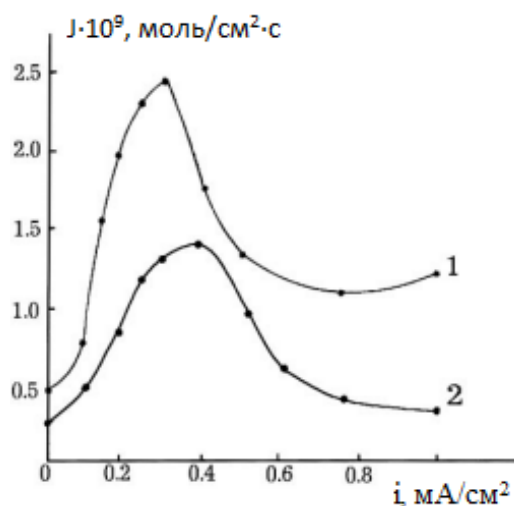


Рис. 1.2. Зависимость потоков глицина через ионообменные мембраны от плотности тока: 1 – мембрана МК-40, 2 - мембрана МА-40. Адаптировано из [53].

Дальнейшее увеличение потоков аминокислот после достижения минимума авторами объяснено облегченной электродиффузией [52] –

сопряженным транспортом биполярных ионов аминокислоты с ионами водорода через катионообменную мембрану и с ионами гидроксила через анионообменную мембрану в условиях нелинейной поляризации мембран.

Многие зарубежные исследователи отмечают, что на интенсивность массопереноса аминокислот существенно влияет использование мембран с заданными свойствами, в частности, charge-mosaic [55], энантиоселективных, пористых [56] мембран. Авторами работ [55, 57, 58] установлено эффективное разделение солей металлов (электролитов) от неэлектролитов и аминокислот [55], минеральных солей и сахаров [45] диализом с использованием мозаичных мембран. Это связано с их высокой проницаемостью для электролитов и низкой – для неэлектролитов [46]. Однако синтез мозаичных мембран с параллельными областями анионо- и катионообменника довольно сложный, поэтому в настоящее время они широко не используются в промышленности [58].

Возможность разделения смеси аминокислот с использованием нанофильтрационных мембран показана в [4, 59]. Однако этот процесс требует высокого рабочего давления, что приводит к низкой эффективности разделения. В качестве альтернативы нанофильтрационным мембранам для разделения амфотерных аминокислот могут выступать полиэлектролитные мембраны. Полиэлектролитные мембраны были применены при разделении нейтральных аминокислот [60], белков бычьего сывороточного альбумина и бычьего гемоглобина [61]. В работе [7] показана возможность применения поли(ионно-жидких) мембран (poly(ionic liquid) membranes) в качестве полиэлектролитных материалов при разделении L-фенилаланина и L-аспарагиновой кислоты. Хонг (Hong) и Брюнинг (Bruening) установили [60], что гидрофильные аминокислоты с низкой молекулярной массой обладают высокой проницаемостью через исследуемые мембраны. При применении полиэлектролитных мембран увеличение адсорбционной и разделяющей способности аминокислот и других амфотерных соединений происходит за счет эффекта Доннана [62].

Известно небольшое количество работ, в которых сделаны попытки теоретического исследования явлений, возникающих в процессах массопереноса содержащих аминокислоты растворов [63-66]. Трудность состоит в сложном характере поведения мембранных систем в растворах аминокислот, которые являются амфолитами, т.е. их химическое строение и заряд зависят от рН среды вследствие участия в реакциях протонирования-депротонирования.

При теоретическом описании [13, 66, 67] процесса деминерализации методом НД выявило колебание рН исходного раствора из-за различия в потоках H^+ и OH^- ионов в результате транспортных особенностей катионо- и анионообменной мембран. Однако, в одномерной нестационарной модели авторов [66] не учтены структура мембран и гидродинамические условия в камерах диализатора. Авторами [68] предложена простая нестационарная математическая модель процесса очистки раствора аминокислоты от минеральных солей методом НД, учитывающая как характеристики мембран и раствора, так и локальное изменение концентрации ионов в мембранах и прилегающих диффузионных слоях и способность аминокислоты вступать в реакции протонирования / депротонирования. В работах Ру-де-Балманн (Roux-de Balmann) и соавт. [69] применяется математическое моделирование для прогнозирования оптимальных значений рН и массообменных характеристик процесса разделения протеинов и других органических ионов.

Загрязнение ионообменных мембран, в том числе вследствие «органического отравления» (organic fouling), является одним из наиболее важных факторов снижения эксплуатационных характеристик мембран и эффективности мембранных процессов [70]. Известно, что большинство органических загрязнителей имеют отрицательный заряд, загрязняя АОМ вследствие осаждения и /или адсорбции.

Органическому отравлению подвержены не только анионообменные мембраны. При электродиализном разделении сложных модельных смесей аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой кислоты, лизина, аргинина

аланина) на фракции, выявлен факт отравления сульфокатионообменных мембран, заключающийся в снижении степени набухания, ухудшении их транспортных характеристик [71].

В результате увеличивается электрическое сопротивление мембраны, снижается выход по току и происходит изменение рН раствора, что ухудшает характеристики процесса. Белки оказывают загрязняющее действие на мембрану за счет образования гелевого слоя на поверхности мембраны [72]. Отложение белка на мембранной поверхности приводит к дополнительному гидравлическому сопротивлению, а также деградации транспортных и механических свойств мембран [73].

Известно, что возможность загрязнения и его обратимость/необратимость зависят от свойств фаулянта и мембраны [74]. Кроме того, взаимодействие между загрязняющим веществом и мембраной, в том числе при изменении рН раствора у межфазной границы, является одним из важных факторов, влияющих на вероятность загрязнения, которая оценивается по адсорбционной способности фаулянта на поверхности мембраны [75].

В работах [76, 77] показано, что при электродиализной деминерализации раствора ароматической аминокислоты загрязнение гетерогенных анионообменных мембран с функциональными группами разной основности происходит при плотностях тока, близких к предельной диффузионной, и может характеризоваться увеличением мембранного потенциала со временем при постоянном значении плотности тока. Присутствие анионов аминокислот и биполярных ионов в фазе мембраны после электродиализа подтверждают ИК-спектры и результаты измерения краевого угла смачивания мембран, свидетельствующие об увеличении гидрофобности поверхности мембраны [76]. В сверхпредельных условиях рост потенциала на мембране со временем не является значимым, что свидетельствует об устранении загрязнения. По мнению авторов [77], гидроксильные ионы, образующиеся в сверхпредельном

режиме вследствие гетеролитической диссоциации воды, входят в мембрану и могут «вымывать» биполярные ионы фенилаланина, перезаряжая их в анионы.

1.2. Возможности и ограничения атомно-эмиссионного метода фотометрии пламени

Принципы атомно-эмиссионного метода фотометрии пламени.

Методы атомной спектроскопии — основные методы определения элементного состава веществ. Для массовых, быстрых, селективных и достаточно точных определений малых содержаний элементов широкое применение нашел метод атомно-абсорбционной спектроскопии. Этим методом можно определять до 60-70 элементов, главным образом металлов, при их концентрациях порядка 10^{-12} - 10^{-6} г/мл [78]. Однако атомно-абсорбционную спектроскопию целесообразно применять лишь для одноэлементных анализов. Для одновременного определения нескольких элементов, а также для качественного (обзорного) анализа наилучшими является методы атомно-эмиссионной спектроскопии. Использование различных источников атомизации позволяет определять методом атомно-эмиссионной спектроскопии как основные, так и примесные компоненты пробы, анализировать как растворы, так и твердые образцы [79].

Атомно-эмиссионный спектральный анализ — метод количественного анализа элементного состава, основанный на испускании электромагнитного излучения атомами анализируемого вещества. Методы получения свободных атомов для элементного анализа при использовании УФ и В- излучения разнообразны, но во всех случаях среда, в которой происходит возбуждение должна обладать высокой энергией, чтобы освобождающиеся атомы в заметной степени возбуждались. Поэтому устройство - атомизатор служит иногда и как источник возбуждения [80]. Существуют электрические атомизирующие устройства (дуга или искра) и тепловые (пламя). Первые более высокотемпературные, поэтому число возбужденных атомов в них больше. Вследствие этого дугу или искру почти всегда используют для

измерения атомной эмиссии. Пламена попользуют для атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектроскопии.

Эмиссионная фотометрия пламени (ЭФП) – метод количественного элементного анализа, основанный на измерении интенсивности электромагнитного излучения, испускаемого атомным паром определяемого элемента в пламени [81]. Это один из старейших методов количественного элементного анализа по атомным спектрам испускания. Пробы на окрашивание пламени, введенные в аналитическую практику еще Бунзеном и Кирхгофом, впервые были использованы в спектрографии в 1879 г. Гюи, распыляя растворы, содержащие ионы металлов, сжатым воздухом, вводил аэрозоль в пламя светильного газа и фотографировал спектры.

Интенсивность спектра определяется заселенностью возбужденного состояния N^* в ансамбле атомов анализируемого вещества в соответствии с уравнением распределения Больцмана (1.1):

$$N^* = N_0 \left(\frac{g^*}{g_0} \right) \exp \left(- \frac{(E^* - E_0)}{kT_0} \right) \quad (1.1)$$

где N_0 — число атомов в основном состоянии; g^* и g_0 — степени вырождения возбужденного и основного состояний соответственно, а E^* и E_0 — энергии возбужденного и основного состояний, соответственно, k - постоянная Больцмана ($1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж·К⁻¹) [82]. Доля возбужденных состояний N^* определяется превышением энергии возбужденного состояния над основным, т.е. разностью ($E^* - E_0$) и температурой частиц T . Как видно из (1.1), при увеличении температуры T доля возбужденных частиц возрастает.

При атомной эмиссии образец подвергается воздействию высокоэнергетической тепловой среды, чтобы произвести атомы в возбужденном состоянии, способные излучать свет. Источником энергии может быть электрическая дуга, пламя или, в последнее время, плазма [82]. Спектр излучения, испускаемого паровым состоянием, характерен для металла, содержащегося в пробе (качественный анализ). Интенсивность спектральной линии является мерой концентрации металла, излучающего эту

линию (количественный анализ). Такие элементы, как натрий, которые присутствуют в растворе в виде катионов, часто дают достаточно сильное излучение, чтобы его можно было определить с помощью фотометрии пламени. Как правило, пламенная фотометрия не дает информации о типе химического соединения, в котором анализируемый элемент присутствует в образце (в виде соли или в виде комплекса). Это следствие высокой температуры и протекания химических реакций в пламени [83].

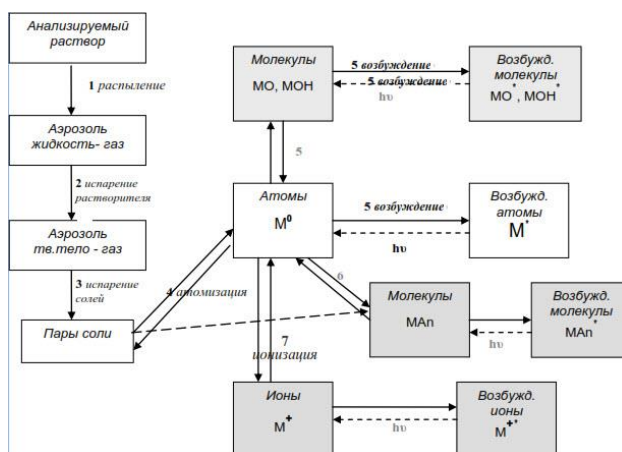


Рис. 1.3. Схема процессов в пламени при введении в него раствора [81].

При введении аэрозоля соли раствора в пламя в нём протекают сложные физико-химические процессы (рис. 1.3). Под воздействием высокой температуры пламени анализируемый элемент может присутствовать в виде свободных нейтральных атомов или молекул или в виде положительных ионов. В то время как десольватация и испарение являются необратимыми процессами, то обратимые реакции и процессы обычно устанавливают определенный баланс между атомарными, молекулярными и ионными видами металлов в газообразном состоянии. В парообразном состоянии частицы металлов возбуждаются, после чего они могут излучать атомные или ионные спектральные линии или молекулярные спектральные полосы в ближней инфракрасной, видимой или ультрафиолетовой частях спектра [84]. Все процессы настолько сложны, что каждый из них является предметом отдельного изучения науки. Количественный учёт влияния всех процессов в пламени задача практически неразрешимая. Потому метод эмиссионной

фотометрии пламени, также как методы спектрального анализа, является относительным.

Преимуществами эмиссионной пламенной фотометрии по сравнению с химическими методами анализа являются ее чувствительность (лучшие пределы обнаружения примерно 70 элементов составляют от 10^{-5} до 10^2 ppm, согласно [84], ее точность (относительное стандартное отклонение измерений в пламени составляет около 1–5%) и быстрота (особенно при рутинных анализах). Хотя эмиссионная пламенная фотометрия применялась для более чем 70 элементов периодической таблицы, его обычное применение ограничено металлическими элементами, такими как щелочные или щелочно-земельные металлы, Cu, Ag, Tl и т. д. [85]. Другим преимуществом часто является довольно простая конструкция и работа пламенного фотометра по сравнению с другими физическими методами анализа. Также следует упомянуть возможность одновременного анализа двух или более элементов в одной и той же пробе или анализа незначительных количеств материала пробы [86]. В настоящее время данный метод находит свое применение не только в проведении локальных лабораторных анализов, но и используется в различных важных современных отраслях технических исследований [87, 88], определении щелочных и щелочно-земельных металлов в пищевых продуктах [89]. Обсуждаются возможности использования цифрового изображения пламени для определения содержания натрия в образцах спортивных напитков [90].

Возможным недостатком в некоторых случаях является то, что образец необходимо преобразовать в жидкий раствор. Однако были разработаны специальные средства для анализа твердых образцов непосредственно в пламени [91]. Другим недостатком пламенно-фотометрического метода является вероятность значительного наложения друг на друга соседних линий спектра, принадлежащих разным химическим элементам. Этот эффект приводит к влиянию на результаты определения концентрации определяемого элемента других элементов, находящихся в анализируемом растворе.

Эффекты интерференции при анализе образцов со сложным и изменяющимся составом, которые возникают, когда сигнал излучения для данной концентрации аналита также зависит от присутствия и концентрации сопутствующих веществ в растворе, таких как кислоты, органические вещества или другие металлические элементы, также могут быть проблемой [92]

Как химические, так и физические воздействия могут привести к тому, что интенсивности линий для образцов будут отличаться от таковых для простых стандартных растворов при той же концентрации аналита. Интерференции, более распространенные в спектроскопии пламени, могут быть классифицированы по механизму происхождения на: физические, химические и спектральные помехи [78].

Спектральные помехи возникают, когда некоторые виды пламени, отличные от аналита, испускают или поглощают излучение, достаточно близкое к характерной длине волны анализируемого вещества [80]. В эмиссионном методе спектральная область, подвергаемая фотометрическому детектированию, ограничена спектральной полосой пропускания монохроматора. *Физические помехи* по своей природе неспецифичны, поскольку физические эффекты обычно ограничиваются вариациями скорости переноса аналита в пламя. Физические помехи, которые влияют на физические свойства раствора (вязкость, плотность и т.д.), действуют, изменяя процесс образования аэрозоля либо за счет уменьшения количества аэрозоля, либо за счет изменения распределения аэрозоля по размерам. *Химические помехи* включают все реакции, которые конкретно зависят от химической природы анализируемого вещества. Химические помехи могут возникать в паровой или конденсированной формах аналита [78].

Влияние органических и неорганических веществ на результаты эмиссионной фотометрии пламени.

Роль влияния различного рода помех при измерении концентрации металлов в растворе изучалась авторами [89]. Однако влияние помех,

вызванных так называемыми инертными веществами, почти не учитывалось. Выявлены и оценены ошибки, которые возникают в присутствии не только азотсодержащих органических (мочевина), но и неорганических (азотная кислота и хлорид аммония) веществ [93, 94]. Установлено, что присутствие азотсодержащих органических веществ в растворе понижает фототок эмиссии натрия или калия. Введение 0.04 моль мочевины на 1 дм³ раствора NaCl (приблизительно 4%) приводит к снижению абсолютного показания прибора на 11% относительно истинной величины. Это можно объяснить изменением вязкости раствора и скорости распыления образца в пламени. Многие органические вещества такие, как глицерин, сахара, белки и др., увеличивают вязкость; при этом снижается эффективность распыления, что ведет к понижению яркости излучения элемента в пламени [93]. Например [93], если добавить к раствору соли натрия сахарозу в концентрации 40%, результаты для натрия получаются на 40% ниже. В [94] изучена степень гашения интенсивности излучения атомов натрия в пламени в присутствии неорганических кислот. Содержание натрия в кислотосодержащих растворах 0,1 г/л. В случае азотной кислоты концентрации 4,0 М уменьшение оптической плотности составляет 18 % (уменьшение расхода для этого же раствора 19 – 20 %), соляной кислоты – 34 % (уменьшение расхода – 18 – 25 %), серной кислоты – 34 % (уменьшение расхода – 35 %). Автором выдвигается предположение, что основным фактором влияния неорганических кислот в пламенной фотометрии является изменение расхода анализируемого раствора в виду увеличения кинематической вязкости по мере роста кислотности исследуемых растворов. Таким образом, авторы [93, 94] сходятся во мнении, что изменение вязкости растворов имеет практическое значение при анализе.

Также в [93] было подробно изучено влияние сахарозы, глюкозы, мочевины и желатина на определение концентрации натрия, калия и кальция методом пламенной фотометрии. Установлено, что органический «загрязнитель» вызывает постепенное снижение интенсивности пламени для

каждого из щелочных и щелочноземельных металлов по мере увеличения концентрации загрязняющего вещества. В случае введения 0.05 моль мочевины на 1 дм³ раствора хлорида натрия (1.7 ммоль/дм³) наблюдается понижение абсолютного показания прибора на 3 % относительно истинной величины, а при введении 1 моль – на 21 %. Автором был измерен размер аэрозольных частиц растворов сахарозы, глюкозы, мочевины и желатина. Установлено, что с повышением концентрации органических веществ повышается вязкость и увеличивается размер аэрозольных частиц, и, соответственно, уменьшается интенсивность пламени. Выявлено, что угнетающее влияние на интенсивность пламени каждого изучаемого металла практически одинаково на грамм сахарозы и грамм глюкозы. Это указывает на то, что для подобных соединений эффект является функцией массы, а не молярности. Повышение вязкости вызывает снижение уровня атомизации образца, из-за этого в один и тот же промежуток времени в пламя попадает меньшее количество атомов. Это в свою очередь и приводит к уменьшению эмиссии пламени. Автором работы [95] была выведена теоретическая формула для расчета снижения фототока эмиссии магния в присутствии различных кислот, которая подтверждается экспериментальными данными. Поэтому авторы работы [96] при определении щелочных и щелочноземельных металлов в образцах мёда для исключения мешающего влияния сахаров и остальных органических компонентов провели их разделение с помощью ионообменных мембран.

С другой стороны, данное явление нельзя рассматривать только с позиции увеличения вязкости растворов, содержащих органический «загрязнитель», хотя промежутки времени, которые требуются для атомизации таких проб не будут сильно отличаться для ряда органических примесей, способных вызывать снижение интенсивности пламени.

1.3. Обзор методов определения аминокислот

Аминокислоты обладают ценными биологическими свойствами, входят в состав фармацевтических препаратов, пищевых добавок и продуктов питания [97]. Существуют разные методы количественного определения аминокислот, которые имеют свои достоинства и недостатки.

Титриметрические методы

Определение аминокислот йодометрическим титрованием уже известно в 50-ых годах как метод Попе-Стивенса [98]. Для оценки применимости метода процедура Поупа и Стивенса с фосфатом меди была опробована на нескольких чистых аминокислотах, но удовлетворительно воспроизводимые результаты не были получены. Трудность была связана с присутствием избытка фосфат-иона в суспензии фосфата меди, которая была приготовлена способом Поупа и Стивенса путем добавления раствора, содержащего ион меди, к раствору, содержащему избыток фосфат-иона. Уменьшив вдвое или удвоив исходное количество фосфата, можно было получить результаты, которые находились в диапазоне от 98 до 107%, соответственно, от ожидаемых значений.

В работе [99] авторы титриметрическим методом определяли несколько аминокислот, а именно гистидин, метионин, цистин, цистеин и триптофан. Они использовали 1,3-дибром-5,5-диметилгидантоин или N-бромфталимид в качестве титранта. Точка эквивалентности определяется прямо, косвенно, потенциометрическим или спектрофотометрическим методами. Полученные результаты выгодно отличаются от результатов, полученных с помощью известных фармакопейных методов.

Электрохимические методы

В работе [100] при электрохимическом определении аминокислот использована полимерная мембрана, нанесенная на графитовый электрод с уникальной селективностью по отношению к гистидину. Электрод был приготовлен путем включения хлор (5,10,15,20-тетрафенилпорфиринат) марганца (III) [Mn (TRP) Cl] в пластифицированную поливинилхлоридную мембрану. Электрод имеет предел обнаружения 5×10^{-6} М для гистидина и

показывает быстрое время отклика около 1 мин. Электрод показывает высокую селективность в отношении гистидина по нескольким аминокислотам и обычным неорганическим анионам. По мнению авторов работы уникальной особенностью разработанного сенсора является то, что он реагирует непосредственно на сам гистидин, а не косвенно отслеживает продукты ферментативных реакций с участием гистидина. Авторами [101] был использован электрод из углеродной пасты, модифицированный тетра-3,4-пиридинопорфиразинатом меди (II) (Cu (3,4 TPPA)) для определения L-гистидина (l-his) в водных растворах. Электрод показывает линейный отклик на логарифм концентрации l-гистидина в диапазоне ($2,4 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-2}$) М, при времени отклика около 1,5 мин. Предел обнаружения составлял $2,0 \times 10^{-5}$ М. Этот электрод был успешно использован для определения L-гистидина в синтетической сыворотке и контрольных растворах сыворотки RANDOX.

Авторами работы [102, 103] разработаны ПД-сенсоры для определения аминокислот глицина, аланина и лейцина в кислых и щелочных растворах, а также лизина в водных растворах, содержащих хлориды калия и натрия. Массив сенсоров включает перекрестно чувствительный сенсор, откликом которого является доннановский потенциал на границе ионообменный полимер/исследуемый раствор, набор ионселективных электродов и хлоридсеребряный электрод сравнения. Относительная погрешность определения аминокислот в исследуемых растворах не превышала 10%.

Хроматографические методы

В литературе ещё известны методы хроматографического [104, 105] определения аминокислот. Хроматографические методы известны как методы разделения, но сочетание этих методов с методами детектирования называется гибридными методами. Современные методы разделения и количественного определения свободных аминокислот включают ионообменную хроматографию, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), газовую хроматографию (ГХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). При этом может потребоваться химическая дериватизация аминокислот для

превращения их в формы, поддающиеся разделению с помощью различных хроматографических методов, или для создания производных со свойствами, такими как флуоресценция, которые улучшают их обнаружение.

Спектроскопические методы

Нашёл применение для определения аминокислот флуориметрический метод. В работе [106] изучена возможность определения глицина по флуоресценции его производных, образующихся в результате реакции с водными растворами орто-фталевого альдегида и нуклеофильных агентов.

Было обнаружено, что гистидин обращает эффект тушения ионов Cu (II) на флуоресценцию полупроводниковых квантовых точек, что позволяет анализировать гистидин на микромолярном уровне [107]. По мнению авторов, хотя оптимальный pH сенсора способствует селективности в отношении –SH-содержащих аминокислот (например, цистеина), эндогенное содержание Fe и Cu в биологических образцах всегда следует учитывать при визуализации живых клеток.

В работе [108] авторы определили гистидин методом зонного флюидного проточного анализа. Гистидин быстро реагирует с о-фталевым альдегидом в слабощелочной среде (pH 7,5) и в отсутствие дополнительных нуклеофильных соединений с образованием высокофлуоресцентного производного ($\lambda_{ex} / \lambda_{em} = 360/440$ нм). Предел обнаружения составлял $31 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ с точностью лучше, чем 1%. Случайные образцы мочи взрослых добровольцев были успешно проанализированы без матричного эффекта (<1%).

Таким образом, из анализа литературных данных известны методы титриметрического, хроматографического и электрохимического определения аминокислот. Существенными их недостатками являются длительность приготовления рабочих растворов (титриметрия), токсичность (потенциометрическое титрование в неводной среде), дорогостоящее оборудование (хроматография), необходимость предварительного перевода

аминокислоты в определяемые окрашенные производные при взаимодействии с нингидрином (фотометрия и спектрофотометрия).

Проблемы спектроскопического определения аминокислот в водных растворах.

Спектроскопические методы широко используются для определения аминокислот [109, 110]. В работе [111] изучено спектрофотометрическое определение α -аминокислот в зерновом сырье на основе исследования спектральных характеристик продуктов нингидриновой реакции. Относительная ошибка результатов определения для всех образцов не превышает ± 3 %. Разработан доступный метод спектрофотометрического количественного определения α -аминокислот в лекарственном сырье, субстанциях и препаратах [112]. Метод разработан на основании исследования спектральных характеристик продуктов нингидриновой реакции и оптимизации условий ее проведения.

С целью определения суммарного содержания аминокислот в сыворотке крови был разработан спектрофотометрический метод для количественного определения аминокислот путём их реакции с альдегидом ортофталевым. Продукт реакции определяют спектрофотометрически в присутствии меркаптоэтанола при длине волны 340 нм. Метод характеризуется высокой чувствительностью и позволяет количественно определить все α -аминокислоты, за исключением цистина, пролина и оксипролина [113].

Наиболее предпочтительным методом исследования и количественного определения ароматических и гетероциклических аминокислот является спектрофотометрический метод по характеристическим длинам волн индивидуальных аминокислот [114–117]. К структурным особенностям таких аминокислот, как фенилаланин, тирозин и триптофан относится наличие бензольного кольца. Для спектра поглощения бензола характерно наличие трёх полос поглощения при 180, 203 и 256 нм. Для ароматических аминокислот эти полосы в спектрах не очень значительно изменяют положение и интенсивность. В работе [118] показано, что максимальное

поглощение для водного раствора фенилаланина характерно при 191, 205 и 257 нм, а для тирозина установлено наличие полос поглощения при 193, 222 и 274 нм. В спектрах поглощения водных растворов триптофана присутствуют слабые полосы поглощения при 196 и 279 нм и интенсивная полоса поглощения с максимумом 219 нм. Достоинствами данного метода служат высокая чувствительность, экспрессность, незначительное количество исследуемого вещества и его сохранение в процессе анализа. Чувствительный спектрофотометрический метод целесообразно применять при анализе аминокислот, когда содержание определяемого компонента не превышает 1 %.

Особая структура сольватированной аминокислоты очень чувствительна к показателю рН среды, влияющему на биологическую активность. Поэтому важнейшими характеристиками, влияющими на спектрофотометрическое определение аминокислот в водном растворе, являются рН раствора, концентрация и время установления равновесия при растворении амфолита [118, 119].

Авторами [120] изучены спектры поглощения высококонцентрированных растворов всех неароматических аминокислот (Lys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met и др.). Установлено, что лизин гидрохлорид $\text{Lys}\cdot\text{HCl}$ имеет молярный коэффициент экстинкции (поглощения) в шесть раз меньше, чем в индивидуальном растворе лизина Lys при отсутствии гидрохлорида. По мнению авторов, уменьшение поглощения из-за присутствия ионов H^+ и Cl^- подтверждает участие заряженных аминокислотных боковых цепей в начальных фотовозбужденных переходах. В работе [121] приведены сравнительные данные о светопоглощении ароматической аминокислоты тирозина в 0.1 М растворе соляной кислоты и 0.1 М растворе щелочи. При нейтральных и кислых значениях рН спектр поглощения тирозина характеризуется интенсивной полосой при 192 нм и выраженными пиками в области 222 и 275 нм. Фенолят-анион имеет максимумы поглощения в области 240 и 293 нм. Главной причиной изменения

спектра при изменении рН раствора авторы считают ионизацию фенольной группы тирозина. В работе [114] также выявлено смещение максимума поглощения тирозина в длинноволновую область спектра при рН больше 9.2. Исследование светопоглощения цистина при рН=6 и рН=13 [121] показало увеличение интенсивности поглощения в щелочной среде примерно на 20%. В работе [122] установлено уширение и сдвиг максимума полосы поглощения в более длинноволновую область для катиона (рН < 3) и аниона (рН > 7) цистеина. По данным [123], в кислой среде цистеин поглощает только в ультрафиолетовой области с максимумом при 190 нм. С увеличением рН полоса светопоглощения сдвигается в длинноволновую часть спектра и интенсивность ее нарастает.

Методом спектрофотометрического титрования установлено влияние изменения заряда на карбоксильной и аминокгруппах на спектр поглощения гетероциклической аминокислоты триптофана [123]. Установлено, что увеличение рН от 1 до 4 ответственно за одну треть всех спектральных изменений при 292 нм. Максимум изменения соответствует рК титрования α -карбоксильной группы. При увеличении рН от 4 до 8 спектральные изменения не выявлены. При 234 нм наблюдается изобестическая точка при диссоциации аминокгруппы, а при диссоциации карбоксильной группы происходят изменения коэффициента молярной экстинкции $\Delta\epsilon$. Полное отсутствие спектральных изменений наблюдается при 287 нм.

Заключение к обзору литературы

Таким образом, обзор литературы показывает, что общая тенденция к приборизации и автоматизации химического анализа вызывает растущий интерес аналитиков к мембранному разделению. Указанная тенденция проявляется в неуклонном росте числа публикаций по использованию мембранных методов разделения в химическом анализе. Мембранные методы разделения позволяют решить проблемы пробоподготовки в лабораторных и промышленных анализаторах. Преимущества мембранных методов - простота

и компактность аппаратного оформления, экологическая чистота, непрерывность процесса, возможность его автоматизации.

В результате микробиологического синтеза аминокислот целевой продукт и производственные промывные воды содержат такие вещества как минеральные соли и сахар. Финальная очистка аминокислот обычно выполняется сложными в техническом плане методами хроматографической адсорбции и фракционной кристаллизации. Данные методы имеют низкую эффективность разделения. Использование мембранных методов для очистки позволяет не только упростить процесс, но и понизить затраты на производство аминокислот. Развитие мембранных методов разделения аминокислотных проб сложного состава является актуальным для решения задач пробоподготовки и повышения аналитических свойств компонентов. Перспективными мембранными методами разделения являются диализ и электродиализ. Анализ ограниченного количества работ об использовании методов диализа для выделения и очистки аминокислот показывает, что препятствием на пути их внедрения являются низкие скорость и селективность диффузионного переноса веществ через мембраны. В связи с этим актуальность данной работы определяется необходимостью направленного подбора мембран с заданными свойствами и поиска дополнительных эффектов, которые позволили бы увеличить эффективность и селективность выделения целевых продуктов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Ионообменные мембраны и их основные физико-химические характеристики

В качестве объектов исследования выбраны гетерогенные сульфокатионообменная мембрана МК-40, анионообменные среднеосновная МА-40 и сильноосновная МА-41 мембраны (ООО «ИП Щекиноазот» Россия).

Катионообменная мембрана МК-40 содержит 65% сильнокислотного ионита КУ-2 и 35% полиэтилена низкого давления. Фиксированные группы ионита КУ-2 – сульфогруппы. Анионообменная мембрана МА-41 содержит 65% сильноосновного ионообменника АВ-17. Большинство фиксированных групп мембраны МА-41 являются сильноосновными четвертичными аминогруппами, а слабоосновные группы могут присутствовать в количестве менее 25% [124]. Армирующей тканью в мембранах МК-40 и МА-41 служит капрон. В составе анионообменной мембраны МА-40 входит анионит смешанной основности ЭДЭ-10П с содержанием 55%. Мембрана МА-40 содержит лишь небольшое количество сильноосновных фиксированных групп (до 20% четвертичных аминогрупп). Структура исследуемых мембран представлена на рис. 2.1.

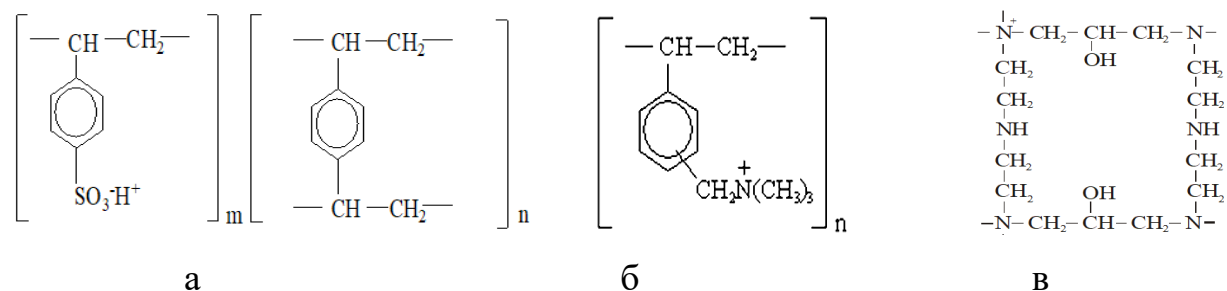


Рис. 2.1. Составное повторяющееся звено гетерогенных катионообменной МК-40 (а) и анионообменных МА-41 (б) и МА-40 (в) мембран [125].

Физико-химические свойства мембран определяли по стандартным методикам [125]. Результаты определения физико-химических характеристик исследуемых коммерческих образцов мембран представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1. Основные физико-химические характеристики промышленно выпускаемых гетерогенных ионообменных мембран.

Мембрана	МК-40	МА-40	МА-41	Ralex CMH	Ralex AMH
Инертное связующее	полиэтилен	полиэтилен	полиэтилен	полиэтилен	полиэтилен
Армирующая ткань	капрон	капрон	капрон	полиэстер	полиэстер
Ионообменная смола	КУ-2	ЭДЭ-10П	АВ-17	Lewatit MonoPlus S100	Lewatit MonoPlus M500
Содержание смолы, %	65	55	65	62**	60**
Ионообменная группа	-SO ₃ H	-NH ₂ , =NH, ≡N, до 20% -N ⁺ (CH ₃) ₃	-N ⁺ (CH ₃) ₃ ; до 25% ≡N, =NH	R - SO ₃ ⁻	R- (CH ₃) ₃ N ⁺
ПОЕ, ммоль/Γ _{наб. мемб.}	1.58 ± 0.06	2.92 ± 0.05	1.18 ± 0.06	1.12±0.05 [126]	1.14±0.06 [126]
ПОЕ, ммоль/Γ _{сух. мемб.}	2.57 ± 0.06 2.6±0.3*	4.63 ± 0.05 3.8±0.4*	1.72 ± 0.06 2.0±0.3*	1.6±0.1 [126]	1.6±0.1 [126]
Толщина сухой мембраны, мкм	300-400*	300-400*	300-400*	<450**	<450**
Толщина набухшей мембраны, мкм	580±10	540±20	502±10	<700**	<750**
Влагосодержание, %	38.4± 0.2 40±5*	37± 1 40±5*	31.2± 0.9 40±5*	<65**	<65**
Плотность, г/см ³ _{наб. мемб.}	1.16*	1.09*	1.16*	1.25 [126]	1.21 [126]
Число переноса в 0.01/0.2 М NaCl * 0.5/0.1М KCl**	0.98*	0.94*	0.96*	> 0.95**	> 0.95**

Знаком (*) обозначены соответствующие стандартные величины [127], знаком (**) – данные каталога-производителя [128]

Все исследуемые гетерогенные мембраны были изготовлены горячим прессованием (МК-40, МА41, МА-40) или вальцеванием (Ralex CMH, Ralex AMH) термопластической смеси, состоящей из мелкодисперсного порошка ионообменника и полиэтилена. Ионообменник, используемый при производстве мембран МК-40, МА-41, Ralex CMH и Ralex AMH, можно отнести к полимеру, полученному сополимеризацией полистирола с дивинилбензолом [129].

Также в качестве объектов исследования были выбраны экспериментальные гетерогенные ионообменные мембраны Ralex CMH и

АМН (Mega a.s., Чехия) с различным соотношением ионообменная смола/инертное связующее. Армирующая ткань – полиэстер. Иониты получены сополимеризацией полистирола с дивинилбензолом. Матрица катионообменных и анионообменных мембран представляет собой полистирол, сшитый дивинилбензольной ионообменной смолой Lewatit MonoPlus S100 и Lewatit MonoPlus M500, соответственно.

Таблица 2.2. Основные физико-химические характеристики экспериментальных гетерогенных ионообменных мембран Ralex с различным содержанием ионообменника.

Мембрана	Массовая доля ионообменника, %	ПОЕ, ммоль/Г набух.мембр	ПОЕ, ммоль/Г сух.мембр	W, Г _{H2O} /Г набух.мембр, %	d, МКМ
СМН	45	1.88±0.07	2.66±0.09	29 ± 2	540 ± 20
	50	1.90±0.02	2.83±0.02	33 ± 1	550 ± 10
	55	1.93±0.05	3.00±0.07	36 ± 2	585 ± 5
	60	2.07±0.04	3.38±0.07	39 ± 1	610 ± 5
	65	2.16±0.06	3.76±0.09	42 ± 1	655 ± 5
	70	2.34±0.05	4.23±0.09	45 ± 2	715 ± 15
АМН	65	1.88±0.07	2.66±0.09	38 ± 1	690 ± 10

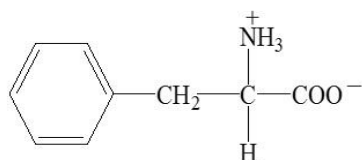
Перед исследованиями мембраны подвергались солевой подготовке последовательной обработкой растворами хлорида натрия концентрации 300 г/дм³ (6 ч) и 30 г/дм³ (6 ч) согласно [125]. Физико-химические характеристики экспериментальных мембран с различным содержанием ионообменника определены по стандартным методикам и представлены в таблице 2.2.

2.2. Алкилароматическая аминокислота фенилаланин, ее свойства

Фенилаланин (α -амино- β -фенил-пропионовая кислота, Phe) – это алкилароматическая аминокислота, которая обеспечивает углеродный скелет для фенилпропаноидного метаболического пути, производящему тысячи различных химических веществ, используемых для структуры, защиты и других функций в физиологии клеток и организма [130]. Как одна из самых важных аминокислот играет роль в производстве таких ароматических соединений, как антиоксиданты [131], может напрямую или косвенно влиять

на физиологическую активность, связанную с ростом и развитием растений. Фенилаланин как незаменимый компонент поступает в организм человека и животных в составе белков пищевых продуктов, поскольку ткани животных не обладают способностью синтезировать его бензольное кольцо.

Фенилаланин представляет собой монозамещенное производное бензола. В общем виде структурная формула фенилаланина имеет вид:



В работе в качестве объекта исследования был использован фенилаланин в L-оптически изомерной форме, которая пригодна в качестве пищевой добавки и в медицинских целях [132].

Наличие групп $-NH_2$ и $-COOH$ в составе аминокислот обуславливает их амфотерные свойства [132, 123]. В зависимости от pH раствора фенилаланин существует в различных ионных формах [118]. Для аминокислот характеризуется pH (изоэлектрическая точка $pI=5.9$), при котором аминокислота находится преимущественно в виде биполярных ионов. В кислой среде аминокислота ведет себя как основание с константой диссоциации сопряженной кислоты $K_2 (\alpha-NH_2) = 8.13 \times 10^{-10}$ и заряжается положительно, а в щелочной – как кислота с константой диссоциации $K_1 (\alpha-COOH) = 2.63 \times 10^{-3}$ и заряжается отрицательно.

В водном растворе равновесные концентрации различных ионных форм фенилаланина определяются протеканием реакций протолиза:



Концентрации катионов Phe^+ , анионов Phe^- и биполярных ионов Phe^\pm фенилаланина в растворе определяются соотношениями [133]:

$$C_{Phe^+} = \frac{C_{Phe}^{tot}}{\frac{K_1 K_2}{C_H^2} + \frac{K_1}{C_H} + 1}, \quad (2.3)$$

$$C_{Phe^-} = \frac{K_1 K_2 C_{Phe^+}}{C_H^2}, \quad (2.4)$$

$$C_{Phe^\pm} = \frac{K_1 C_{Phe^+}}{C_H}, \quad (2.5)$$

где $C_{Phe}^{tot} = C_{Phe^\pm} + C_{Phe^+} + C_{Phe^-}$ – концентрация всех ионных форм фенилаланина в растворе.

Соотношение ионных форм фенилаланина в водных растворах в зависимости от рН приведено на рис. 2.2.

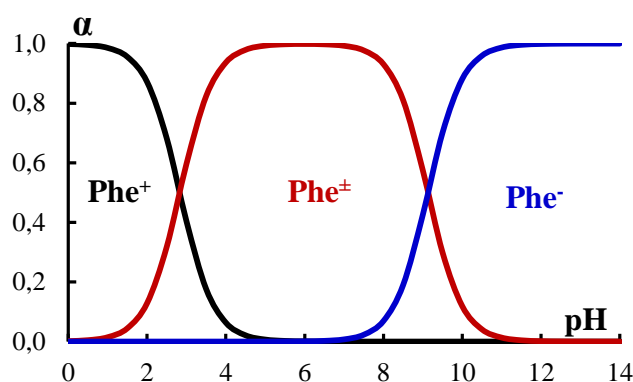


Рис. 2.2. Соотношение ионных форм фенилаланина в водных растворах.

В таблице 2.3 приведены некоторые характеристики исследуемой аминокислоты.

Таблица 2.3. Свойства фенилаланина.

Молярная масса М, г/моль	165.19
Растворимость при 298 К, г/100мл (H ₂ O)	2.96
моль/дм ³ [134]	0.179
рК ₁ (COOH) [134]	2.59
рК ₂ (NH ₂) [134]	9.24
рI [134]	5.91
Длина радикала, нм [135]	0.69
Объем радикала, нм ³ [135]	0.1366
Коэффициент диффузии в растворе D, 10 ⁻¹⁰ , м ² /с [136]	7.67

Диапазон концентраций смешанных эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия составил 0.01–0.15 моль/дм³. Максимальное значение концентрации ограничено растворимостью фенилаланина (0.1792 моль/дм³) в воде. В модельных растворах аминокислота находилась преимущественно в виде биполярных ионов, так как рН растворов имел

величины 5.7–6.0, близкие к значению изоэлектрической точки фенилаланина $pI=5.91$. В исследуемых водных растворах при pH 5.7–6.0 содержание фенилаланина в биполярной форме составляло – 99.88%, в катионной – 0.08–0.04%, и в анионной – 0.04–0.08%.

2.3. Метод нейтрализационного диализа

НД смешанных растворов хлорида натрия и фенилаланина выполняли в плоскокамерном проточном трехсекционном диализаторе непрерывного действия, схема которого представлена на рис. 2.3а. На рис. 2.3б показана схема процесса НД раствора аминокислоты и соли. Активная площадь каждой мембраны равнялась 7.14 см^2 ($4.2 \text{ см} \times 1.7 \text{ см}$), толщина каждой секции диализатора составляла 0.6 см.

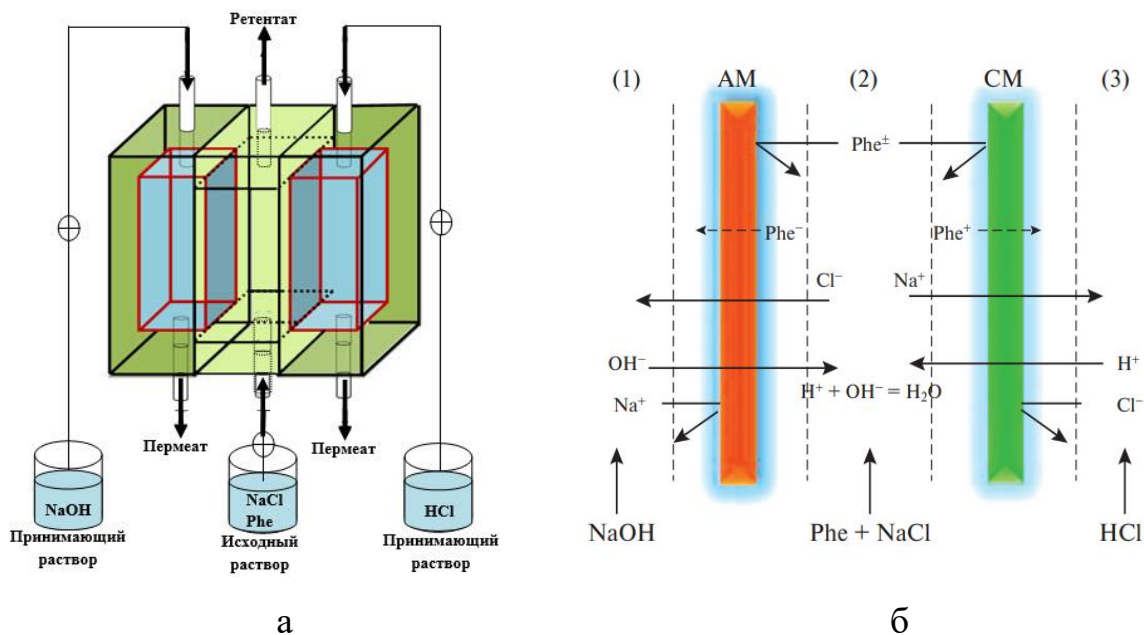


Рис. 2.3. Схемы трехсекционной ячейки (а) и процесса НД раствора смеси фенилаланина и хлорида натрия (б).

Исходные деминерализуемые растворы подавали в среднюю секцию 2, растворы щёлочи и кислоты в секциях 1 и 3 пропускали в режиме противотока. Скорости растворов в секции деминерализации и в соседних секциях составляли $4.5 \times 10^{-2} \text{ см/с}$ и $5.8 \times 10^{-3} \text{ см/с}$, соответственно. Такие скорости были выбраны для получения воспроизводимых результатов измерения концентраций компонентов в стационарном режиме [137]. Для оптимизации

условий сохранения постоянного значения рН деминерализуемого раствора в нейтральной области была выбрана концентрация растворов кислоты и щёлочи 0.30 М [137]. Во время эксперимента для компонентного анализа собирали фракции после выхода растворов из приемных секций (пермеат). По постоянству концентрации компонентов в пробах определяли наступление стационарного состояния.

Потоки компонентов через исследуемые мембраны определяли по изменению концентраций в растворе пермеата [137]:

$$J = \frac{cV_{об}}{S}, \quad (2.6)$$

где J – плотность потока компонента, моль/(см²·с); C – концентрация компонента в растворе пермеата, моль/дм³; $V_{об}$ – объемная скорость раствора в приемной секции, дм³/с; S – активная площадь мембраны, см².

Эффективность процесса разделения компонентов в смешанном растворе фенилаланина и хлорида натрия оценивали фактором разделения S_F [138], который определяли как отношение концентраций компонентов в растворе пермеата I (или 3) к отношению концентраций компонентов в деминерализуемом растворе, поступающем в среднюю секцию 2 :

$$S_F = \frac{C_{1(3)(A)}}{C_{1(3)(Phe)}} \div \frac{C_{2(A)}}{C_{2(Phe)}}, \quad (2.7)$$

где $C_{1(3)}$ – концентрации веществ в растворе пермеата, C_2 – концентрации веществ в исходном деминерализуемом растворе, Phe – фенилаланин, А – ионы натрия или хлориды.

Расчет степени выделения ионов минеральной соли R и потерь аминокислоты L проводился с использованием величин концентрации компонентов в принимающих секциях согласно [138]:

$$R = \frac{C_{1(3)}}{C_2} \cdot \frac{V_{1(3)}}{V_2} \times 100\%, \quad (2.8)$$

где C – концентрация иона, моль/дм³; V – объемная скорость раствора, дм³/с; индексы 1 и 3 относятся к пермеату, а индекс 2 – к раствору секции деминерализации;

$$L = \frac{C(\text{Phe})}{C_0(\text{phe})} \times 100\% \quad (2.9)$$

где $C(\text{Phe})$ – концентрация фенилаланина в пермеате, моль/дм³; $C_0(\text{Phe})$ – концентрация фенилаланина в исходном растворе, моль/дм³.

2.4. Локально-распределительный анализ растворов в мембранных системах методом лазерной интерферометрии

Эксперименты по изучению распределения концентрационных профилей в растворе на границе с исследуемой мембраной выполнены с использованием метода одночастотной лазерной интерферометрии на установке типа Маха-Цендера. Принципы метода и схемы применяемых для измерения в растворах интерферометров представлены в [139, 140].

Используемый интерферометр Маха-Цендера состоял из гелий-неонового лазера ЛГН-215 с длиной волны 632,8 нм, двух отражающих и двух разделяющих световой пучок полупрозрачных зеркал, расположенных в виде параллелограмма, линз и экрана, на котором регистрировалась интерференционная картина (рис. 2.4).

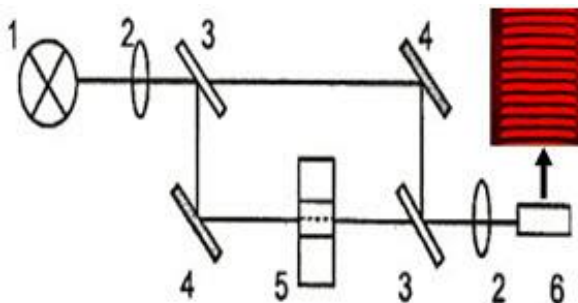


Рис. 2.4. Схема интерферометра Маха-Цендера: 1 – монохроматический источник излучения, 2 – конденсирующая линза, 3 – полупрозрачная пластина, 4 – зеркало, 5 – ячейка для интерферометрических исследований, 6 – экран.

Пучок лучей от лазерного монохроматического источника света 1 делился полупрозрачной пластиной 2 на два световых потока (измерительный и луч сравнения), которые отражались зеркалами 3 и один из них (измерительный) проходил через камеру электродиализатора 4. Оба луча

совмещались на полупрозрачной пластине 2 и интерферировали, давая картину на экране 5.

Интерферограммы регистрировались видеокамерой VEI-135 (ЗАО «ЭВС», С-Петербург, Россия) с частотой дискретизации 15 Гц и представлялись в цифровом виде с разрешением 640×480 пикселей. Видеокамера передавала информацию непосредственно на компьютер (Intel Core Duo E8400 с тактовой частотой 3.00 Гц). Полученные с помощью программного обеспечения ScorePhoto 3.0 экспериментальные интерферограммы были представлены в виде отдельных фотографий и видеосюжетов.

В данной работе интерферометр юстировали на полосы конечной ширины, направленные перпендикулярно поверхности мембран. На рис. 2.5 показана интерферограмма раствора на границе с мембраной при настройке на полосы конечной ширины.

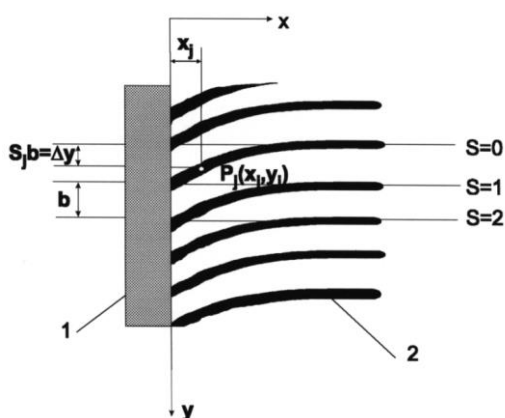


Рис. 2.5. Расшифровка интерферограммы раствора на границе с ионообменной мембраной $P(x,y)$ – произвольная точка на интерференционной полосе, b – расстояние между интерференционными полосами, Δy – смещение интерференционной полосы от первоначального положения, 1 – ионообменная мембрана, 2 – фаза раствора [141].

Порядок интерференции S (число смещенных полос) в точке $P(x,y)$ определяется абсолютной величиной смещения Δy :

$$S = \frac{\Delta y}{b}, \quad (2.10)$$

где b – расстояние между интерференционными полосами, Δy – смещение интерференционной полосы от первоначального положения.

Градуировка интерферометра. Для получения градуировочных зависимостей порядка интерференции S от концентрации раствора исследуемых веществ различных концентраций вносили последовательно в измерительную ячейку. На полученной интерферограмме, представляющей совокупность параллельных полос, выбирали полосу-метку, а затем наблюдали ее смещение при изменении концентрации раствора при температуре раствора 20 °С. Число смещенных полос является функцией изменения показателя преломления [141]

$$S = \frac{\Delta n \cdot l}{\lambda}, \quad (2.11)$$

где S – число смещенных полос, Δn – разность показателей преломления, l – толщина оптической ячейки по направлению прохождения света, λ – длина волны монохроматического источника излучения.

Результаты статистической оценки градуировочных кривых исследуемых в работе веществ приведены в таблице 2.4.

Таблица 2.4. Корреляция смещения интерференционных полос и изменения концентрации ($l = 1,8 \cdot 10^{-2}$ м, $\lambda = 632,8$ нм).

Компонент	Вид зависимости						
	$S = \alpha \pm \beta \cdot c$			$S = \gamma \cdot c$			
	$\alpha \pm \Delta\alpha$	$\beta \pm \Delta\beta$	$F < F_{\text{табл.}}$	$\gamma \pm \Delta\gamma$	S_{γ}^2	r	
NaCl	0.48±0.98	346±16	1.23	9.12	353±18	8.94	0.9997
Phe	0.33±0.28	2537±46	2.80	9.12	2583±40	170.34	0.9999

Оценка значимости величины свободного члена регрессии α с использованием критерия Фишера (F-критерия) [142] показала, что все градуировочные графики проходили через начало координат, то есть инструментальные и экспериментальные фоновые шумы, равно как и другие возможные случайные явления, не вносили ощутимого эффекта в сигнал.

Методика расшифровки интерферограмм. Количественная обработка интерферограмм заключалась в следующем. Из совокупности полос произвольно выбирали одну и полагали для нее смещение полосы равное нулю (рис. 2.4). В произвольной точке $P(x, y)$ относительное смещение полосы $S(x, y)$ определяется величиной ее отклонения от первоначального положения Δu и расстоянием между центрами интерференционных полос b , определенным вне пределов концентрационного пограничного слоя. Координаты рассматриваемых произвольных точек относительно границы раздела мембрана-раствор находили, предварительно определив масштаб фотографированием эталона длины. В качестве эталона длины использовали оптическую щель шириной $1 \cdot 10^{-3}$ м.

Изменение концентрации в растворе связано с изменением показателя преломления, что в свою очередь, изменяет оптическую разность хода между лучом сравнения и частью измерительного луча интерферометра, проходящего через эту область. Изменение концентрации вещества ΔC , связанное с изменением показателя преломления раствора Δn (2.12), выражается через относительное смещение интерференционных полос S :

$$S = \gamma \cdot \Delta C \cdot l, \quad (2.12)$$

где l – толщина оптической ячейки по направлению прохождения света, λ – длина волны монохроматического источника света, γ – коэффициент чувствительности определения, который определяется при предварительной градуировке интерферометра. В работе использовались величины смещения интерференционных полос, нормированные на расстояние между максимумами оптической плотности двух соседних полос b , так как абсолютные смещения Δu различны для разных плоскостей наблюдения.

Значение локальной концентрации раствора в рассматриваемой точке находили согласно (2.13)

$$C(x, y) = C_0 - \frac{S(x, y)}{\gamma \cdot l}, \quad (2.13)$$

где C_0 – концентрация за пределами области концентрационных изменений, S – относительное смещение интерференционной полосы, рассчитанное по интерферограмме, γ – коэффициент чувствительности (тангенс угла наклона градуировочного графика).

Методика оцифровки нестационарной интерференционной картины. Для оцифровки интерференционной картины была использована программа MemDigit. Процедура оцифровки состояла из этапа формирования графического изображения, в котором отражается динамика изменения положений максимумов интенсивности интерференционной картины, и этапа оцифровки графических изображений.

Первый этап работы производился на вкладке «Оцифровка видео». При оцифровке производилась идентификация положения максимумов, соответствующих положению максимумов интерференционных полос. Для визуального контроля на экране отображался график интенсивности цвета интерференционной картины выбранной строки, а также процесс ее оцифровки (рис. 2.6а).

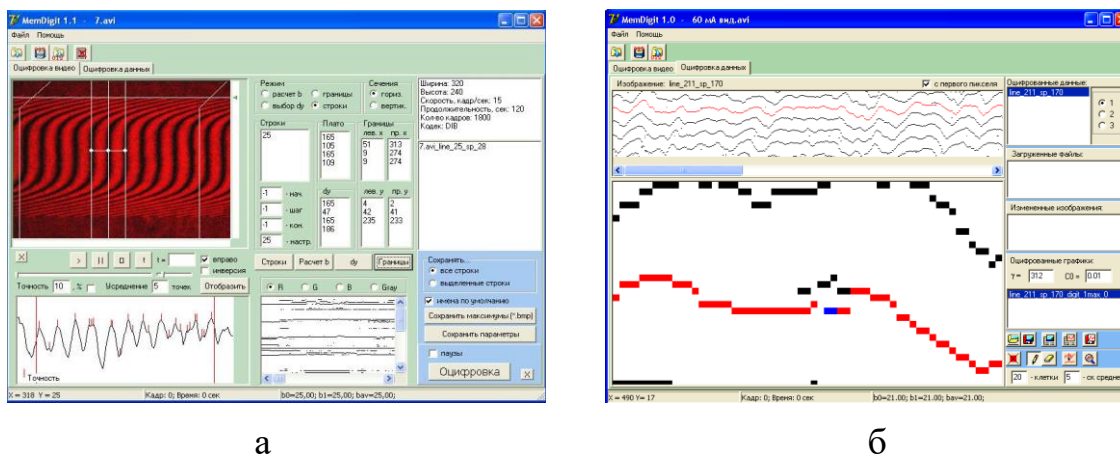


Рис. 2.6. Фрагмент программы для оцифровки интерференционной картины вкладка «Оцифровка видео» (а) и вкладка «Оцифровка данных» (б).

Второй этап работы производился на вкладке «Оцифровка данных». Правильность оцифровки контролировалась визуально и при необходимости изображение редактировалась с помощью встроенного графического редактора (рис. 2.6б). Преимущество данного типа программы заключалось в

возможности описания смещения интерференционной полосы в любой точке пространства.

2.5. Методика электролиза и комплексного измерения массообменных и электрохимических характеристик, концентрационных полей, изучения гидродинамического состояния межфазных границ мембранной системы

Для установления взаимосвязи распределения концентраций и электрического потенциала, а также параметров течения растворов в электромембранных системах необходимо применение не отдельных методов, а их сочетания. При выполнении данной работы была использована оригинальная установка (рис. 2.7), позволяющая визуализировать распределение концентраций и гидродинамическое состояние пограничных слоев мембраны и мембранного канала с одновременной регистрацией вольтамперной характеристики мембраны с использованием хлоридсеребряных зондов [143].

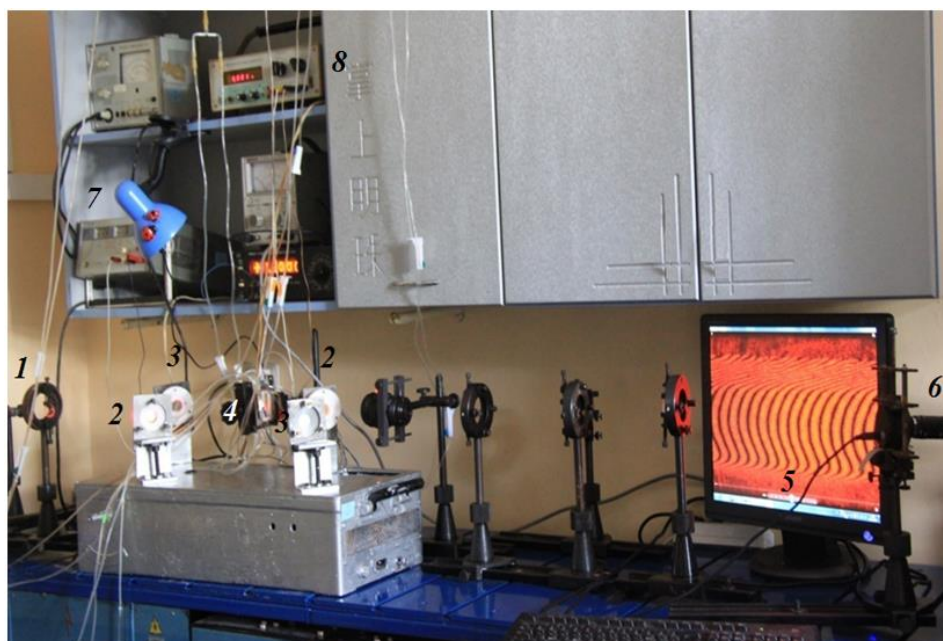


Рис. 2.7. Фотография установки.

Электродиализ индивидуальных и смешанных растворов выполняли в гальваностатическом режиме в семисекционной ячейке при ее горизонтальной ориентации в гравитационном поле. Схема электродиализатора показана на рис. 2.8.

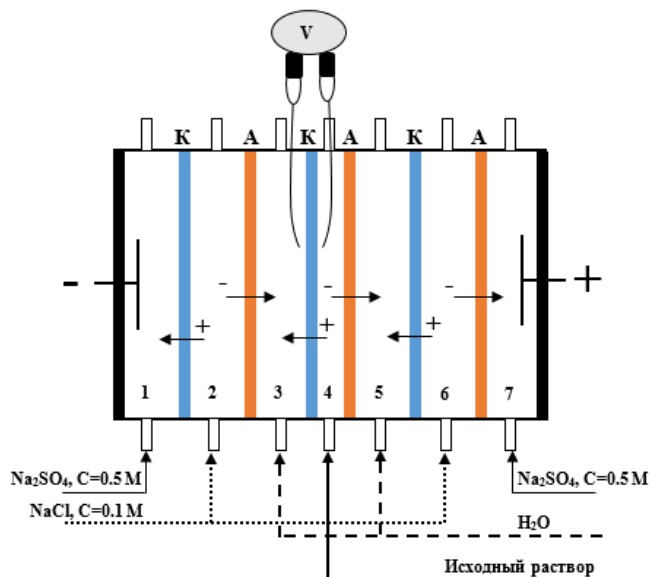


Рис. 2.8. Схема электродиализатора с чередующимися катионообменными (К) и анионообменными (А) мембранами. 1-7 – номера секций.

В исследуемой центральной секции 4 активная площадь мембран составляла $4.2 \times 1.8 \text{ см}^2$, межмембранное расстояние 0.2 см. Во всех других секциях межмембранное расстояние равнялось 1.0 см. В секцию 4 подавался исследуемый индивидуальный раствор хлорида натрия концентрации 1×10^{-2} моль/дм³, приготовленный из стандартного фиксанального раствора соответствующим разведением, или смешанный раствор с фенилаланином ($C_0(\text{Phe}) = 5 \times 10^{-2}$ моль/дм³). В секции концентрирования 3, 5 осуществлялась подача дистиллированной воды. В буферные камеры 2, 6 подавались растворы хлорида натрия концентрацией $1 \cdot 10^{-1}$ моль/дм³, приготовленные по навеске. Электродные камеры 1, 7 заполнялись $5 \cdot 10^{-1}$ моль/дм³ раствором сульфата натрия, приготовленным по навеске. Линейная скорость подачи растворов в центральную и соседние с ней секции составляла $3.5 \cdot 10^{-4}$ м/с, в электродные камеры и секции концентрирования – $1.75 \cdot 10^{-3}$ м/с.

Вольтамперные характеристики электромембранных систем. Для изучения электромембранных систем был применен метод традиционной вольтамперометрии. Для экспериментального снятия ВАХ мембран использовали цифровой мультиметр APPA 207 производства APPA Technology Corporation (Тайвань), позволяющего производить измерение постоянного напряжения в диапазоне 1 мкВ – 1000 В с погрешностью менее 0.1%. В качестве измерительной ячейки применяли электродиализную ячейку для интерферометрических исследований, конструкция которой представлена на рис. 2.8. Для измерения разности потенциалов на исследуемой мембране в ячейку вводились два хлоридсеребряных зонда расположенные на расстоянии $1 \cdot 10^{-3}$ м. Потенциал регистрировался на координате по направлению подачи раствора $y = 2.7 \times 10^{-2}$ м (0.64L).

Предельная диффузионная плотность тока i_{lim} определялась по первому изменению наклона вольтамперной кривой (рис. 2.9).

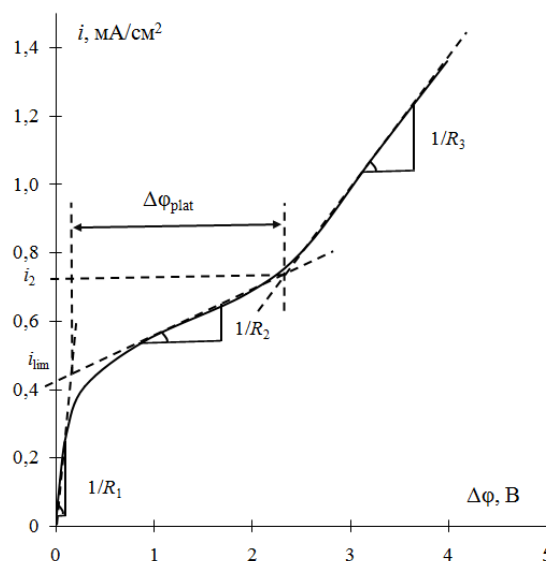


Рис. 2.9. ВАХ катионообменной мембраны МК-40 в растворе хлорида натрия: $C_0(\text{NaCl})=1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $V=3.5 \cdot 10^{-4}$ м/с, $h=2 \cdot 10^{-3}$ м.

Для определения длины плато предельного тока определяли точку пересечения участка плато и вторичного подъема поляризационной кривой. Значение тока i_2 соответствует началу области вторичного подъема ВАХ, когда линейный наклонный участок с более высоким электросопротивлением

(плато предельного тока) сменяется большим ростом плотности тока при приращении напряженности электрического поля. Сопротивление мембранной системы R на различных участках ВАХ определялось по их наклону в координатах $i - f(\Delta\varphi)$. При сравнении вольтамперных характеристик мембран вместо суммарного скачка потенциала $\Delta\varphi$ использовали величину приведенного скачка потенциала $\Delta\varphi'$ [144]:

$$\Delta\varphi' = \Delta\varphi - iR_{ef}, \quad (2.14)$$

где $\Delta\varphi$ – суммарный скачок потенциала, i – плотность тока, R_{ef} – эффективное сопротивление мембранной системы. Использовали $\Delta\varphi'$ для того, чтобы исключить из рассмотрения сопротивление системы при малых токах R_{ef} , которое зависит от расстояния между мембраной и электродами, толщины мембраны, диффузионного сопротивления межфазных границ и другие параметры, которые сложно учесть при переходе от одной мембранной системы к другой. Величина R_{ef} найдена по наклону начального участка вольтамперной кривой при $i \rightarrow 0$.

Методика определения размеров области концентрационных изменений. Визуализация интерференционной картины в растворе на межфазной границе позволила экспериментально исследовать распределение концентрации и структуру диффузионного слоя (рис. 2.10).

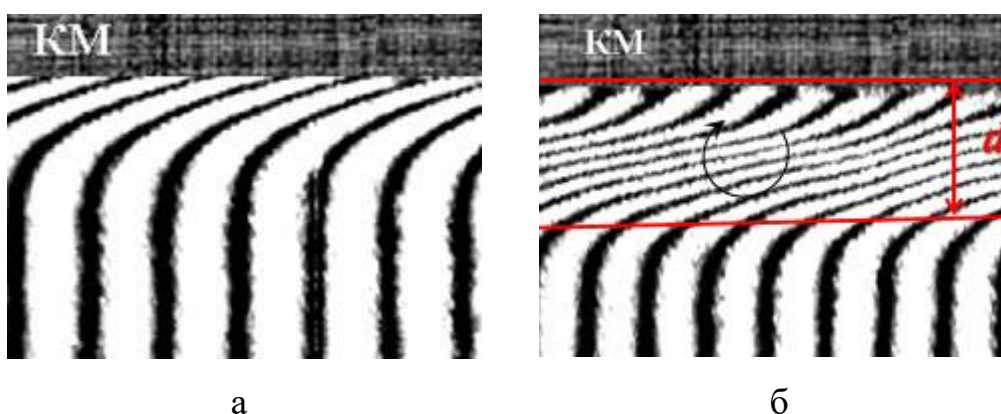


Рис. 2.10. Интерферограммы раствора на границе с катионообменной мембраной при устойчивой стратификации системы и стационарном (а) и нестационарном (б) характере концентрационного профиля.

На рис. 2.10 представлены интерферограммы, иллюстрирующие стабильные и нестабильные концентрационные профили на межфазной границе мембрана-раствор. Размер области электроконвективной нестабильности d , характеризующий степень развития электроконвекции в электромембранной системе, определялся как расстояние от поверхности мембраны до точки в растворе, на котором интерференционная полоса и, соответственно, концентрационный профиль имели нестационарный, колебательный характер (рис. 2.10б).

2.6. Спектроскопический анализ шумов в электромембранных системах.

На информацию о качественном и количественном составе сильно влияет шум, который всегда присутствует в инструментальных сигналах. На выходе аналитического прибора эффект шума объясняется колебаниями аналитического сигнала и/или базовой линии. Часто бывает трудно отличить сигнал от шума. Источники шума в основном можно охарактеризовать как физические источники и источники окружающей среды. Различные типы шума можно различить по их происхождению и спектрам мощности. Наиболее распространенными типами шума являются тепловой шум (шум Джонсона - Найквиста), дробовой шум и фликкер-шум ($1/f$ шум). Простейшая классификация различных последовательностей шума основана на спектральной плотности или спектре мощности шума [144].

Распространенным типом коррелированного шума, который широко наблюдается в аналитических системах, является так называемый «розовый шум», также известный как фликкер-шум источника или $1/f$ -шум [145, 146]. Название $1/f$ -шум происходит из-за его характеристик в области Фурье, где мощность спадает пропорционально обратной частоте. Поведение шума $1/f$ связано с частотой в области Фурье, подразумевая, что исходный сигнал находился во временной области, но можно наблюдать в другой области (например, на длине волны). В то время как преобразование Фурье белого шума демонстрирует плоский спектр мощности, спектр мощности розового

шума затухает до более низких значений на высоких частотах. На практике это означает, что компоненты ошибки сосредоточены на более низких частотах, что приводит к коррелированным ошибкам на больших расстояниях. Это особенно неприятно для химических сигналов, поскольку эти сигналы обычно находятся в той же частотной области, что и шум.

Для интерпретации явлений переноса при интенсивных токовых режимах использовались Фурье- и Вейвлет-анализ временных рядов флуктуаций измеряемых оптических характеристик электромембранных систем, что способствовало более глубокому пониманию протекающих процессов.

Фурье-анализ временных рядов. Расчет преобразования Фурье производился с использованием системы компьютерной математики MATLAB 6.5 (рис. 2.11).

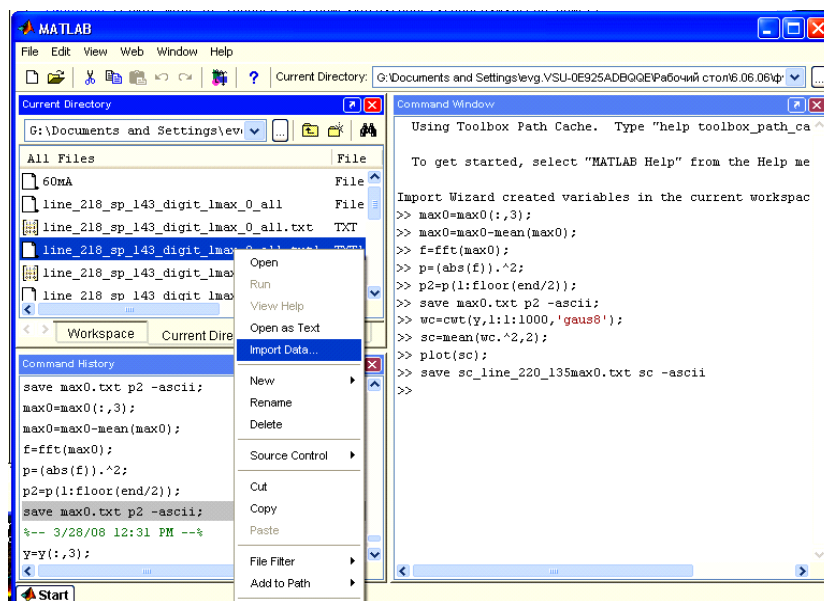


Рис. 2.11. Главное окно программного пакета MATLAB 6.5.

Алгоритм расчета включал следующие этапы:

- 1) Файл в текстовом формате, содержащий изучаемые временные ряды флуктуаций интерференционной полосы импортировался при помощи пункта всплывающего меню ImportData. Меню появлялось при щелчке правой кнопки мыши на требуемом файле в окне CurrentDirectory.

- 2) Если исходный файл содержал несколько временных рядов, требуемый временной ряд записывался в отдельную переменную командой $имя1=имя2(:,M)$, которая означала, что в переменную *имя1* необходимо было записать все элементы из переменной *имя2*, находящиеся в столбце *N* (диапазон элементов, к которым применяли некоторое действие задавался при помощи команды '*нижний предел: шаг: верхний предел*'); когда операцию необходимо было применить ко всем элементам, использовалась упрощенная запись ':'). Команды в MATLAB вводились в окно CommandWindow. Ранее выполненные команды могли быть также запущены на выполнение из окна CommandHistory. В окне CommandWindow выбор ранее введенных команд осуществлялся клавишами «↑» и «↓».
- 3) Вычитание среднего значения из анализируемого временного ряда для уменьшения влияния граничных эффектов осуществлялось при помощи команды $имя1=имя1-mean(имя1)$, где функция *mean(имя1)* вычисляла среднее значение временного ряда, содержащегося в переменной *имя1*. Операция “-” применялась ко всем элементам временного ряда *имя1*.
- 4) Вычисление преобразования Фурье проводилось при помощи команды $имя3=fft(имя1)$, где функция *fft* осуществляла расчет с использованием алгоритма быстрого преобразования Фурье.
- 5) Вычисление Фурье-спектра мощности проводилось командой $имя4=(abs(имя3)).^2$, где функция *abs* возвращала модуль комплексного числа, операция *.^2* означало возведение в квадрат всех элементов соответствующей переменной.
- 6) Результат сохраняли в текстовый файл командой *save имя_файла имя4-ascii*, где параметр *-ascii* означал, что данные необходимо было сохранить в текстовом формате.

После выполнения расчетов Фурье-преобразования производилось определение основных спектральных характеристик измеряемых флуктуаций интерференционной полосы (рис. 2.12).

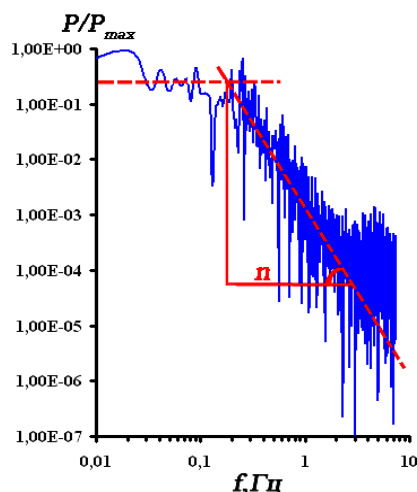


Рис. 2.12. Определение параметра n по Фурье-спектру мощности колебаний интерференционных полос.

Определялись наклоны участков спектра, имеющих линейный характер в двойных логарифмических координатах. Полученные спектры имели вид, описываемый характерной «фликкер-шумовой» зависимостью:

$$P(f) = P(0) \frac{1}{1 + (2\pi T_0 f)^n}, \quad (2.15)$$

где P – спектральная плотность шума; f , Гц – частота; n – феноменологический параметр, который определялся как тангенс угла наклона высокочастотного участка спектра.

Вейвлет-анализ временных рядов. Расширить возможности обработки сложных сигналов позволяет совершенствование старых (Фурье-анализ) и развитие новых (Вейвлетанализ) методов спектрального анализа. В Фурье-анализе сигнал проецируется в частотную область с использованием синусоид в качестве базовых функций. В частотной области базовые функции локализованы, но при преобразовании во временную область функции распространяются глобально вдоль оси времени. Напротив, Вейвлет-преобразование использует базисные функции, которые локализованы как в частотной, так и во временной областях [147]. Результатом вейвлет-преобразования одномерного ряда является двумерный массив амплитуд вейвлет-преобразования — значений коэффициентов $W(a, b)$. Распределение

этих значений в пространстве (a, b) = (временной масштаб, временная локализация) дает информацию об эволюции относительного вклада компонент разного масштаба во времени и называется спектром коэффициентов вейвлет-преобразования, (частотно-) масштабно-временным спектром или вейвлет-спектром. Пример картины распределения коэффициентов $W(a, b)$ (вейвлет-преобразования) сигнала флуктуаций интерференционных полос в растворе хлорида натрия на границе с мембраной СМН при плотности тока 1.36 mA/cm^2 представлен на рис.2.13.

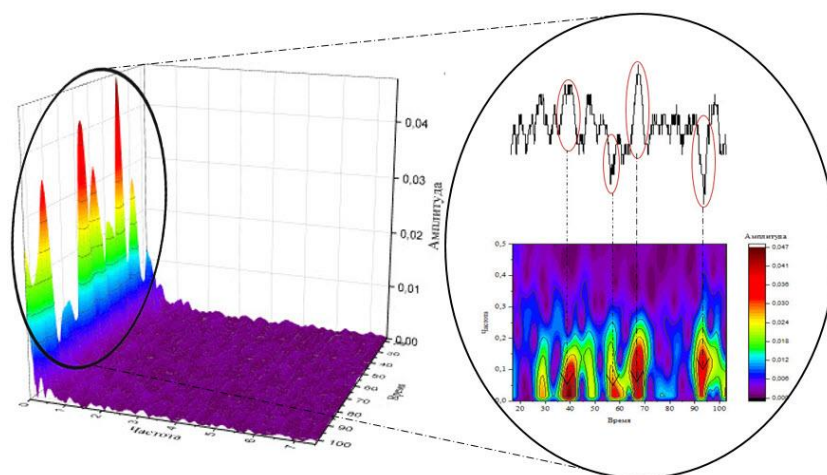


Рис. 2.13. Пример вейвлет-преобразования сигнала флуктуаций интерференционных полос в растворе $C_0(\text{NaCl})=0.01 \text{ M}$ на границе с мембраной СМН ($\omega=70\%$) при плотности тока 1.36 mA/cm^2 .

Вейвлет-преобразования в аналитической химии используются в различных областях применения, то есть для удаления шума и сглаживания, сжатия данных, коррекции базовой линии в хроматографии, определение количества компонентов в перекрывающейся хроматографии и многие другие [147]. Полезность Вейвлет-преобразования для снижения шума в значительной степени зависит от разложения сигнала на последовательные уровни высокочастотных и низкочастотных компонентов.

Вейвлет-преобразование осуществляли с помощью программного комплекса Wavelet Toolbox (Complex Continuous Wavelet 1-D), входящего в систему MATLAB 6.5.

Алгоритм расчета включал следующие этапы:

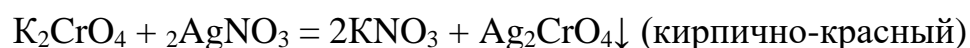
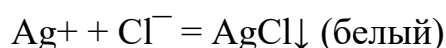
- 1) Выполнение п.1-3, рассмотренных выше для Фурье-анализа.
- 2) Вычисление вейвлет-коэффициентов при помощи команды $wc=cwt(имя1,1:1:1000,'gaus8')$, где базисная функция *gaus8* задаётся уравнением $\psi_8(t) = \partial_t^8 \left[\exp\left(-\frac{t^2}{2}\right) \right]$. Выбор базиса осуществляется в зависимости от вида исходного сигнала.
- 3) Возведение в квадрат полученных вейвлет-коэффициентов (операция $.^2$).
- 4) Построение скалограммы ($plot(sc)$).
- 5) Сохраняем результат в текстовый файл командой $save имя_файла wc -ascii$, где параметр *-ascii* означает, что данные необходимо сохранить в текстовом формате.

С использованием скалограмм определялись характерные частоты по положению максимумов или точек перегиба на вейвлетном спектре энергии.

2.7. Методы компонентного анализа растворов.

2.7.1. Аргентометрическое определение концентрации хлорид-ионов.

Определение хлорид-ионов в растворе методом Мора основано на прямом титровании раствора стандартным раствором $AgNO_3$ [148]. В методе Мора определение конечной точки основано на образовании второго окрашенного осадка. В качестве индикатора используется хромат калия, а второй образующийся осадок представляет собой хромат серебра кирпично-красного цвета Ag_2CrO_4 . При добавлении $AgNO_3$ к титранту (содержащему хлорид-ионы и хромат калия) образуются два осадка. Это $AgCl$ и Ag_2CrO_4 соответственно:



Хромат серебра, обладающий большей растворимостью, остается в растворе, тогда как хлорид серебра выпадает в осадок. В конечной точке

избыток ионов серебра образует осадок хромата серебра, который придает отчетливую окраску раствору, обозначая тем самым конечную точку.

Титрование проводят при рН от 6.5 до 10. Это связано с тем, что в кислом растворе хромат-ион превращается в хромовую кислоту, и концентрация хромат-иона становится довольно низкой. Недостаточно осадить ионы серебра в виде хромата серебра. С другой стороны, при рН >10 образуется коричневый осадок оксида серебра.

2.7.2. Ионометрия.

Определение рН растворов проводили с использованием лабораторного иономера И-160МИ производства ООО «Измерительная техника» (Москва) с комбинированным стеклянным электродом марки ЭС-10603. Иономер И-160МИ предназначен для прямого и косвенного потенциометрического измерения активности ионов водорода (диапазон рН от 0 до 14.000 с дискретностью 0.001) в водных растворах с автоматической компенсацией температурной зависимости электродной системы. Погрешность измерения рН ± 0.03 .

2.8. Визуализация и характеристика поверхности мембран методом растровой электронной микроскопии.

Исследования морфологии поверхности мембран проводили методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с применением микроскопа марки JSM-6380 LV (Япония). В камере с исследуемым образцом было регулируемое давление, что позволило исследовать в низковакуумном режиме мембраны в рабочем (набухшем) состоянии [149]. Электронно-микроскопическая съемка образцов проводилась в низковакуумном режиме с использованием отраженных электронов при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Микрофотографии поверхности экспериментальных гетерогенных катионообменных мембран СМН с разным соотношением ионообменника и полиэтилена представлены на рис. 2.14.

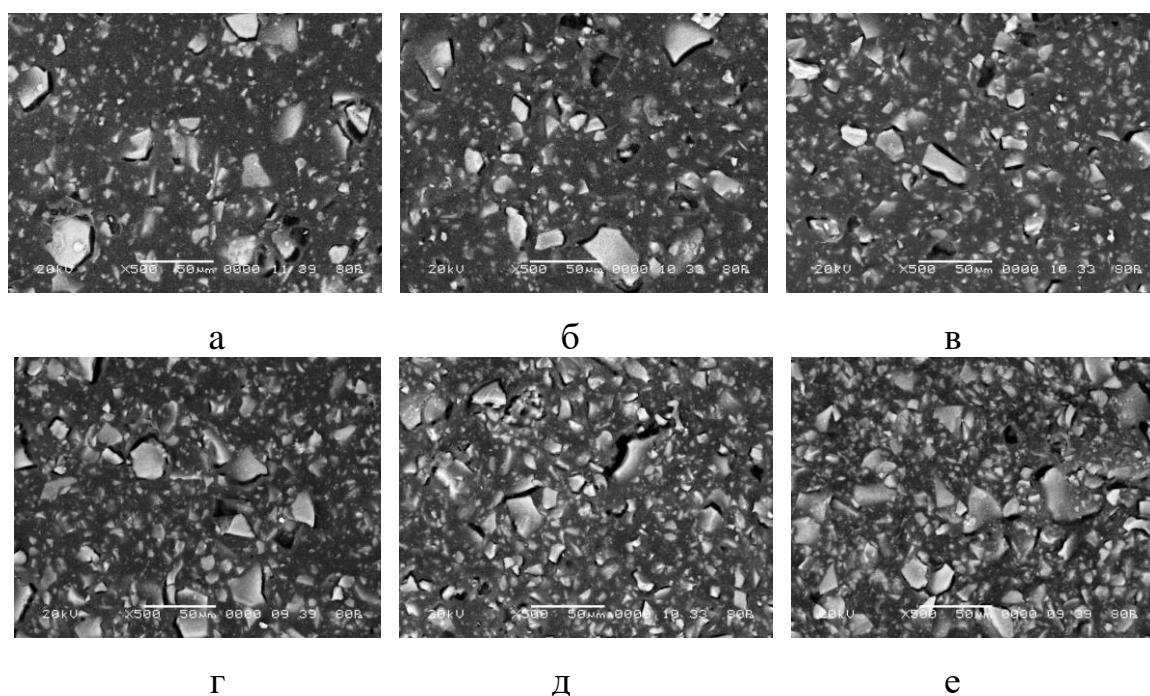


Рис. 2.14. РЭМ-изображения поверхности набухших образцов сульфокатионообменных мембран СМН при увеличении 500. Массовая доля ионообменника: 45 (а), 50 (б), 55 (в), 60 (г), 65 (д) и 70 (е) %.

Участкам ионообменника, ионогенные группы которого содержат атомы серы, кислорода, натрия отвечают области светло-серого цвета. Полиэтилену, в составе которого атомы углерода, соответствует темно-серый цвет. Темная граница между ними свидетельствует о наличии поры или дефекта структуры.

Программное обеспечение. Количественная оценка доли ионообменного материала и пористости на поверхности мембран проводилась с помощью авторского программного комплекса, предложенного в [150]. Программный комплекс представляет собой приложение, разработанное на языке Delphi [150]. Для оценки относительной доли микрофаз на поверхности мембраны использован метод выращивания областей. Главное окно с основными пунктами меню представлено на рис. 2.15.

Долю ионообменника на поверхности гетерогенных мембран определяли по формуле:

$$S = (\sum S_i / S) \cdot 100\%, \quad (2.16)$$

где ΣS_i – суммарная площадь ионообменных участков, S – площадь сканируемого участка. Под радиусом ионообменного участка R понимали эффективный радиус моделируемого программой участка круглой формы по площади эквивалентного реальной площади ионообменника произвольной формы.

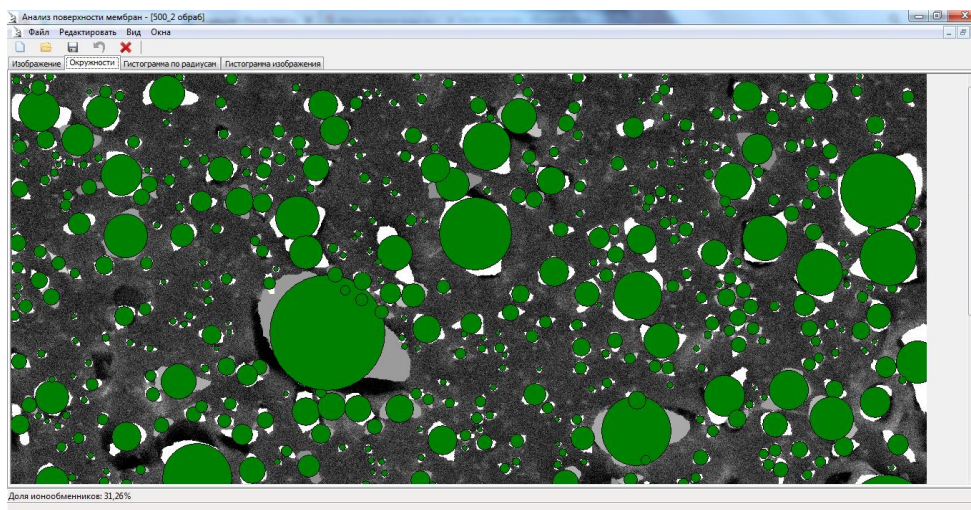


Рис. 2.15. Главное окно с основными пунктами меню авторской программы.

При вычислении среднего радиуса ионообменника брали средневзвешенное значение [149], учитывающее различную долю участков с отличающимися размерами:

$$\bar{R} = \frac{\sum_{i=1}^n R_i N_i}{\sum_{i=1}^n N_i}, \quad (2.17)$$

где R_i – значение радиуса i -го размера, N_i – количество участков ионообменника одного размера, n – суммарное число дискретных значений R .

Долю P и средневзвешенное значение радиуса пор \bar{r} на поверхности мембран рассчитывали аналогичным образом. Под понятием «пора» принималось пространство между ионообменником и инертным связующим (полиэтиленом). В качестве пор были учтены также трещины на полиэтилене, которые образовались в результате деструкции полимеров при изготовлении мембран, в связи с тем, что они могут иметь сквозной характер.

2.9. Метрологические характеристики эксперимента.

Обработка результатов измерений проводилась методами математической статистики [142]. Величины средних результатов измерений \bar{x} , дисперсии S^2 и стандартные отклонения $s_{\bar{x}}$ и s_r находили с использованием приемов статистики малых выборок. Величину доверительного интервала средних результатов измерений Δx находили с использованием t -критерия (коэффициент Стьюдента) для уровня значимости $\alpha = 1 - P$ при доверительной вероятности $P = 0.95$.

При измерении *физико-химических характеристик* мембран число выполненных повторных определений составляло не менее трех. Относительное стандартное отклонение при определении полной обменной емкости находилось в диапазоне 0.05-0.07, влагосодержания – от 0.03 до 0.05, толщины мембран – от 0.04 до 0.06. Снятие *вольтамперных кривых* также проводили не менее трех раз. Относительное стандартное отклонение определения вольтамперных характеристик находится в диапазоне от 0.03 до 0.05.

При определении *характеристик поверхности* гетерогенных ионообменных мембран с использованием метода сканирующей электронной микроскопии различные части поверхности каждого образца мембраны сканировали 8-10 раз. Обработку каждой фотографии производили 2-3 раза.

ГЛАВА 3. СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И ХЛОРИДА НАТРИЯ В СМЕШАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

3.1. Спектрофотометрическое определение фенилаланина в водных растворах разной кислотности

Распространенным методом исследования и количественного определения ароматических и гетероциклических аминокислот является спектрофотометрический метод по характеристическим длинам волн индивидуальных аминокислот [114-118]. Достоинствами данного метода служат высокая чувствительность, экспрессность, незначительное количество исследуемого вещества и его сохранение в процессе анализа. Чувствительный спектрофотометрический метод целесообразно применять при анализе аминокислот, когда содержание определяемого компонента не превышает 1%.

Особая структура сольватированной аминокислоты очень чувствительна к показателю рН среды, влияющему на биологическую активность [151]. Поэтому важнейшими характеристиками, влияющими на спектрофотометрическое определение аминокислот в водном растворе, являются рН раствора, концентрация и время установления равновесия при растворении амфолита [118, 152, 153]. Диапазон величин $6 < \text{pH} < 11$ оптимален для разделения и выделения ароматических и гетероциклических аминокислот сорбционными и мембранными методами [154]. Поэтому большой интерес представляет разработка и применение методик спектрофотометрического определения аминокислот в нейтральных и щелочных растворах [114, 117]. Однако, в большинстве методик спектрофотометрического определения ароматических аминокислот [116, 118] содержатся упоминания и приводятся не систематизированные экспериментальные данные о влиянии кислотности растворов на результаты определения. Общим недостатком является отсутствие конкретных рекомендаций по выбору рабочей длины волны и анализа погрешностей, возникающих при варьировании рН анализируемых

растворов, не указаны возможности минимизации ошибок. В различных вариантах метода ультрафиолетовой спектрофотометрии аминокислот для построения градуировочных зависимостей обычно применяют модельные водные растворы при нейтральных значениях рН, что требует предварительной пробоподготовки анализируемых объектов.

Поэтому при выполнении исследований возникла необходимость оптимизации условий спектрофотометрического определения концентрации ароматической аминокислоты фенилаланина в водных растворах различной кислотности. В результате была предложен оригинальный способ спектрофотометрического определения концентрации фенилаланина в растворах различной кислотности.

Спектр поглощения и абсорбционность A фенилаланина в растворах измеряли с помощью спектрофотометра СФ–2000 (Россия). Измерения проводили в интервале длин волн 200–400 нм в кварцевой кювете толщиной 1 см. Для контроля за величиной рН использовали лабораторной иономер И-160МИ (Россия) со стеклянным электродом.

Для построения градуировочных графиков использовались растворы в диапазоне концентраций $(0.05–5.0) \times 10^{-3}$ М, приготовленные растворением точной навески аминокислоты в дистиллированной воде. Для изучения влияния рН на спектр поглощения фенилаланина использован модельный раствор аминокислоты с концентрацией 2.0×10^{-3} М. Стабильность во времени свежеприготовленных растворов аминокислоты контролировали измерением через определенные промежутки времени абсорбционности растворов концентрации 3.0×10^{-3} М при разных рН и длинах волн, температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Влияние рН на спектр поглощения водных растворов фенилаланина. Спектр поглощения фенилаланина в ультрафиолетовой области обусловлен системой делокализованных π -электронов хромофора бензольного кольца. Система полос поглощения в ближней ультрафиолетовой области возникает вследствие одного π – π^* перехода с хорошо разрешенной колебательной структуры [118, 151]. Максимальное значение абсорбционности и более

широкая полоса поглощения в нейтральных растворах фенилаланина соответствует длине волны $\lambda_{max} = 259$ нм (рис. 3.1).

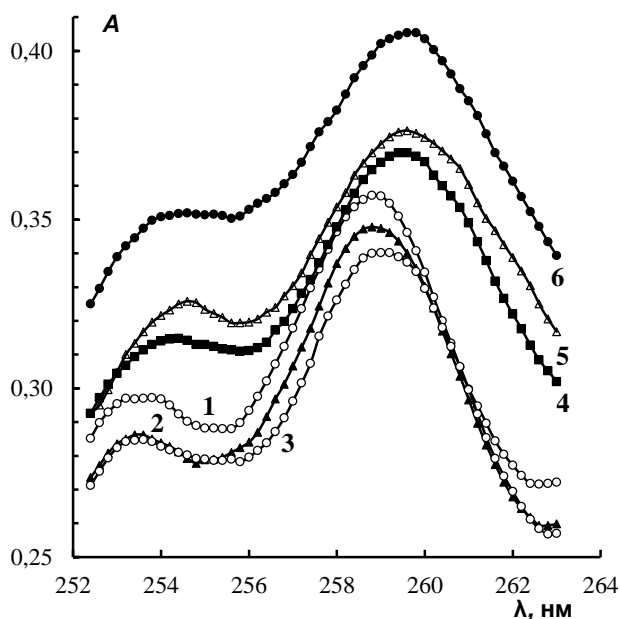


Рис. 3.1. Зависимость положения и интенсивности полос поглощения от рН раствора фенилаланина концентрации 2.0×10^{-3} М. Значения рН: 0.5 (1), 2.0 (2), 6.8 (3), 10.0 (4), 11.3 (5), 13.0 (6).

Перераспределение содержания ионных форм фенилаланина при изменении величины рН водного раствора проявляется в спектральных характеристиках. Установлено, что спектры поглощения растворов фенилаланина при различной кислотности представляют собой серию кривых, отличающихся как высотой, так и положением максимумов поглощения (рис. 3.1). Сравнительный анализ распределения содержания ионных форм фенилаланина и зависимости максимума полосы поглощения λ_{max} от значений величины рН в водном растворе представлен на рис. 3.2. Концентрации различных ионных форм фенилаланина в водном растворе с различными рН рассчитывали с использованием уравнений материального баланса и соответствующих констант диссоциации [155]. Установлен длинноволновый (батохромный) сдвиг при переходе от положительного к отрицательному заряду молекулы фенилаланина с ростом величины рН раствора. Выявлены три диапазона рН, в которых изменение кислотности растворов не вызывает спектральных изменений. Это области преимущественного нахождения

аминокислоты в катионной Phe^+ ($\text{pH} < 2$), биполярной Phe^\pm ($4 < \text{pH} < 8$) и анионной Phe^- ($\text{pH} > 10$) формах. Депротонизация карбоксильной группы при переходе от катионной к биполярной форме нахождения фенилаланина в растворе вызывает bathochromный сдвиг $\Delta\lambda_{\text{max}}(\text{COOH})$ на 0.2 нм. Более значительное изменение в спектре поглощения фенилаланина установлено при депротонизации аминогруппы и образовании анионной формы аминокислоты. Диссоциация аминогруппы приводит к уширению максимума поглощения со сдвигом в длинноволновую область $\Delta\lambda_{\text{max}}(\text{NH}_3^+)$ на 0.6 нм по сравнению с длиной волны максимального поглощения биполярной формы фенилаланина. Относительная величина эффекта депротонизации амино- и карбоксильной групп на величину сдвига длины волны максимального поглощения $\Delta\lambda_{\text{max}}(\text{NH}_3^+)/\Delta\lambda_{\text{max}}(\text{COOH})$ составляет 3.0.

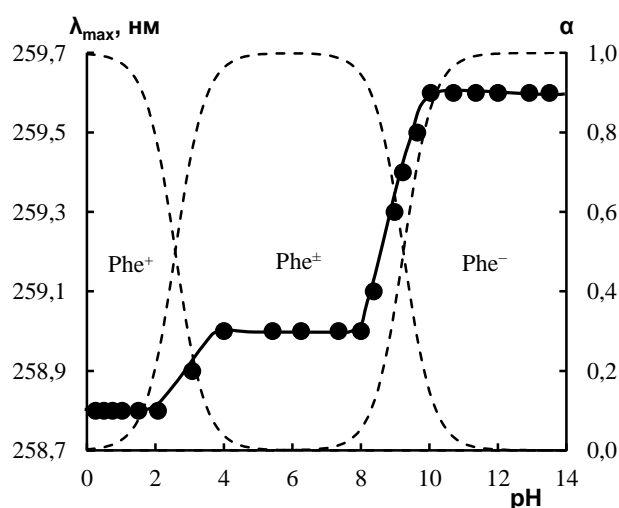


Рис. 3.2. Зависимость максимума полосы поглощения λ_{max} и распределения ионных форм фенилаланина (штриховая линия) от значения pH раствора при концентрации аминокислоты $C(\text{Phe}) = 2.0 \times 10^{-3}$ М.

Известно, что спектральные изменения вследствие внутримолекулярных взаимодействий при ионизации амино- и карбоксильной групп аминокислот не являются результатом прямого влияния заряда на дипольный момент перехода [118]. Так как электронные спектры молекулы характеризует изменение электронного распределения, то влияние на спектральные характеристики фенилаланина определяется индуктивным эффектом и эффектом сопряжения. Вероятной причиной является

индуктивный эффект увеличения электронной плотности на хромофорной группе. Индуктивное влияние заряда на бензилхромофор осуществляется через α -углеродный атом, с которым связаны и карбоксильная, и аминогруппа.

Спектральные изменения являются также следствием универсальных (ван-дер-ваальсовых) и специфических (донорно-акцепторных) межмолекулярных взаимодействий в растворах аминокислоты. В работах [156, 157] доказано образование в растворах фенилаланина ассоциатов за счет водородных и дисперсионных связей, а также межплоскостного взаимодействия (стэкинг-эффект) ароматических колец. В результате этих взаимодействий изменяются реологические и, соответственно, спектральные свойства растворов органических веществ [157]. Процессы межчастичных взаимодействий, обусловленные особенностями строения ароматической аминокислоты, более интенсивно протекают в кислых и щелочных средах [158]. По мнению авторов [159], объяснение длинноволнового сдвига следует также искать в увеличении степени самоассоциации воды под воздействием неполярных групп аминокислот.

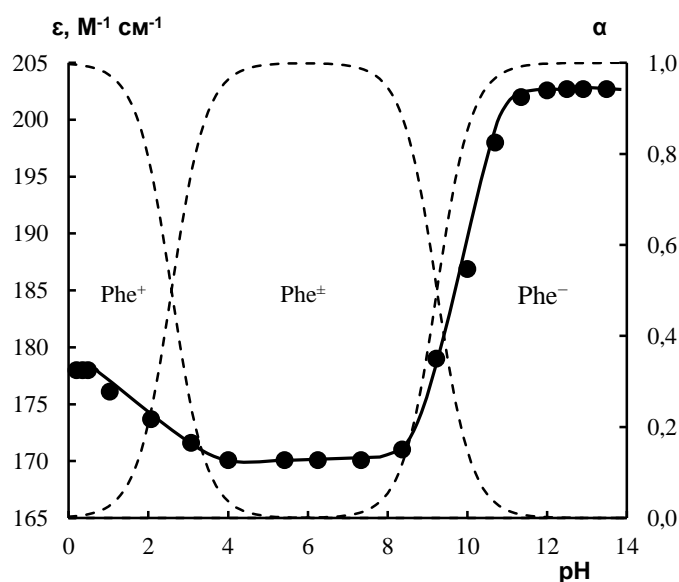
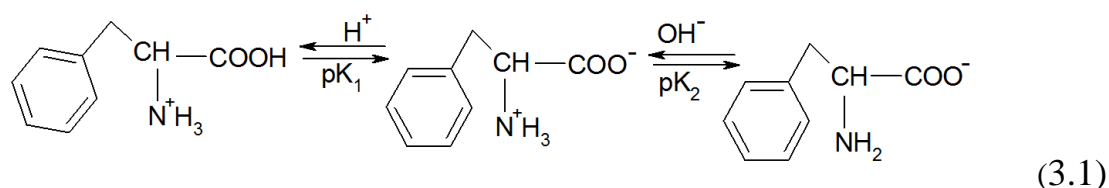


Рис. 3.3. Влияние кислотности раствора на молярный коэффициент поглощения и распределение ионных форм фенилаланина (штриховая линия) при концентрации $C(\text{Phe}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ и длине волны $\lambda_{\text{max}} = 259 \text{ nm}$, отвечающей максимуму полосы поглощения биполярной формы аминокислоты.

Кислотность среды определяет не только спектральный сдвиг, но и изменение интенсивности спектра поглощения в растворах фенилаланина. На рис. 3.3 представлена зависимость молярного коэффициента поглощения от показателя рН водного раствора фенилаланина при длине волны 259 нм, соответствующей максимальному поглощению биполярной формы аминокислоты.

В сильнокислых растворах при $\text{pH} < 0,5$ фенилаланин практически полностью находится в форме катиона Phe^+ и характеризуется постоянным значением $\epsilon(\text{Phe}^+) = 178.0 \pm 1.7 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Непостоянство величины ϵ по мере дальнейшего роста рН свидетельствует о том, что в условиях варьирования $2.0 < \text{pH} < 4.0$ основной закон светопоглощения в растворах аминокислоты не соблюдается. Причина связана со смещением химического равновесия по реакции:



Увеличивается степень ионизации карбоксильной группы и в растворе нарастает концентрация биполярного иона Phe^\pm . Раствор в своем составе содержит в равновесии смесь катионной и биполярной форм фенилаланина, поэтому характеризуется различными величинами ϵ_{pH} в зависимости от их соотношения. С ростом рН вклад молярного коэффициента поглощения катионов $\epsilon(\text{Phe}^+)$ в суммарное поглощение аминокислоты уменьшается и достигает минимума, когда фенилаланин полностью переходит в биполярную форму. При дальнейшем возрастании рН значению молярного коэффициента поглощения (рис. 3.3) соответствует горизонтальный прямолинейный участок постоянной величины $\epsilon(\text{Phe}^\pm) = 170.0 \pm 0.8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ вследствие постоянства концентрации биполярной формы аминокислоты. Участок крутого подъема кривой зависимости ϵ_{pH} в диапазоне $8 < \text{pH} < 11$ отвечает области возрастания содержания в растворе анионной формы фенилаланина Phe^- . В области

высоких рН горизонтальный участок $\epsilon(\text{Phe}^-) = 202.1 \pm 1.3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ соответствует нахождению аминокислоты практически полностью в анионной форме. Анализ представленных на рис. 3.3 результатов показал, что максимальная величина молярного коэффициента поглощения падает в ряду $\epsilon(\text{Phe}^-) > \epsilon(\text{Phe}^+) > \epsilon(\text{Phe}^\pm)$. При этом величина эффекта депротонизации аминогруппы на величину молярного коэффициента поглощения в четыре раза больше по сравнению с депротонизацией карбоксильной группы. Полученный результат согласуется с величинами, установленными экспериментально в работе [160] для ароматических аминокислот.

Определение времени установления равновесия после растворения фенилаланина при разных рН показано на рис. 3.4. В области нейтральных значений рН равновесие устанавливается в течение 4 ч с момента приготовления раствора.

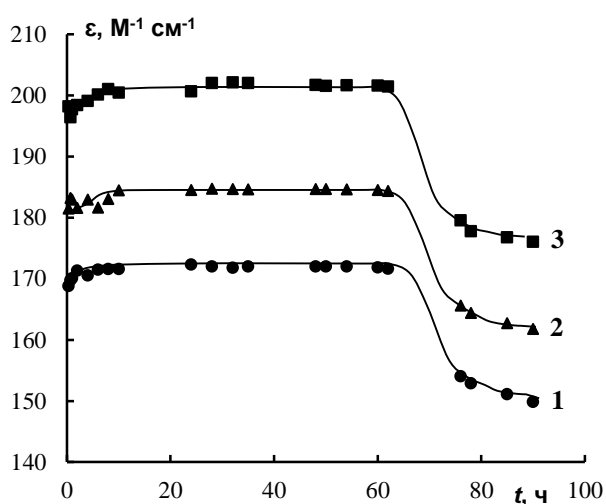


Рис. 3.4. Кинетические зависимости молярного коэффициента поглощения свежеприготовленных растворов фенилаланина концентрации $C(\text{Phe}) = 3.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ при рН 6.8 (1), 0.5 (2), 13.0 (3) и длинах волн 259.0 (1), 258.8 (2), 259.6 (3) нм.

В сильноокислых и сильнощелочных средах установление равновесия во времени наблюдается спустя 9 – 10 часов. Следует отметить, что увеличение молярного коэффициента поглощения свежеприготовленных растворов фенилаланина не превышает удвоенную минимальную величину 1.76 %

относительной погрешности спектрофотометрических измерений абсорбционности. Хранение раствора более пяти суток вызывает значительное уменьшение молярного коэффициента поглощения. Поэтому наиболее целесообразно измерения абсорбционности проводить не позднее установленного времени.

Выбор аналитической длины волны. Если молекулярная и ионизированная формы вещества имеют различные спектральные характеристики, то определение его аналитической концентрации в растворах с различной или неизвестной кислотностью обычно проводят при длине волны изобестической точки $\lambda_{ит}$ [161]. Установление величины $\lambda_{ит}$ представляет трудоемкую задачу, так как требует постоянства величин температуры и ионной силы растворов. Согласно протолитическому равновесию (3.1) растворы фенилаланина с разным рН характеризуются двумя изобестическими точками в кислой и щелочной среде соответственно. Нахождение их положения затруднено тем, что наблюдаемые в эксперименте эффекты в спектрах поглощения малы по абсолютной величине (рис. 3.1).

Полученные нами экспериментальные данные по исследованию влияния кислотности растворов на максимум полосы поглощения фенилаланина представлены на рис. 3.2 и в таблице 3.1. Установлена общая тенденция роста величины λ_{max} с увеличением рН растворов аминокислоты. Выявлены области чувствительности спектров поглощения фенилаланина к изменению рН в кислой ($2.0 < \text{pH} < 4.0$) и щелочной ($8.0 < \text{pH} < 10.0$) областях, что связано с ионизацией amino- и карбоксильной групп. Установлена линейная корреляция между длиной волны максимума поглощения λ_{max} и величиной рН для растворов, содержащих различные соотношения биполярной и ионизированных форм фенилаланина. Полученные уравнения регрессии (таблица 3.1) позволяют определить аналитическую длину волны λ_{max} , соответствующую максимуму спектра поглощения фенилаланина, при любой произвольной величине рН раствора. Это дает возможность повышения правильности и чувствительности проведения прямых

спектрофотометрических определений концентрации фенилаланина в водных растворах.

Таблица 3.1. Параметры линейной регрессии $\lambda_{max} = a + b \cdot \text{pH}$ в растворах фенилаланина при различных значениях pH

Значение pH раствора	$a \pm \Delta a$, нм	$b \pm \Delta b$, нм	$r > r_{табл.} (P, f=n-2)$
0.2 – 2.0	258.80 ± 0.01	0	–
2.0 – 4.0	258.58 ± 0.08	0.10 ± 0.03	$0.999 > 0.997 (0.95, 1)$
4.0 – 8.0	259.00 ± 0.03	0	–
8.0 – 10.0	256.58 ± 0.26	0.30 ± 0.03	$0.996 > 0.811 (0.95, 4)$
10.0 – 13.5	259.60 ± 0.02	0	–

Выбор уравнения градуировочной зависимости. Установлено, что зависимость абсорбции от концентрации фенилаланина согласуется с линейным характером закона светопоглощения в растворах с показателями pH, соответствующими преимущественному содержанию одной из форм Phe^+ , Phe^\pm , Phe^- . Метрологические характеристики градуировочных зависимостей при длинах волн, отвечающих максимуму полосы поглощения, представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2. Влияние кислотности среды на параметры градуировочной зависимости спектрофотометрического определения фенилаланина ($P=0.95$, $n=6$)

pH раствора	λ_{max} , нм	Уравнение градуировочной зависимости	r	ДОС, 10^{-3} М	C_{min} , 10^{-5} М
0.2 – 0.5	258.8	$A = (178.0 \pm 1.7) C(\text{Phe}^+)$	0.999	0.56 – 5.10	1.5
4.0 – 8.0	259.0	$A = (170.0 \pm 0.8) C(\text{Phe}^\pm)$	0.999	0.59 – 5.30	1.6
11.0 – 13.5	259.6	$A = (202.1 \pm 1.3) C(\text{Phe}^-)$	0.999	0.49 – 4.50	1.4

Примечания: здесь и далее r – коэффициент корреляции градуировочной зависимости; ДОС – диапазон определяемых содержаний; C_{min} – предел обнаружения, рассчитанный по $3s$ – критерию.

Результаты оценки значимости различия тангенсов углов наклона градуировочных кривых, определяющих чувствительность метода при

соблюдении основного закона светопоглощения, выявили их статистически значимый характер (таблица 3.3).

Таблица 3.3. Результаты статистической оценки значимости различия молярных коэффициентов поглощения в растворах различной кислотности ($P=0.95$, $n=14$)

рН раствора	ε , $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$S_g^2, 10^{-5}$, cm^{-1}	S_d^2 , $M^{-2} \text{ cm}^{-1}$	$t_{\text{экс}}$
0.2 – 0.5	178.0 ± 1.7	2.89	1.64	7.11
11.0 – 13.5	202.1 ± 1.3	1.28	0.72	31.80

Примечание: Результаты получены по сравнению с $\varepsilon = 170.0 \pm 0.8 M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ при рН = 4.0 – 8.0. S_g^2 – общая дисперсия; S_d^2 – дисперсия разности молярных коэффициентов поглощения. Теоретическое значение $t_{\text{табл}} = 2.18$ ($P = 0.95$, $n = 14$)

Установлено значительное превышение рассчитанной по экспериментальным данным величины коэффициента Стьюдента $t_{\text{экс}}$ над табличным значением $t_{\text{табл}}$ [162] в сильноокислой и сильнощелочной средах по сравнению с нейтральной. Показано, что при определении концентрации аминокислоты в растворах, содержащих ионизированные формы Phe^+ и Phe^- компонента, чувствительность определения больше, чем в растворах, соответствующих ее нахождению в биполярной форме Phe^\pm . Наименьший предел обнаружения C_{min} установлен при проведении анализа в щелочной среде. Установлено, что зависимость абсорбции от концентрации фенилаланина имела линейный характер во всем диапазоне концентраций градуировочных растворов. Оптимальный диапазон определяемых содержаний указан для интервала $0.12 \leq A \leq 0.9$, как соответствующего минимальной систематической ошибке спектрофотометрического анализа [158].

В диапазонах $0.5 < \text{pH} < 4.0$ и $8.0 < \text{pH} < 11.0$ доказана линейная корреляция между значением рН раствора и величиной молярного коэффициента поглощения аминокислоты (рис. 3.3). Коэффициенты соответствующих уравнений регрессии в широком диапазоне рН приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4. Оценка линейной корреляции $\varepsilon = a + b \cdot \text{pH}$ между молярным коэффициентом поглощения ε и pH водных растворов фенилаланина ($P=0.95$, $n=5$)

pH	Параметры		
	$a \pm \Delta a, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$b \pm \Delta b, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	r
0.2 – 0.5	178.0 ± 1.7	0	–
0.5 – 4.0	178.6 ± 1.5	-2.2 ± 0.6	0.996
4.0 – 8.0	170.0 ± 0.8	0	–
8.0 – 11.0	83.3 ± 1.4	10.4 ± 0.2	0.997
11.0 – 13.5	202.1 ± 1.3	0	–

Полученные экспериментальные данные позволили выявить условия выполнения спектрофотометрического определения концентрации фенилаланина в растворах произвольной кислотности с учетом влияния pH на величины аналитической длины волны и молярного коэффициента поглощения. По сравнению с известными методиками абсорбционной молекулярной спектроскопии предложенный подход позволяет достоверно определять концентрацию фенилаланина в широком диапазоне величин pH водных растворов.

3.2. Определение натрия в разбавленных смешанных растворах с фенилаланином атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени.

Пламенная фотометрия является одним из основных методов определения щелочных и щелочноземельных металлов в растворах. Достоинствами метода являются экспрессность; высокие селективность и точность (2–4%); высокая чувствительность (C_{\min} – до 10^{-7}) [163]. Недостатком пламенно-фотометрического метода является вероятность значительного наложения друг на друга соседних линий спектра, принадлежащих разным химическим элементам. Этот эффект приводит к влиянию на результаты определения концентрации определяемого элемента других элементов, находящихся в анализируемом растворе. Однако влияние помех, вызванных так называемыми инертными веществами, почти не учитывалось. Были

оценены ошибки, которые возникают в присутствии не только азотсодержащих органических (мочевина), но и неорганических (азотная кислота и хлорид аммония) веществ. Известно [164], что присутствие азотсодержащих органических веществ в растворе понижает фототок эмиссии натрия или калия. Многие органические вещества такие, как глицерин, сахара, белки и др., увеличивают вязкость; при этом снижается эффективность распыления, что ведет к понижению яркости излучения элемента в пламени [164]. Например [164], если добавить к раствору соли натрия сахарозу в концентрации 40%, результаты для натрия получаются на 40% ниже.

Установлено [164], что органический «загрязнитель» (сахароза, глюкоза, мочевина и желатин) вызывает постепенное снижение интенсивности пламени для щелочных и щелочноземельных металлов по мере увеличения концентрации загрязняющего вещества. Причиной является повышение вязкости и увеличение размера аэрозольных частиц, и, соответственно, уменьшение интенсивности пламени. Повышение вязкости вызывает снижение уровня атомизации образца, из-за этого в один и тот же промежуток времени в пламя попадает меньшее количество атомов. Это в свою очередь и приводит к уменьшению эмиссии пламени.

В связи с этим возникла необходимость исследования влияния фенилаланина на определение концентрации натрия пламенно-фотометрическим методом в области разбавленных растворов.

Концентрацию ионов натрия в растворах измеряли с помощью пламенно-фотометрического анализатора жидкостей ПАЖ-1 (Россия). Объектами исследования были разбавленные индивидуальные и смешанные модельные растворы хлорида натрия и фенилаланина. Модельные растворы аминокислоты (Sigma-Aldrich, США) и минеральной соли (ВЕКТОН, Россия) готовили из реактивов классификации «х.ч.». Концентрации хлорида натрия и фенилаланина в индивидуальных и смешанных растворах находились в диапазоне $10^{-5} - 10^{-4}$ моль/дм³. Растворы хлорида натрия готовили из

стандартного 1.0 ммоль/дм³ раствора методом разбавления. Растворы аминокислоты готовили по навеске.

По полученным данным строили градуировочные графики в области разбавленных концентраций исследуемых растворов.

Градуировочные графики в координатах показания микроамперметра (I) и молярная концентрация (C) натрия (фенилаланина) в индивидуальных и смешанных эквимольных растворах представлены на рис. 3.5.

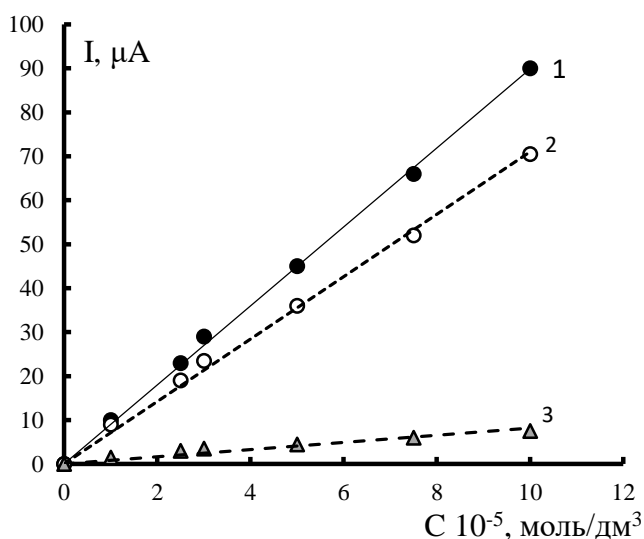


Рис. 3.5. Концентрационная зависимость аналитического отклика пламенно-фотометрического анализатора в растворах хлорида натрия (1), фенилаланина (3) и их эквимольных смесей экспериментальная (2).

Характеристики метода пламенной фотометрии при определении концентрации натрия и фенилаланина в их индивидуальных растворах представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5. Характеристики метода пламенной фотометрии при определении концентрации натрия и фенилаланина.

Характеристики	Определяемый компонент	
	Na	Phe
dI/dC , 10 ³ мкА·дм ³ /моль	900 ± 20	80 ± 10
R^2	0.998	0.920
C_{\min} , 10 ⁻⁵ моль/дм ³	0.34	4.0

dI/dC – коэффициент чувствительности метода определения; R^2 – коэффициент корреляции градуировочного графика; C_{\min} – минимально определяемая концентрация компонента.

Установлено, что в области спектра, в которой находится аналитическая линия определяемого элемента натрия, фенилаланин в индивидуальных растворах дает линейный отклик, который на порядок меньше чувствительности отклика натрия.

Анализ полученных результатов для смешанных растворов показал, что при определении концентрации натрия в смеси с аминокислотой отклик минерального компонента меньше, чем в его индивидуальных растворах. Метрологические характеристики полученных градуировочных зависимостей представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6. Корреляция сигнала пламенного фотометра и концентрации компонентов.

Компо- нент	Вид зависимости аналитического сигнала					
	$y = a + bx$			$F < F_{\text{табл.}}$	$y = bx$	
	$a \pm \Delta a,$ мкА	$(b \pm \Delta b), 10^3$ мкА·дм ³ /моль	R^2		$(b \pm \Delta b), 10^3$ мкА·дм ³ /моль	R^2
<i>NaCl</i>	0.9±0.2	890 ± 30	0.999	1.17 < 4.95	900 ± 20	0.999
<i>Phe</i>	0.8±0.1	70 ± 15	0.966	1.94 < 4.95	80 ± 10	0.921
<i>NaCl + Phe</i>	1.1±0.3	700 ± 50	0.996	2.12 < 4.95	720 ± 30	0.995

Оценка значимости величины свободного члена регрессии a с использованием критерия Фишера F ($F < F_{\text{табл.}}$) [142] показала, что все полученные градуировочные графики проходят через начало координат и соответствуют зависимости вида $y = bx$.

Статистическая оценка значимости различия характеристик градуировочных кривых для индивидуального раствора хлорида натрия и его смеси с аминокислотой проводилась с использованием распределения Стьюдента (t -распределение). Для проверки значимости разности величин коэффициентов чувствительности градуировочных графиков ($b_1 - b_2$) был рассчитан коэффициент t [142] по выражению (3.1)

$$t = \frac{|b_1 - b_2|}{S_d}, \quad (3.1)$$

где S_d - дисперсия разности величин ($b_1 - b_2$), найденная по выражению (3.2)

$$S_d^2 = S_g^2 \left[\frac{1}{\sum x_{i_1}^2} + \frac{1}{\sum x_{i_2}^2} \right], \quad (3.2)$$

где x_i – концентрация компонентов для градуировочных кривых 1 и 2.

Общая дисперсия S_g^2 была оценена по выражению (3.3)

$$S_g^2 = \frac{QS_1 + QS_2}{n_1 + n_2 - 2}, \quad (3.3)$$

где n – число вариант для градуировочных кривых. Величины QS_1 и QS_2 – рассчитаны по выражению

$$QS = \sum (y_i - Y_i)^2, \quad (3.4)$$

где y_i – экспериментальные значения показаний микроамперметра, Y_i – значения, полученные из уравнений линейной регрессии $Y_i = a + bx_i$ для градуировочных кривых 1 и 2 на рис. 3.5, соответственно.

Результаты статистической оценки значимости различия коэффициентов чувствительности (тангенсов углов наклона) градуировочных кривых для индивидуальных и смешанных с аминокислотой растворов хлорида натрия (рис. 3.5) представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7. Результаты статистической оценки значимости различия коэффициентов чувствительности градуировочных кривых в индивидуальных (NaCl) и смешанных с аминокислотой (NaCl + Phe) растворах.

Параметры	NaCl	NaCl + Phe
$b, 10^3 \text{ мкА} \cdot \text{дм}^3/\text{моль}$	900 ± 20	720 ± 30
S_g^2	1.32	
$S_d \cdot 10^3$	11.59	
$t_{\text{экс.}} > t_{\text{табл.}} (f=12, P=0.95)$	16.01 > 2.18	

Превышение рассчитанной по экспериментальным данным величины коэффициента Стьюдента $t_{\text{экс}}$ над табличным значением $t_{\text{табл}}$ в восемь раз свидетельствует о том, что различие между характеристиками градуировочных графиков в индивидуальных и смешанных растворах хлорида натрия имеет статистически значимый характер.

Постоянное отклонение результатов в одну сторону от истинного значения свидетельствует о систематической ошибке. Важно знать вид появляющейся систематической ошибки, так как это позволит сделать вывод о причине ее возникновения и в дальнейшем по возможности оптимизировать метод. Для одновременного определения постоянных и переменных систематических ошибок исследовали экспериментальные величины аналитического сигнала (y_i) сравнивали с рассчитанными при одинаковых концентрациях (x_i) из уравнения регрессии $y = a + bx$. Величина свободного члена регрессии, отличная от нуля свидетельствует о постоянной (систематической) ошибке. Значение коэффициента b больше 1.000 – о переменной ошибке [142]. При предположении, что заданные значения фототока эмиссии (NaCl) x_i безошибочны, а результаты y_i (NaCl + Phe) подчиняются гауссову распределению, сглаживающую прямую вычисляли с помощью невзвешенной регрессии [142]:

$$t_a = |a|/S_a ; t_b = |1 - b|/S_b \quad (3.5)$$

Результаты проверки наличия систематических ошибок представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8. Результаты статистической оценки наличия систематических ошибок при определении натрия в присутствии фенилаланина.

Параметры	Значения
S_a	0.25
S_b	0.005
t_a	2.72
t_b	41.55
$t_{табл.}(P=0.95; f=5)$	2.57

Полученная t_b больше $t_{табл.}$, поэтому можно считать установленным наличие линейно изменяющейся систематической ошибки при определении концентрации натрия в разбавленных растворах в присутствии фенилаланина.

Таким образом, фенилаланин вызывает понижение световой эмиссии пламени при определении натрия в разбавленных растворах аналогично известному влиянию мочевины [164].

Известно, что главными факторами, влияющими на аналитический отклик пламенного фотометра, являются скорость распыления и средний диаметр аэрозольных частиц, образующихся при работе пневматического распылителя [165]. Согласно закону Пуазейля, основной характеристикой, влияющей на скорость засасывания раствора V (см³/с), является вязкость распыляемого раствора

$$V = \frac{10^6 \pi r^4 \Delta P}{8 \eta L}, \quad (3.6)$$

где ΔP – перепад давления по длине капилляра; r – радиус капилляра; η – вязкость распыляемого раствора; L – длина капилляра. Вязкость растворов аминокислоты превышает вязкость растворов хлорида натрия (рис. 3.6). При этом с увеличением концентрации разность вязкости растворов аминокислоты и минерального компонента повышается.

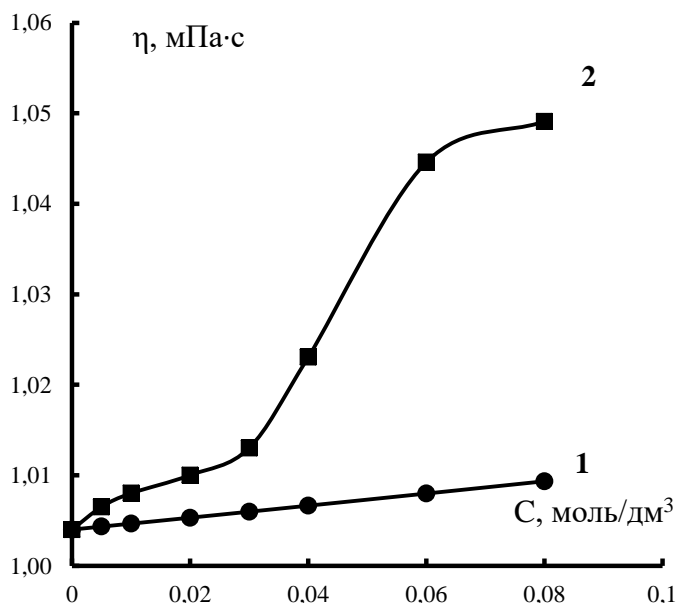


Рис. 3.6. Концентрационная зависимость динамической вязкости в растворах хлорида натрия (1) и фенилаланина (2).

В работе [157] установлено, что растворы фенилаланина имеют повышенную вязкость в области концентрации более 0,02 моль/дм³ вследствие

образования пространственных ассоциатов. По закону Пуазейля повышение вязкости раствора понижает скорость распыления [164, 165], что является одной из причин снижения отклика пламенного фотометра в растворах хлорида натрия в присутствии аминокислоты фенилаланина.

В пламенной фотометрии основная часть помех, создаваемых растворенными органическими веществами, обусловлена повышенной вязкостью. Однако в некоторых из исследованных случаев, повышение вязкости обуславливает лишь небольшую часть помех. Важной характеристикой качества образующегося аэрозоля является средний диаметр капель [164]. Размер аэрозольных частиц зависит от вязкости, поверхностного натяжения и плотности распыляемого раствора. Диаметр частиц можно оценить с помощью эмпирического соотношения [165]

$$d = \frac{585 \sqrt{\sigma}}{u \sqrt{\rho}} + 507 \left(\frac{0.1\eta}{\sqrt{\rho\sigma}} \right)^{0.45} \left(\frac{1000V}{V_1} \right)^{1.5}, \quad (3.7)$$

где u – скорость потока распыляющего газа, м/с; σ – поверхностное натяжение, Н/м; η – коэффициент вязкости раствора, Па·с; ρ – плотность раствора, г/см³; V и V_1 – расходы объемов раствора и газа в единицу времени, см³/с.

Таким образом, добавление аминокислоты изменяет режим работы распылителя, в результате чего изменяется количество и размер частиц образуемого аэрозоля. Как следствие, изменяется количество вещества, вводимого в пламя, а, следовательно, и интенсивность излучения. Также помехи могут быть вызваны индивидуальным действием растворенных органических веществ и связаны с их влиянием на природу распыляемого в пламени спрея с последующим препятствием активации металла в пламени.

Экспериментально установлена зависимость отклика определяемого компонента натрия от концентрации мешающего органического компонента фенилаланина.

Снижение интенсивности света, излучаемого натрием в пламени, падает с ростом разбавления эквимольных растворов. Установлено, что фенилаланин при его концентрации 0.01 ммоль/дм³ снижает интенсивность

излучения натрия на 10%, а в эквимольном смешанном 0.1 ммоль/дм³ растворе – на 21% (рис. 3.7).

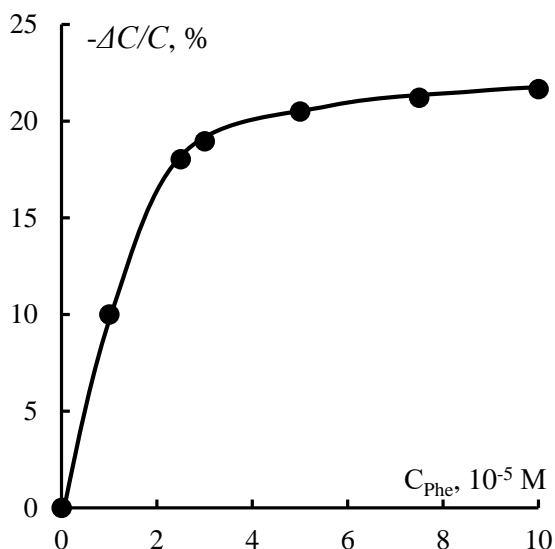
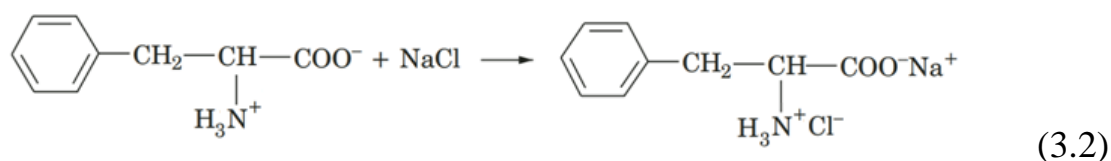


Рис. 3.7. Зависимость ошибки определения натрия от концентрации фенилаланина в эквимольных смешанных растворах.

Это вызвано, по-видимому, увеличением размера частиц аэрозоля, образуемых распылителем, и соответствующим уменьшением поступления вещества в пламя. Значительное увеличение размеров частиц аэрозоля в смешанных эквимольных растворах фенилаланина и хлорида натрия может происходить за счет возможности образования крупных частиц органоминеральной соли [166]:



Образование подобной структуры при соотношении компонентов 1:1 подтверждено минимумом на концентрационной зависимости электропроводности водных смешанных растворов [166]. Этот факт подтверждает уменьшение количества токопроводящих частиц в результате образования нейтральной органоминеральной соли. Необходимо отметить, что органоминеральная структура образуется и при других соотношениях компонентов. При этом связываются эквивалентные количества аминокислоты и соли, а остальное количество компонентов остается

«свободным» и участвует в других процессах. К тому же, образование органоминеральной соли может оказывать воздействие на процессы, происходящие в пламени и влияющие на концентрацию атомов металла в пламени, то есть на испарение соли из частиц аэрозоля, диссоциацию ее паров и ионизацию атомов. Частичное поглощение излучения, создаваемого металлом, или частичное рассеяние энергии пламени загрязняющим веществом являются другими возможными причинами наблюдаемых эффектов.

Для вычисления реальной концентрации ионов натрия в содержащем аминокислоту растворе предварительно измеряли концентрацию аминокислоты методом абсорбционной спектроскопии и оценивали соответствующий отклик пламенно-фотометрического анализатора. Затем проводили коррекцию показаний прибора с учетом вклада в общий сигнал отклика аминокислоты и по градуировочному графику находили концентрацию ионов натрия в растворе.

Известно, что присутствию в растворе кислотосодержащих веществ понижает фототок эмиссии щелочных металлов [163]. Нами исследовано влияние соляной кислоты на аналитический сигнал при определении натрия пламенно-фотометрией (рис. 3.8).

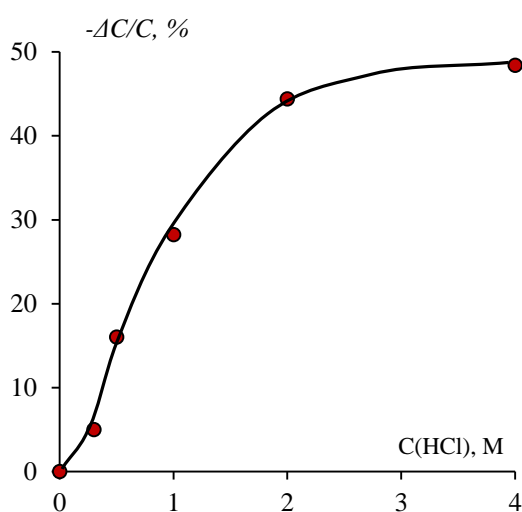


Рис. 3.8 Относительная погрешность определения натрия от концентрации соляной кислоты в растворах.

С ростом концентрации соляной кислоты до четырёхмолярной установлено снижение аналитического сигнала натрия на 50%. Исследования показали, что соляная кислота при используемой в экспериментах концентрации (0.30 М) вносит погрешность в сигнал 4 %, т.е. на уровне ошибки метода.

Таким образом, установлено снижение фототока эмиссии натрия в присутствии фенилаланина. Доказано, что влияние аминокислоты на определение концентрации натрия в разбавленных растворах методом пламенной фотометрии имеет статистически значимый характер. Основная причина заключается в том, что аминокислота повышает вязкость раствора, что приводит к понижению скорости распыления в анализаторе и снижает аналитический отклик. Другая возможная причина обусловлена влиянием присутствия аминокислоты на процесс атомизации и увеличением размера частиц. Доказан систематический тип ошибок определения концентрации натрия в присутствии фенилаланина. Установлена их положительная корреляция с ростом концентрации мешающего компонента.

3.3. Апробация разработанного способа совместного определения фенилаланина и хлорида натрия в разбавленных водных растворах

Предложенный подход апробирован на содержащем фенилаланин фармацевтическом препарате и при контроле содержания компонентов в процессе деминерализации водно-солевых растворов фенилаланина методом электродиализа с экспериментальными мембранами. Результаты определения фенилаланина в порошке лекарственного препарата "L-Фенилаланин" (PROTEIN COMPANY, Россия) с помощью разработанной и традиционной (без учёта влияния кислотности среды) методик представлены в таблице 3.9. Для оценки систематической погрешности результатов анализа методом добавок был использован алгоритм, рекомендованный в [162]. Величина (δ) представляет собой выраженное в процентах отношение разности между

найденным (среднее значение) и введённым содержанием добавки к введённому значению.

Таблица 3.9. Проверка правильности спектрофотометрического анализа лекарственного препарата на содержание фенилаланина методом добавок ($P=0.95, n=6$) при введении 0.1652 г аминокислоты.

рН	Традиционная методика		Разработанная методика	
	Найдено, г	$\delta, \%$	Найдено, г	$\delta, \%$
0.2	0.1735 ± 0.0029	5.0	0.1656 ± 0.0017	0.25
0.5	0.1735 ± 0.0029	5.0	0.1656 ± 0.0017	0.25
1.0	0.1718 ± 0.0029	4.0	0.1654 ± 0.0017	0.14
2.0	0.1685 ± 0.0029	2.0	0.1655 ± 0.0017	0.20
3.0	0.1654 ± 0.0029	0.12	0.1654 ± 0.0017	0.14
4.0	0.1653 ± 0.0029	0.06	0.1653 ± 0.0017	0.06
5.5	0.1652 ± 0.0029	0.06	0.1653 ± 0.0017	0.06
7.5	0.1653 ± 0.0029	0.06	0.1651 ± 0.0017	0.06
8.5	0.1669 ± 0.0029	1.0	0.1654 ± 0.0017	0.14
9.0	0.1735 ± 0.0029	5.0	0.1655 ± 0.0017	0.17
10.0	0.1801 ± 0.0029	9.0	0.1654 ± 0.0017	0.14
11.5	0.1900 ± 0.0029	15.0	0.1654 ± 0.0017	0.14
12.0	0.1966 ± 0.0029	19.0	0.1655 ± 0.0017	0.20
13.0	0.1970 ± 0.0029	19.3	0.1655 ± 0.0017	0.20
13.5	0.1966 ± 0.0029	19.0	0.1655 ± 0.0017	0.20

Прецизионность охарактеризована коэффициентом вариации при $f=48$ и составляет 0.3 % и 0.5 % для разработанной и традиционной методик, соответственно. Значение добавки не попадает в доверительный интервал найденных традиционным методом величин в сильноокислых ($\text{pH} < 3$) и сильнощелочных ($\text{pH} > 8.5$) растворах, что свидетельствует о значимых систематических погрешностях. Представленные результаты свидетельствуют о правильности и повторяемости разработанного способа определения фенилаланина в широком диапазоне рН водных растворов. На основании проведенных испытаний установлено, что содержание

фенилаланина в порошке фармацевтического препарата составляет 99.11 %. Полученный результат практически совпадает с указанной производителем величиной 99 %.

На рис. 3.8 представлен сравнительный анализ величин концентраций ионов натрия в пробах при разделении смешанных растворов хлорида натрия и фенилаланина нейтрализационным диализом с учетом разработанной методики определения натрия в присутствии аминокислоты и без учёта этой методики. Установлено, что максимальная относительная погрешностей в величинах концентраций натрия наблюдается в разбавленных растворах как при нейтрализационном диализе, так и при электродиализе.

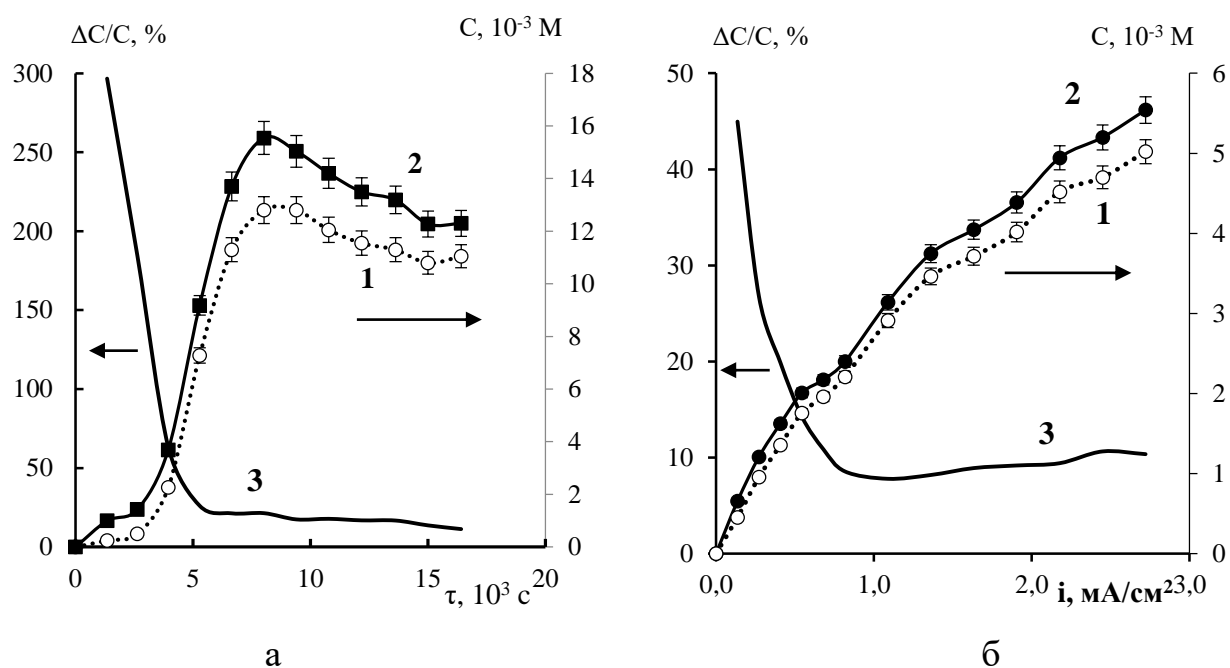


Рис. 3.8. Зависимости содержания ионов натрия в пробах при нейтрализационном диализе (а) и электродиализе (б) смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия от времени и плотности тока. 1-без учёта разработанного способа; 2- с учётом; 3- относительная погрешности определения натрия.

Использование разработанного способа спектрофотометрического определения фенилаланина в растворах различной кислотности является одной из главных задач нашей работы, так как, при нейтрализационном

диализе используются кислота и щёлочь концентрации 0.30 М. При электродиализе в запредельном состоянии происходит процесс диссоциации воды, который приводит к изменению рН раствора. На рис. 3.9 представлен сравнительный анализ концентраций аминокислоты в пробах при разделении смешанных растворов хлорида натрия и фенилаланина нейтрализационным диализом с учетом разработанного способа спектрофотометрического определения фенилаланина в растворах различной кислотности и без учёта. Установлено завышение величин концентраций фенилаланина более чем на 5% в кислотных средах и на 20% в щелочных средах.

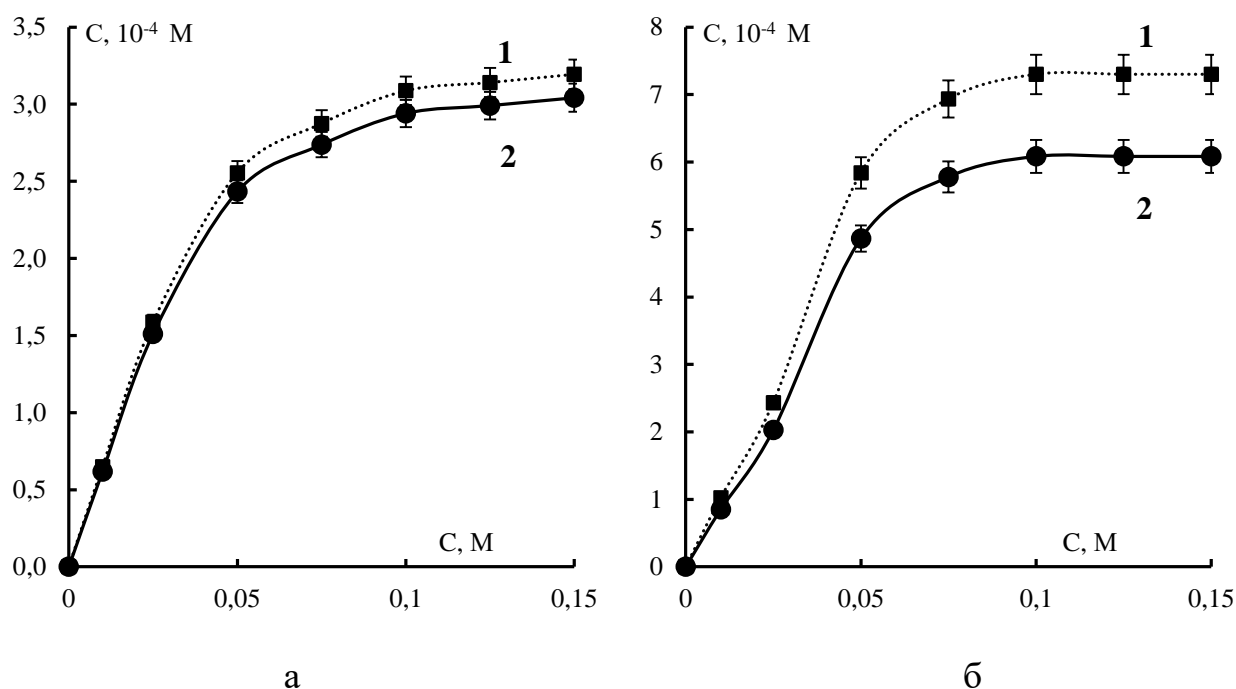


Рис. 3.9. Зависимости концентрации фенилаланина в пробах в кислотной (а) и щелочной (б) средах от концентрации эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия при нейтрализационном диализе. 1-без учёта разработанной методики; 2- с учётом.

Разработанный способ также был апробирован при анализе проб после электродиализной обработки водно-солевых растворов фенилаланина. Величина рН модельного раствора, в состав которого аминокислота (0.05 М) и хлорид натрия (0.01 М), составляла 6.15. Рис. 3.10 демонстрирует результаты определения концентрации фенилаланина в процессе электродиализной

деминерализации его смешанных с хлоридом натрия растворов. Использование экспериментальных ионообменных мембран с массовой долей ионита 65 % с ростом плотности тока значительное защелачивание раствора в секции концентрирования (кривая 1, рис. 3.10). Сравнение концентраций фенилаланина, определённых с учётом изменения кислотности растворов (кривая 2, рис. 3.10) и без учёта влияния рН (кривая 3, рис. 3.10) выявило с ростом плотности тока увеличение относительной погрешности определения концентрации аминокислоты до 16 % (кривая 4, рис. 3.10).

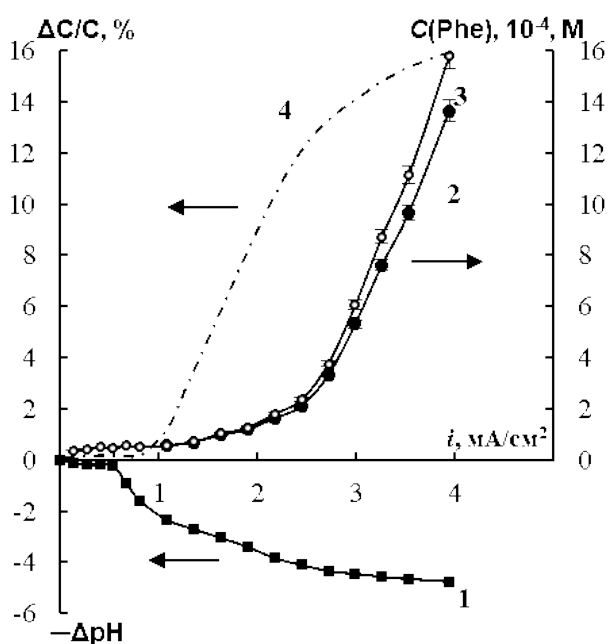


Рис. 3.10. Зависимости изменения рН (1), концентрации (2, 3) и относительной погрешности определения концентрации (4) фенилаланина в растворе секции концентрирования со стороны анионообменной мембраны от плотности тока при электродиализе смешанного раствора аминокислоты и хлорида натрия с $\text{pH}_0 = 6.15$. 2) – концентрация Phe вычислена с учётом влияния кислотности раствора; 3) – без учёта влияния рН.

Разработанный способ применим в лабораторных и производственных условиях, выполняется с использованием стандартного спектрофотометрического оборудования, менее трудоёмка и более экспрессна, так как не предусматривает предварительной коррекции рН растворов и применения вспомогательных реактивов.

ГЛАВА 4. РАЗДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА И ХЛОРИДА НАТРИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИОННЫМ ДИАЛИЗОМ

4.1. Транспортные характеристики ионообменных мембран при нейтрализационном диализе смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия

Селективность разделения компонентов с помощью процесса НД является результатом способности ионообменных мембран пропускать противоионы и предотвращать проникновение коионов (принцип доннановского исключения) и крупных органических молекул (эффект сита).

Оптимизация условий для эффективного процесса деминерализации методом НД определяется выбором таких параметров как природа и концентрация компонентов, тип ионообменных мембран, показатель кислотности среды и скорости подачи растворов. С этой целью нами изучена возможность повышения эффективности разделения ароматической нейтральной аминокислоты и минерального электролита нейтрализационным диализом путём целенаправленного подбора ионообменных мембран.

Кинетические зависимости. Изучение процесса разделения смешанных растворов аминокислоты и минеральной соли методом НД проводили сравнительным анализом экспериментальных данных по переносу компонентов через ионообменные мембраны из смешанных эквимолярных растворов. Диализ осуществляли в стационарном режиме, достижение которого определялось по постоянству концентрации компонентов в пермеате (рис. 4.1). Установлено, что со временем потоки компонентов смеси увеличиваются, а затем выходят на плато, которое определяет время наступления стационарного состояния. Время установления стационарного состояния зависит от природы и концентрации компонентов и составляет 3–4 ч для хлорида натрия и 4–5 ч для аминокислоты.

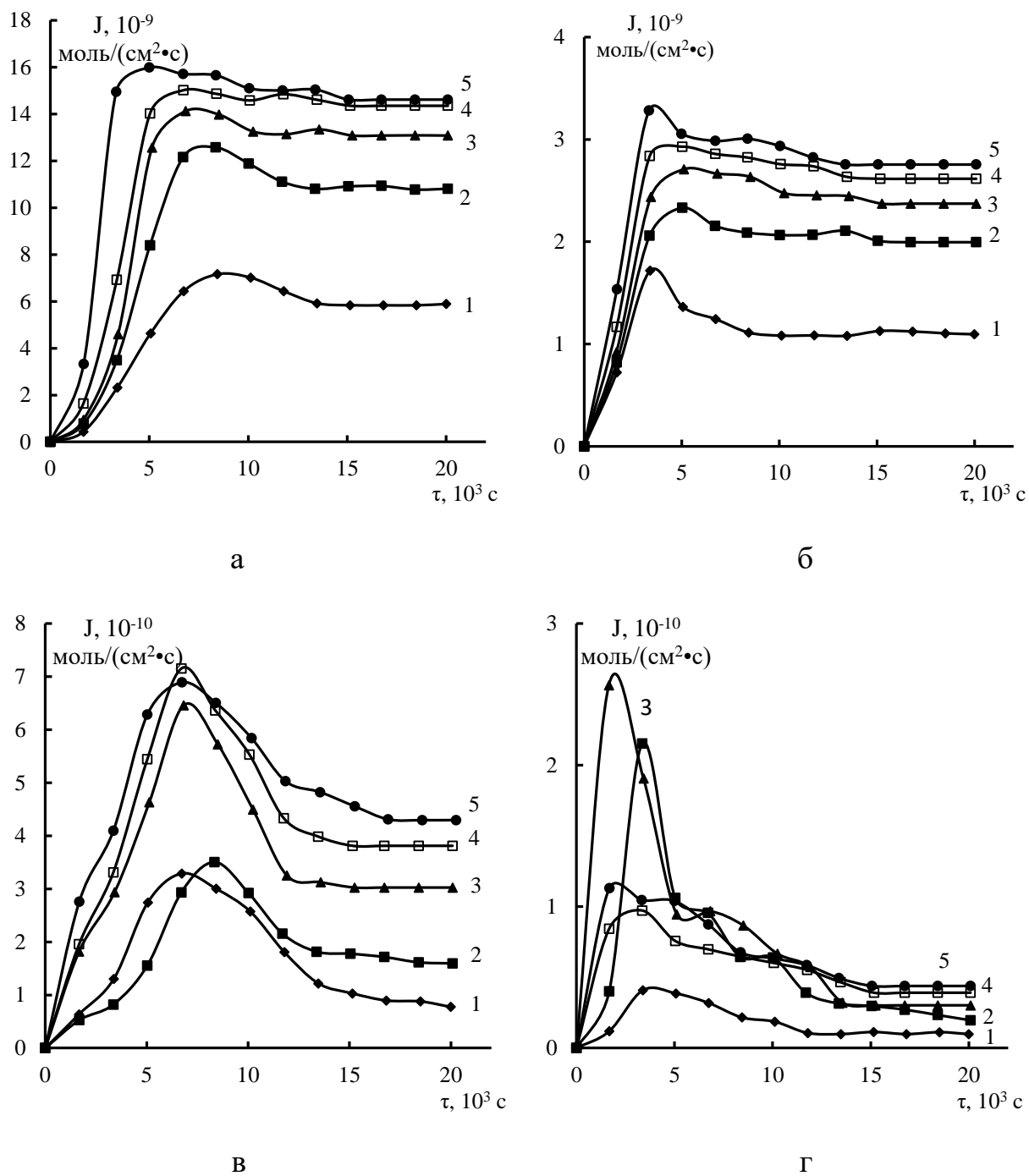


Рис. 4.1. Кинетические зависимости потоков ионов натрия (а), хлорид-ионов (б) и фенилаланина (в, г) через мембрану МК-40 (а, в) и МА-40 (б, г) при НД смешанных эквимольных растворов хлорида натрия и фенилаланина. Концентрация $C_0(\text{NaCl})=C_0(\text{Phe})$: 0.01 (1), 0.025 (2), 0.05 (3), 0.075 (4), 0.10 (5) М.

Возможность разделения смеси фенилаланина и хлорида натрия методом НД проанализирована при сравнительном переносе компонентов через сульфокатионообменную мембрану МК-40 и анионообменную мембрану смешанной основности МА-40 эквимольных растворов. Результаты проведенного исследования представлены в виде зависимостей потоков компонентов от их концентрации в исходных растворах (рис. 4.2).

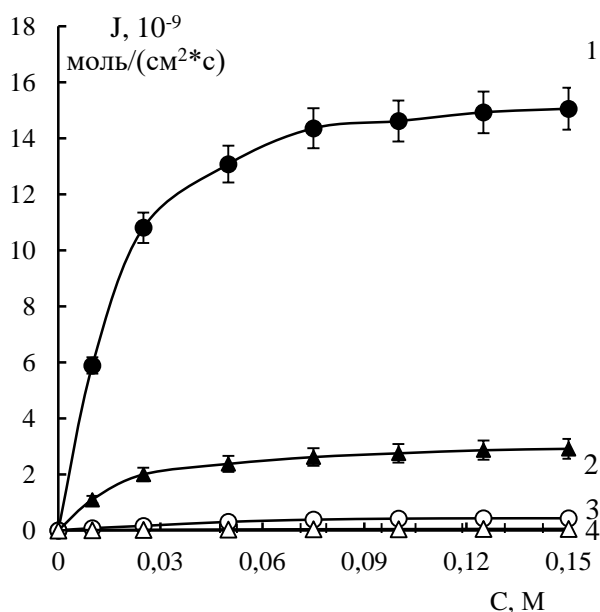


Рис.4.2. Концентрационные зависимости потоков ионов натрия (1), хлорид-ионов (2) и фенилаланина (3, 4) через мембраны МК-40 (1, 3) и МА-40 (2, 4) при НД эквимольных смешанных растворов.

Установлено, что при НД потоки минерального компонента через мембраны значительно превышали потоки аминокислоты. Причиной является сохранение биполярной формы нейтральной аминокислоты фенилаланина ($pI=5.91$) в исходном деминерализуемом растворе. Вследствие переноса ионов водорода через катионообменную и гидроксид-ионов через анионообменную мембраны из принимающих растворов значение величины рН деминерализуемого раствора во всём диапазоне концентраций составляло 4.52-5.56.

Изучение кинетики НД, позволило понять, как значение рН в исследуемой секции зависит от условий в систем (рис. 4.3).

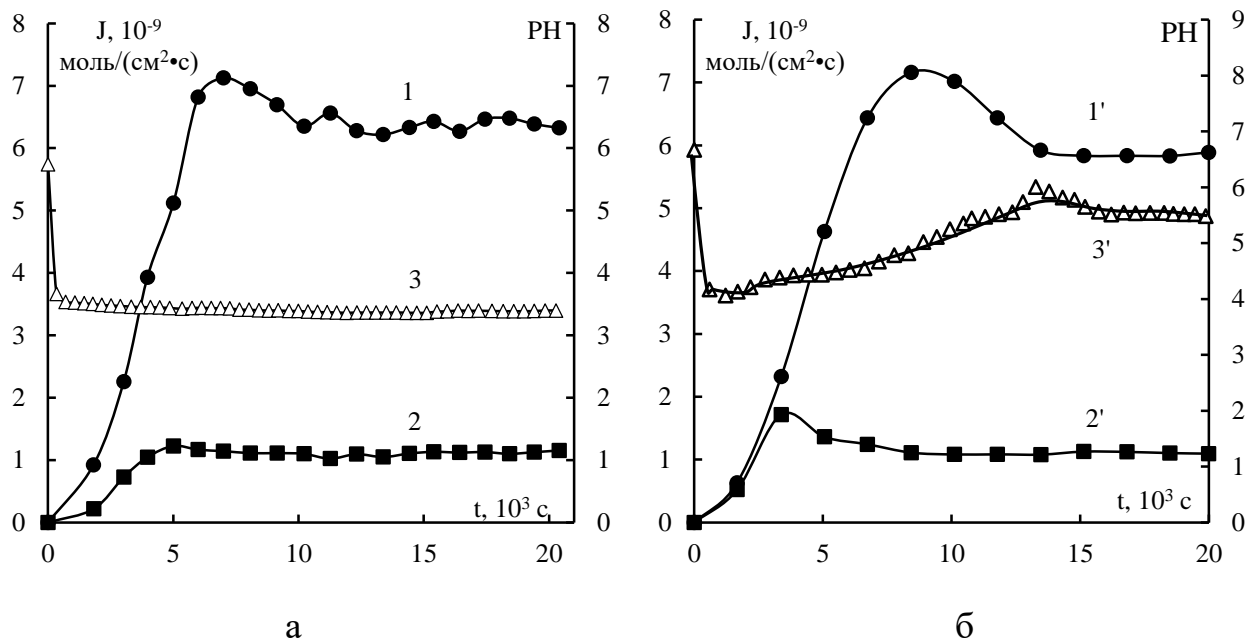
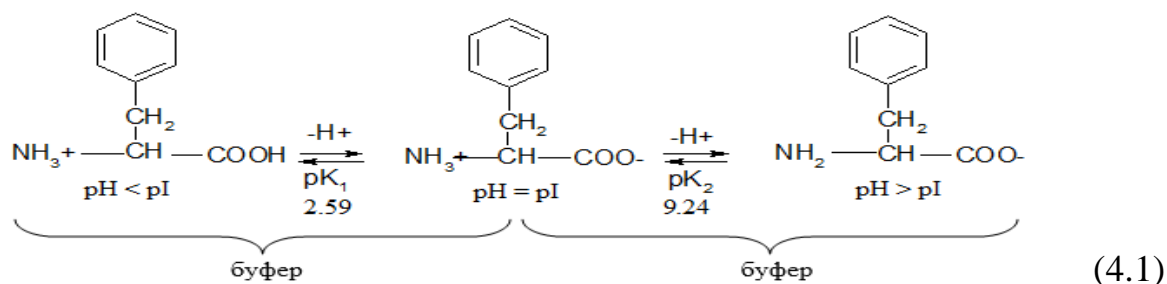


Рис. 4.3. Кинетические зависимости потоков ионов натрия (1, 1'), хлорид-ионов (2, 2') и рН в растворе ретентата (3, 3') через мембраны МК-40 (1, 1') и МА-40 (2, 2') при НД индивидуального (а) и смешанного эквимольярного (б) раствора хлорида натрия и фенилаланина $C_0(\text{NaCl})=C_0(\text{Phe})=1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$.

При НД индивидуальных растворов хлорида натрия установлено, что процесс обмена анионов (OH^- и Cl^-) через мембрану МА-40 и катионов (H^+ и Na^+) через мембрану МК-40 происходил одновременно (рис. 4.3а). Однако, скорость обмена анионов через мембрану МА-40 была ниже из-за более низкого коэффициента диффузии анионов в мембране МА-40 по сравнению с катионами в мембране МК-40: $\bar{D}_{\text{Na}^+}^{\text{МК-40}} = 6.92 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{Cl}^-}^{\text{МА-40}} = 2.6 \times 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ и $\bar{D}_{\text{H}^+}^{\text{МК-40}} = 18.5 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{OH}^-}^{\text{МА-40}} = 0.39 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ [167]. Известно, что сульфогруппы, которые являются фиксированными группами в мембране МК-40, обеспечивают высокую скорость переноса протонов. Эта скорость заметно выше, чем для гидроксильного иона с участием слабоосновных

фиксированных групп [27] в мембране МА-40. В связи с этим, величина рН деминерализуемого раствора быстро падает от значения близкого к шести до значения близкого к 3.5. Полученный результат согласуется с величиной рН, установленной экспериментально в работе [66] при НД индивидуальных растворов хлорида натрия с использованием гетерогенных мембран (МКК-2 и МАК-2).

В случае смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия (рис. 4.3б), в начальный момент времени при закислении деминерализуемого раствора (рН=4.0) содержание фенилаланина в биполярной, катионной и анионной форме составило $\alpha(\text{Phe}^{\pm})=96.33\%$, $\alpha(\text{Phe}^+)=3.66\%$, $\alpha(\text{Phe}^-)=0.0007\%$, соответственно. Существование смеси двух сопряженных форм аминокислоты «биполярный ион-катион» или «биполярный ион-анион» является причиной проявления фенилаланином буферных свойств (4.1):



В результате буферного действия аминокислоты [27] величина рН исследуемого раствора изменялась незначительно и в стационарном состоянии процесс проходил при рН=5.6, где содержание ионных форм фенилаланина составило $\alpha(\text{Phe}^{\pm})=99,87\%$, $\alpha(\text{Phe}^+)=0.095\%$, $\alpha(\text{Phe}^-)=0.032\%$. Участие фенилаланина в реакциях протонирования/депротонирования с водородными и гидроксильными ионами (4.1), которые поступают в секцию деминерализации из кислотной и щелочной секций, соответственно, придавало буферное свойство смешанному раствору хлорида натрия и аминокислоты. Это позволило нейтрализовать величину рН раствора в секции деминерализации, соответствующую величине рН нахождения фенилаланина в биполярной форме.

4.2. Выбор анионообменной мембраны для разделения фенилаланина и хлорида натрия нейтрализационным диализом

При НД раствора смеси минеральной соли и аминокислоты протекают реакции ионного обмена между водородными противоионами катионообменника и катионами металла в растворе, а также между гидроксильными противоионами анионообменника и анионами соли. Ионы натрия (хлорид-ионы) из исходного раствора переходят через катионообменную (анионообменную) мембрану в принимающий раствор, а ионы водорода (гидроксила) кислоты (щелочи) переносятся в противоположном направлении. Поэтому значительному повышению избирательности транспорта минерального компонента и эффективности деминерализации смешанного раствора аминокислоты и соли должно способствовать использование пары сильнокислотной катионообменной и сильноосновной анионообменной мембран по сравнению со среднеосновной анионообменной мембраной МА-40. Подтверждение данной гипотезы получено при сравнительном анализе экспериментальных данных по переносу ионов натрия и хлорид-ионов через ионообменные мембраны различной природы и основности. Результаты проведенного исследования представлены в виде зависимостей потоков компонентов от концентрации смешанных эквимольных растворов (рис. 4.4).

Установлено, что поток ионов натрия через сильнокислотную катионообменную мембрану МК-40 превышал соответствующие величины для хлорид-ионов через анионообменные мембраны разной основности. По мнению авторов [67] неравенство потоков ионов через мембраны при НД обусловлено различием величин обменной емкости мембран и коэффициентов диффузии противоионов в них. Для мембраны МК-40 характерна более высокая обменная емкость по сравнению с мембранами МА-41 и МА-40 по сильнодиссоциированным группам, а также более высокие величины коэффициентов диффузии противоионов $\bar{D}_{\text{Na}^+}^{\text{МК-40}} = 6.92 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{Cl}^-}^{\text{МА-41}} =$

$$2.7 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{Cl}^-}^{\text{MA-40}} = 2.6 \times 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с} \text{ и } \bar{D}_{\text{H}^+}^{\text{МК-40}} = 18.5 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{OH}^-}^{\text{MA-41}} = 4.45 \times 10^{-11} > \bar{D}_{\text{OH}^-}^{\text{MA-40}} = 0.39 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с} [167,168].$$

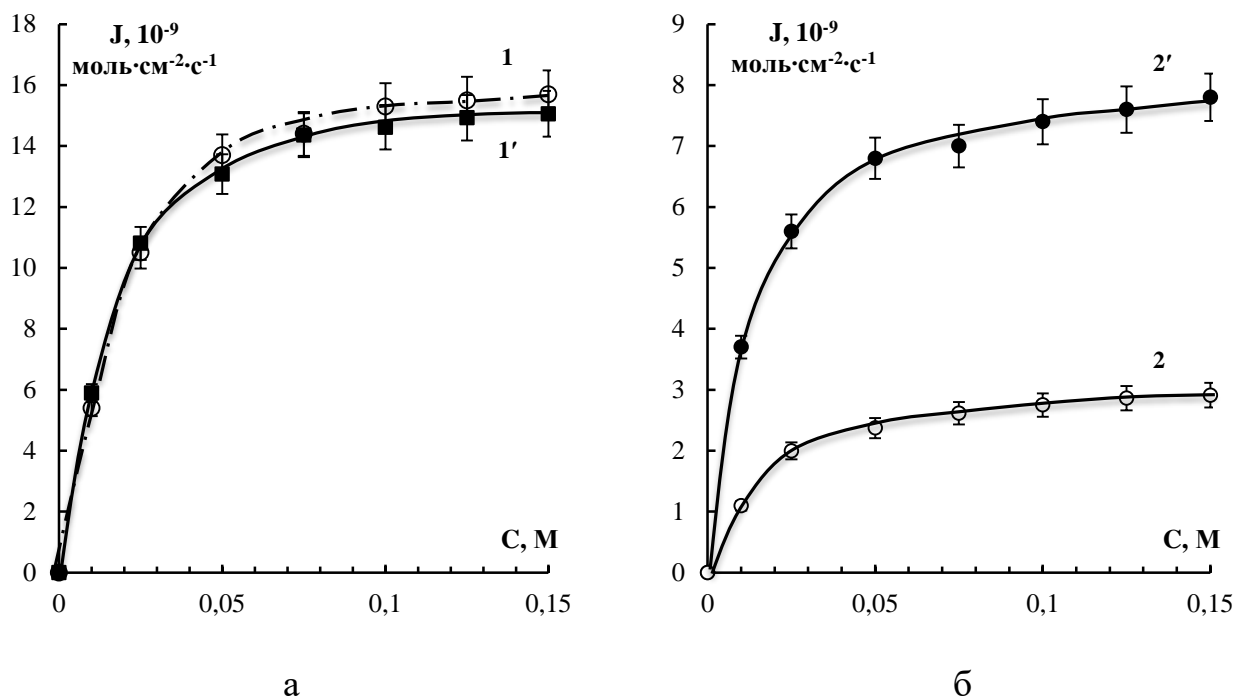


Рис.4.4. Концентрационные зависимости потоков ионов натрия (а) через мембрану МК-40 в канале с мембраной МА-40 (1) или МА-41 (1') и потоков хлорид-ионов (б) через мембраны МА-40 (2) и МА-41(2') при НД эквимольных смесей фенилаланина и хлорида натрия.

Показано, что поток ионов натрия через сульфокатионообменную мембрану МК-40 остаётся практически постоянным при изменении типа анионообменной мембраны (рис.4.4а). Однако, при использовании сильноосновной мембраны МА-41 вместо мембраны МА-40 поток хлорид-ионов увеличивается в три раза (рис. 4.4б). Это обусловлено тем, что мембрана МА-40 содержит лишь небольшое количество сильноосновных фиксированных групп (до 20% четвертичных аминогрупп). В основном в ее состав входят вторичные и третичные аминогруппы. Напротив, большинство фиксированных групп мембраны МА-41 являются сильноосновными четвертичными аминогруппами, а слабоосновные группы могут присутствовать в количестве менее 20–25% (табл. 2.1). По мнению авторов [169], при процессе НД с анионообменной мембраной, содержащей

значительную долю слабоосновных функциональных групп, депротонирование этих групп вызывает увеличение диффузионного сопротивления мембраны и уменьшение поверхностного заряда. Из-за уменьшения эффективной обменной емкости доннановское исключение коионов уменьшается. В результате этого концентрация коионов в анионообменной мембране существенно увеличивается, вызывая увеличение потока этих ионов в исходную секцию, затрудняя процесс деминерализации и вызывает подкисление водно-солевого раствора аминокислоты.

Кроме того, использование анионообменных мембран МА-41 и МА-40 оказывает разное влияние на рН раствора в секции деминерализации (рис. 4.5). Вследствие более высокого переноса ионов гидроксила через мембрану МА-41 деминерализуемый раствор закислялся в меньшей степени и во всем диапазоне концентраций значение рН составляло 5.0–5.6. Значения рН деминерализуемого раствора при использовании мембраны смешанной основности МА-40 уменьшалось до величин 4.0–5.1.

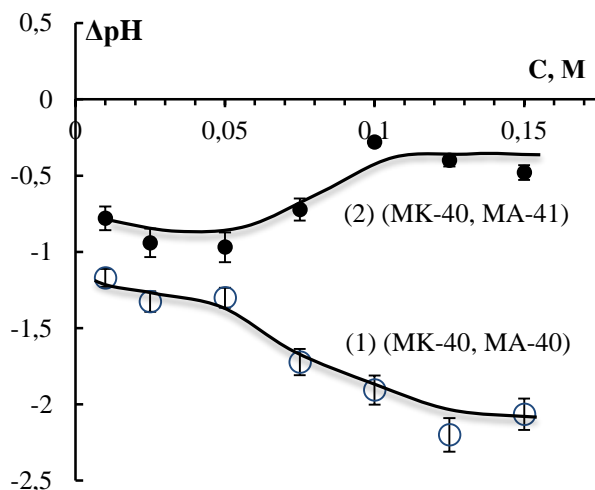


Рис. 4.5. Зависимость разности рН растворов на выходе и входе секции деминерализации, образованной катионообменной мембраной МК-40 и анионообменными мембранами МА-40 (1) и МА-41 (2) от концентрации смешанного эквимолярного раствора фенилаланина и хлорида натрия.

При НД смешанных эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия установлено уменьшение степени извлечения ионов электролита с увеличением концентраций исходного раствора (рис. 4.6).

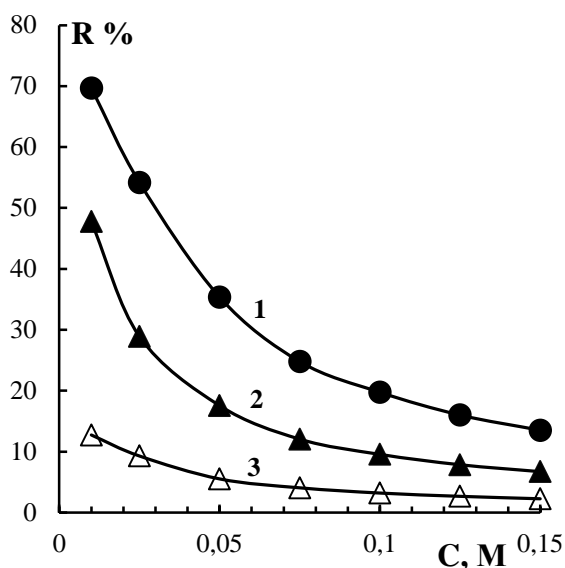


Рис. 4.6. Концентрационные зависимости степени извлечения ионов электролита при НД эквимольных смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия через мембраны МК-40 (1), МА-41 (2) и МА-40 (3).

Максимальная эффективность деминерализации наблюдалась в разбавленных растворах. Степень извлечения при концентрации раствора 0.01 М составляла для ионов натрия 70%. При увеличении концентрации раствора в пятнадцать раз установлено уменьшение степени выделения катионов натрия в пять раз. Во всем диапазоне концентраций степень выделения катионов через мембрану МК-40 превышала выделение анионов через анионообменные мембраны. При этом степень извлечения анионов соли через мембрану МА-41 превышала соответствующие значения для мембраны МА-40 и составляла 48% и 13%.

Возможность разделения амфолита и сильного электролита нейтрализационным диализом достигается вследствие их различной природы. Установлено, что при НД потоки минерального электролита через мембраны (рис. 4.4) значительно превышали потоки аминокислоты (рис. 4.7).

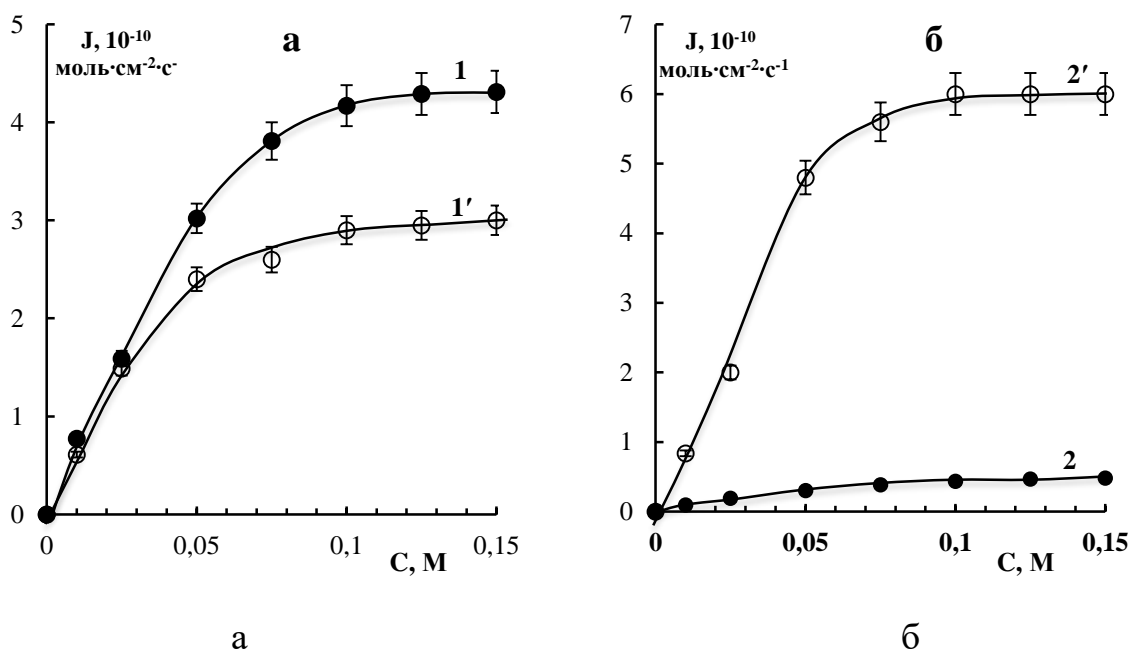


Рис. 4.7. Концентрационные зависимости потоков фенилаланина через катионообменную мембрану МК-40 (а) в канале с мембраной МА-40 (1) или МА-41 (1') и через анионообменные мембраны (б) МА-40 (2), МА-41(2') при НД эквимольных смешанных растворов фенилаланина и хлорида натрия.

Основной причиной является создание условий сохранения амфолита фенилаланина ($pI=5.91$) в биполярной форме в исходном деминерализуемом растворе. Выявлено, что потоки фенилаланина через сульфокатионообменную мембрану МК-40 в канале, образованном с сильноосновной мембраной МА-41, меньше соответствующих значений в случае мембраны МА-40 во всем диапазоне концентраций (рис. 4.7а). Причиной является менее резкое закисление деминерализуемого раствора при использовании сильноосновной мембраны МА-41 (рис. 4.5). В результате, при использовании в паре с мембраной МК-40 мембран МА-41 и МА-40 в деминерализуемом растворе находилось в виде биполярных ионов 99.6–99.9% и 96.3–99.2 % фенилаланина, соответственно.

Зависимость фактора разделения S_F , от концентраций смешанных эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия представлена на рис.4.8.

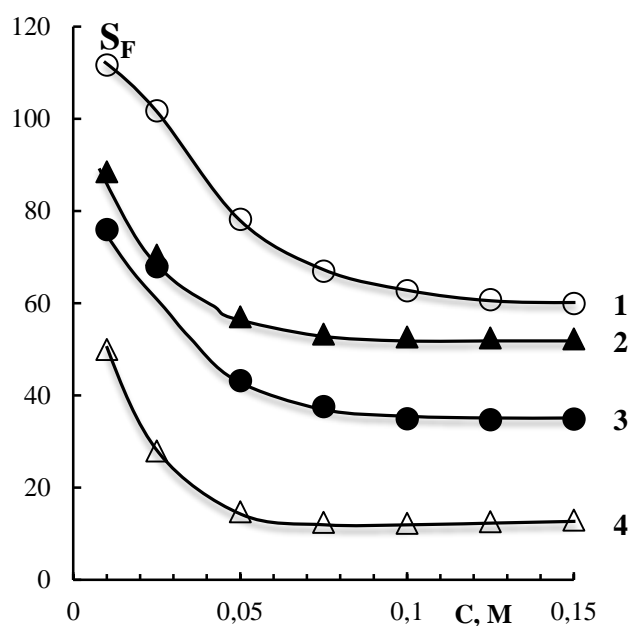


Рис. 4.8. Концентрационные зависимости фактора разделения фенилаланина и хлорида натрия для анионообменных мембран МА-40 (1), МА-41 (4) и катионообменной мембраны МК-40 в канале с мембраной МА-41 (2) и МА-40 (3) при НД эквимольных смешанных растворов.

Установлено, что с увеличением концентрации исходного смешанного раствора происходит снижение фактора разделения как для катионообменной, так и для анионообменных мембран. Большее содержание нейтральной аминокислоты в биполярной форме приводит к увеличению фактора разделения для мембраны МК-40 (рис. 4.8) С другой стороны, вследствие переноса из принимающих растворов ионов водорода через катионообменную и ионов гидроксила через анионообменную мембраны происходят протолитические реакции этих ионов с фенилаланином в диффузионных пограничных слоях каждой мембраны. Через сильноосновную мембрану МА-41 ионы гидроксила переносятся в большей степени по сравнению с мембраной МА-40. В результате этого фенилаланин реагирует с ионами водорода (ионами гидроксила), переходит в катионную (анионную) форму и переносится через соответствующие мембраны. В результате такого механизма потери аминокислоты для сильноосновной мембраны МА-41 больше, чем для мембраны смешанной основности МА-40 (таблица 4.1).

Таблица. 4.1. Потери аминокислоты при НД.

$C_0(\text{Phe})=$ $C_0(\text{NaCl}), 10^{-2} \text{ M}$	L, %			
	МК-40 (МА-40)	МК-40 (МА-41)	МА-40	МА-41
1.0	0.92±0.04	0.72±0.03	0.12±0.01	0.93±0.04
2.5	0.84±0.03	0.62±0.02	0.10±0.01	0.80±0.03
5.0	0.72±0.03	0.54±0.02	0.07±0.01	0.63±0.03
7.5	0.61±0.02	0.37±0.02	0.06±0.01	0.47±0.02
10.0	0.50±0.02	0.28±0.01	0.05±0.01	0.40±0.02
12.5	0.41±0.02	0.23±0.01	0.05±0.01	0.34±0.01
15.0	0.34±0.01	0.19±0.01	0.04±0.01	0.29±0.01

При НД смешанных эквимольных растворов фенилаланина и хлорида натрия максимальные суммарные потери фенилаланина наблюдались в разбавленных смешанных растворах и не превышали 1%, что значительно ниже установленных при электродиализе в гладких каналах. В работе [51] суммарные потери фенилаланина за счёт массопереноса через катионообменную МК-40 и анионообменную МА-41 мембраны при электродиализе смешанного раствора с хлоридом натрия ($C_0(\text{Phe})=0.02 \text{ M}$, $C_0(\text{NaCl})=0.01 \text{ M}$) при плотности тока $5.0 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, обеспечивающей наибольшее обессоливание раствора ($R=87\%$), составили 15.5 %.

4.3. Разделение аминокислоты и минерального компонента нейтрализационном диализом при использовании мембран с разной массовой долей сульфокатионообменной смолы

Влияние содержания сульфокатионообменника на перенос аминокислоты и минерального компонента через мембраны. Нами исследовано влияние массовой доли сульфокатионообменной смолы в гетерогенных мембранах Ralex СМН на эффективность процесса разделения водно-солевых растворов фенилаланина методом НД. При использовании экспериментальных катионо- и анионообменных мембран в процессе НД водно-солевых растворов фенилаланина характерно сохранение нейтральной аминокислоты в биполярной форме в исходном деминерализуемом растворе.

Вследствие реакции нейтрализации значение pH деминерализуемого раствора при всех исследуемых концентрациях было близко к нейтральному значению и составляло 6.5–6.8. В этом диапазоне pH содержание в растворе биполярной, катионной и анионной форм фенилаланина составило 99.74–99.48% (Phe^{\pm}), 0.01% (Phe^+) и 0.25–0.51% (Phe^-), соответственно.

Сравнительный анализ экспериментальных величин потоков минеральных компонентов смеси через ионообменные мембраны Ralex CMH с содержанием ионообменника 65% показан на рис. 4.9. Результаты представлены в виде зависимостей потоков компонентов от концентрации смешанных эквимольярных растворов.

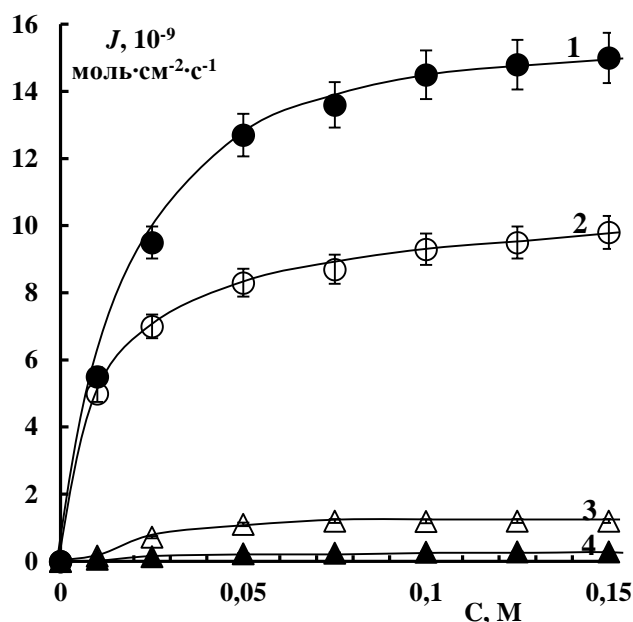


Рис. 4.9. Концентрационные зависимости потоков ионов натрия (1), хлорид-ионов (2) и фенилаланина (3, 4) через катионообменную (1, 4) CMH ($\omega=65\%$) и анионообменную (2, 3) AMH ($\omega=65\%$) мембраны при НД эквимольярных смешанных растворов аминокислоты и минеральной соли.

Как и следовало ожидать, потоки противоионов через сульфокатионообменную мембрану оказались выше по сравнению с потоками для сильноосновной анионообменной мембраны. В работах [25, 67] этот факт объяснен как следствие более высокой скорости ионного обмена H^+/Na^+ ионов

по сравнению с OH^-/Cl^- ионами в фазе мембран. Потоки минеральных ионов через обе мембраны значительно превышали потоки аминокислоты во всем диапазоне концентраций. Причиной является разная скорость диффузии минеральных ионов, являющихся противоионами, и крупных биполярных ионов аминокислоты вследствие стерического фактора, а также возможных гидрофобных взаимодействий биполярных ионов с матрицей ионообменника. Однако, в диффузионных пограничных слоях каждой из мембран биполярные ионы фенилаланина участвуют в протолитических реакциях с водородными и гидроксильными ионами, которые поступают в секцию деминерализации из кислотной и щелочной секций. Смещение равновесия протолитической реакции в сторону образования катионов (анионов) аминокислоты интенсифицирует обменную составляющую потока фенилаланина через мембраны. В отличие от минеральных ионов поток фенилаланина через анионообменную мембрану превышал соответствующие значения через катионообменную мембрану в 2–3 раза. Это вызвано увеличением доли анионной формы фенилаланина, переносимой по механизму ионного обмена из-за превышения величины изоэлектрической точки аминокислоты в анионообменной мембране и прилегающем к ней растворе, вызванном переносом через эту мембрану ионов гидроксила. При значении pH в растворе секции деминерализации равном 6.5–6.8 содержание анионной формы аминокислоты превышало содержание катионов фенилаланина более, чем в тридцать раз.

Выявлено увеличение потоков как ионов натрия, так и фенилаланина с увеличением содержания сульфокатионообменной смолы в мембранах СМН (рис. 4.10). При НД 0.01 М смешанного раствора с повышением содержания массовой доли катионообменной смолы от 45 до 70% установлено увеличение потоков ионов натрия в четыре раза, а фенилаланина в 2.5 раза. Причиной увеличения потоков компонентов с повышением содержания массовой доли катионообменной смолы является увеличение полной обменной емкости и

влажностендуржания исследуемых экспериментальных мембран. Полная обменная емкость мембран СМН с содержанием смолы 45% и 70% составляет 2.66 и 4.23 ммоль/г_{сухой мембраны} соответственно (таблица 2.2). При таком увеличении содержания ионообменника рост влажностендуржания и толщины набухших мембран составил 55 и 32% соответственно.

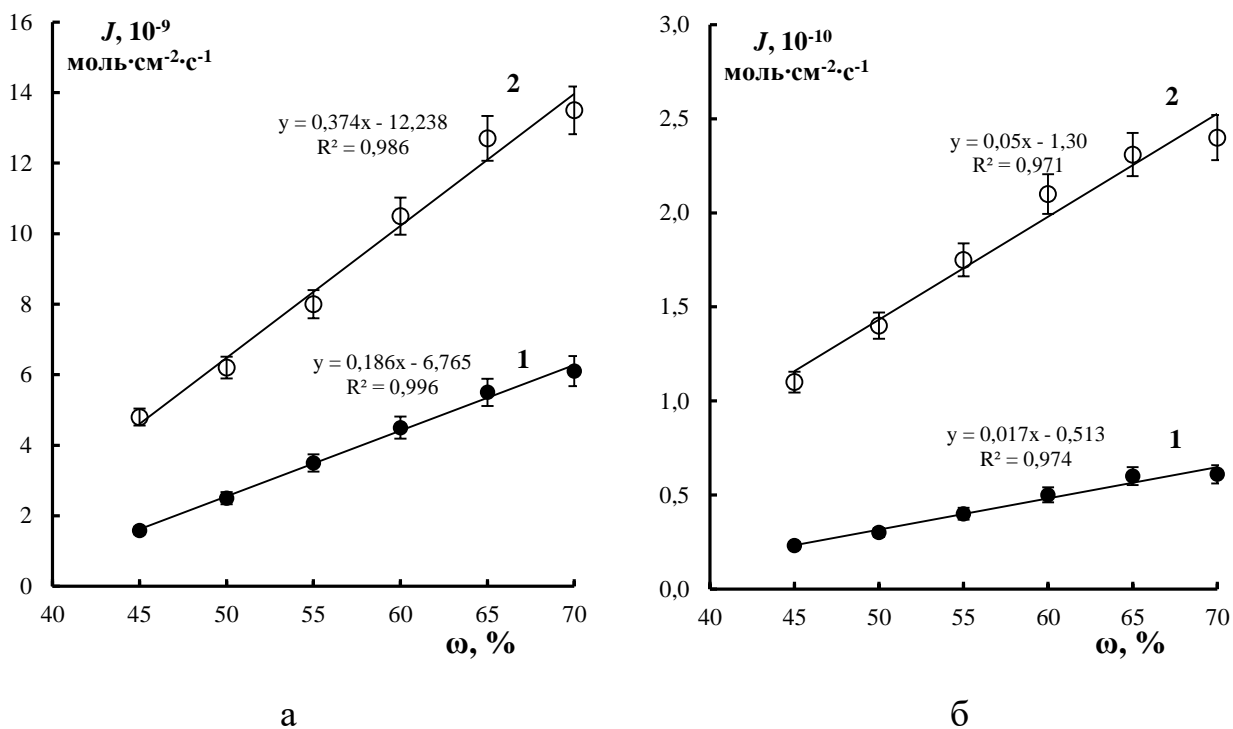


Рис. 4.10. Зависимости потоков ионов натрия (а) и фенилаланина (б) от массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембранах СМН при эквимолярной концентрации смешанных растворов 0.01 (1) и 0.05 (2) М.

Более показательной величиной оценки интенсивности переноса компонентов через ионообменные мембраны по сравнению с потоком является проницаемость, так как учитывает влияние толщины мембраны на массоперенос. В настоящей работе проницаемость изучалась методом оценки количества вещества, перенесенного из раствора заданной концентрации под влиянием градиента химических потенциалов компонентов через исследуемую мембрану в раствор пермеата по формуле [138]:

$$P = \frac{J \cdot d}{C_0 - C_1} \quad (4.1)$$

где J - плотность потока, моль/(см²·с); d – толщина мембраны, см; C_0 – концентрация исходного раствора, М; C_1 – концентрация раствора пермеата, М.

Сравнительный анализ показывает, что проницаемость всех экспериментальных мембран с разным содержанием ионообменника при НД для ионов натрия имела более высокие значения по сравнению с соответствующими величинами для фенилаланина (рис. 4.11). С увеличением концентрации смешанного эквимолярного раствора фенилаланина и хлорида натрия наблюдается снижение величин проницаемости мембраны (рис. 4.11 а, в). Данная тенденция установлена для всех экспериментальных мембран СМН с содержанием ионообменника от 45 до 70%. Причиной уменьшения проницаемости мембраны с ростом концентрации внешнего эквимолярного раствора является специфичность состояния аминокислоты в фазе мембраны вследствие образования достаточно стабильных сложных ассоциативных структур фенилаланина в фазе мембраны, оказывающих влияние на свойства поверхности и объёма мембраны и тормозящих перенос компонентов.

В сантимольярном растворе с ростом массовой доли ионообменной смолы в мембране от 45 до 70% коэффициент проницаемости мембраны увеличивается как для ионов натрия так и для аминокислоты в 11 и 4 раза, соответственно (рис. 4.11 б, г).

Измерены величины рН при НД водно-солевых растворов фенилаланина с использованием экспериментальных ионообменных мембран. Установлено уменьшение показателя кислотности деминерализуемого раствора с ростом содержания ионообменной смолы в катионообменной мембране СМН (рис. 4.12).

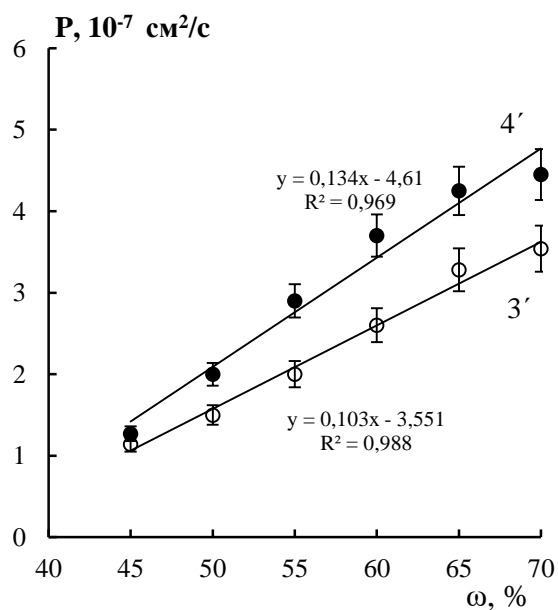
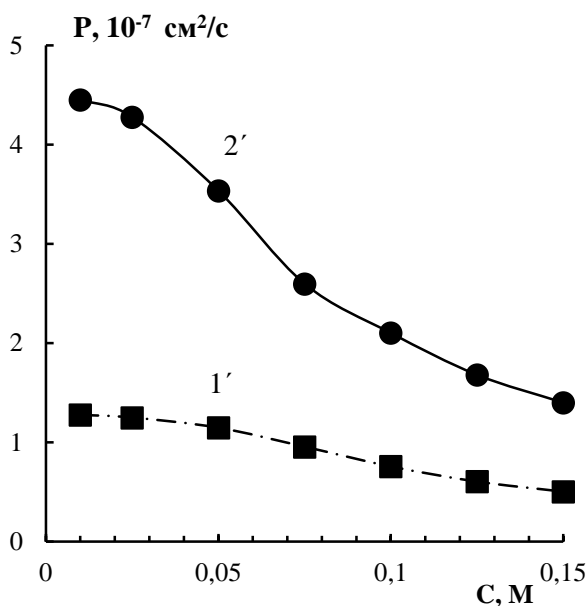
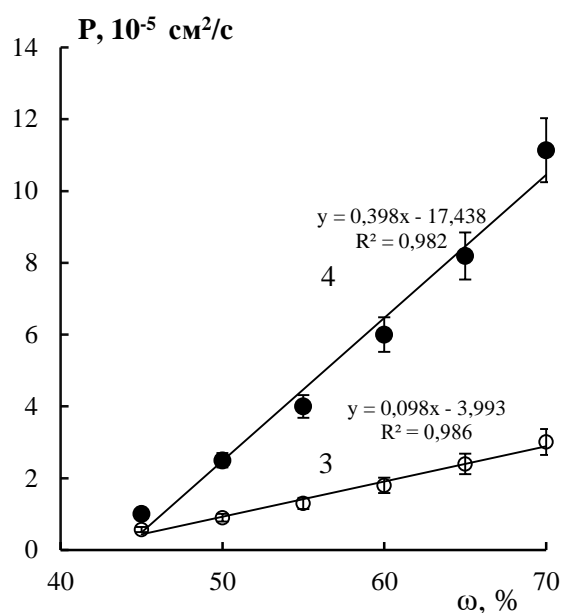
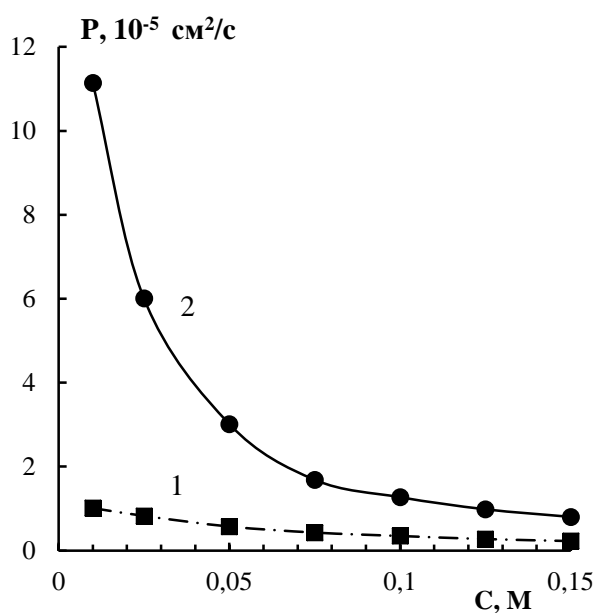


Рис. 4.11. Зависимости коэффициента проницаемости экспериментальных катионообменных мембран от концентрации (а, в) и массовой доли смолы (б, г) ионов натрия (а, б) и фенилаланина (в, г). Массовая доля смолы в мембране 45 (1, 1') и 70 (2, 2') %. Концентрация эквимольного смешанного раствора 0.01 (4, 4') и 0.05 (3, 3') М.

С изменением содержания сульфокатионообменника от 45 до 70% разность величин рН деминерализуемого раствора на выходе и входе секции падает более, чем в два раза. Это обусловлено тем, что с увеличением массовой доли смолы в мембранах СМН при постоянном составе анионообменной мембраны АМН увеличивается разница в потоках взаимодействия ионов H^+/Na^+ и OH^-/Cl^- . При этом отношение концентраций H^+ и OH^- ионов растёт, а значение рН раствора понижается. Закисление деминерализуемого раствора способствовало увеличению массопереноса фенилаланина через катионообменную мембрану (рис. 4.10б).

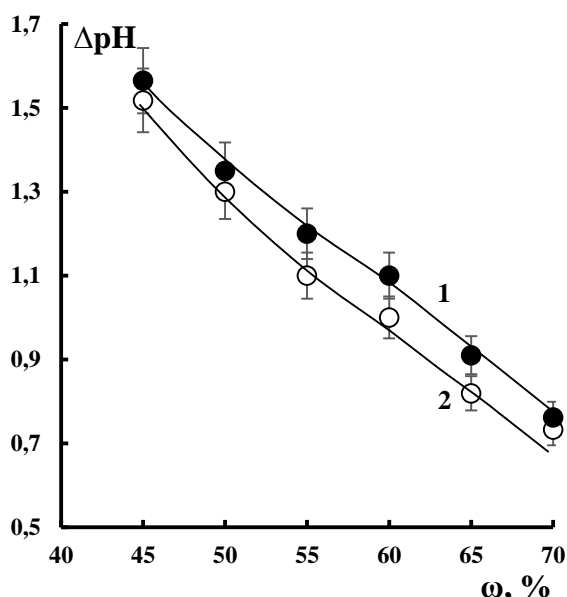


Рис. 4.12. Разность рН растворов на выходе и входе секции деминерализации от массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембранах СМН при эквимолярной концентрации смешанного раствора 0.01 (1) и 0.05 (2) М.

При НД потоки минерального электролита через мембраны превышали потоки аминокислоты на один–два порядка, что делает возможным их эффективное разделение за счет селективного извлечения минеральных ионов. Зависимости фактора разделения S_F от концентраций смешанных эквимолярных растворов фенилаланина и хлорида натрия и массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране СМН представлены на рис. 4.13.

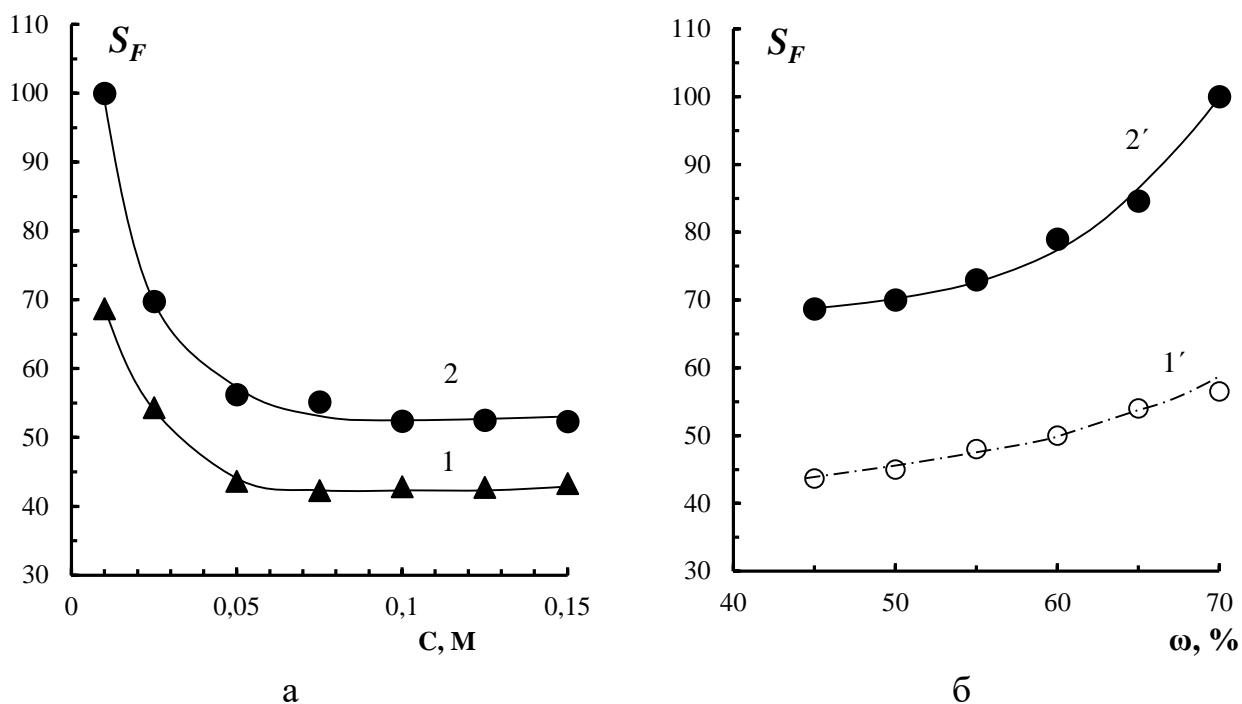


Рис. 4.13. Влияние концентрации исходного раствора (а) и массовой доли (б) сульфокатионообменной смолы в мембране СМН на фактор разделения фенилаланина и хлорида натрия. Массовая доля смолы в мембране 45 (1) и 70 (2) %. Концентрация смешанного раствора 0.05 (1') и 0.01 (2') М.

С увеличением концентрации исходного смешанного раствора происходит снижение фактора разделения (рис. 4.13а). Максимальная эффективность разделения наблюдалась в разбавленных растворах до концентрации 0.05 М. Данная тенденция установлена для всех катионообменных мембран СМН с разным содержанием ионообменной смолы.

Одной из причин снижения селективности переноса ионов натрия при увеличении концентрации аминокислоты в растворе являются стерические ограничения, приводящие к затруднению транспорта ионов вследствие образования на поверхности и в порах мембраны пространственных ассоциатов фенилаланина. Образование устойчивых конфигураций ассоциатов в растворе при концентрации фенилаланина более 0.022 М доказано методами вискозиметрии и фотонной корреляционной

спектроскопии [157]. Сравнительный анализ зависимости фактора разделения от массовой доли ионообменной смолы в мембране показал большую эффективность процесса при содержании катионообменной смолы 70% (рис. 4.13б). При концентрации деминерализуемого раствора 0.01 М с ростом содержания сульфокатионообменника от 45 до 70% фактор разделения увеличивается в полтора раза, несмотря на симбатный рост массопереноса как ионов натрия, так и аминокислоты.

Зависимости степени извлечения катионов натрия от концентраций смешанных растворов и от массовой доли ионообменной смолы в мембране СМН представлены на рис. 4.14.

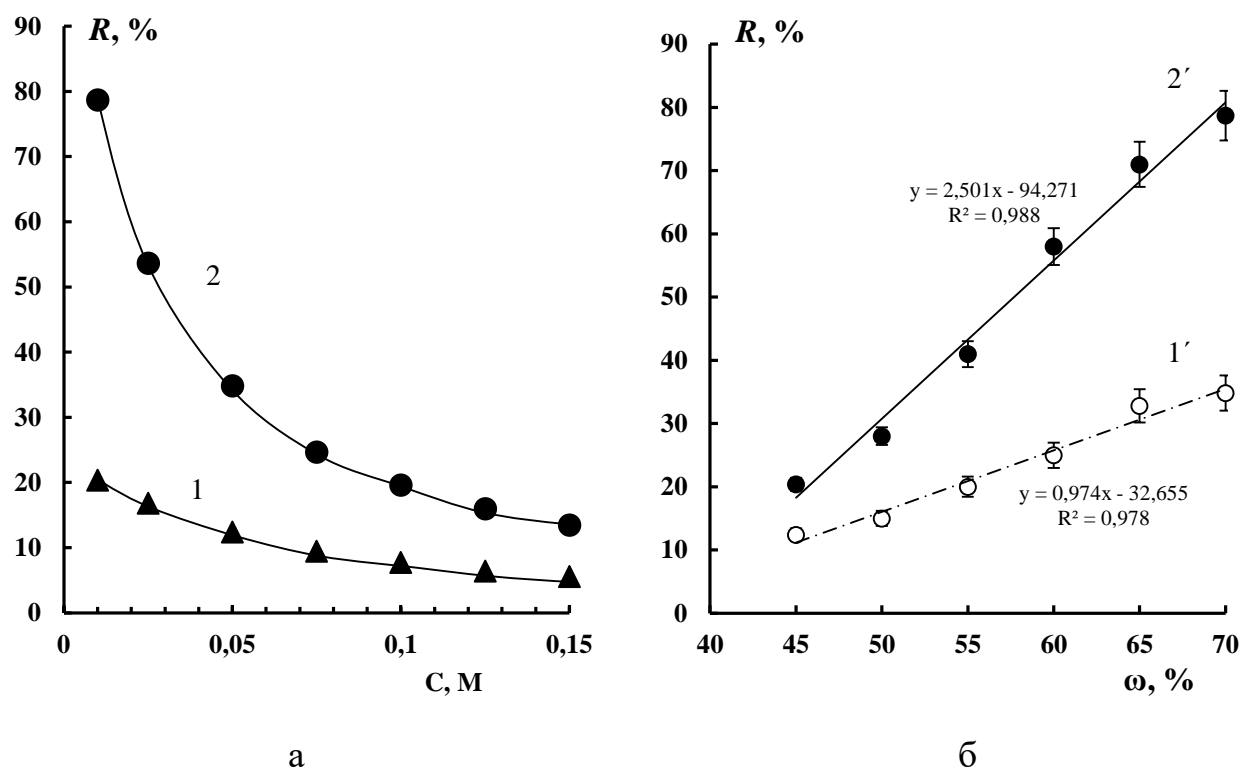


Рис. 4.14. Зависимости степени выделения ионов натрия от концентрации смешанных растворов (а) массовой доли (б) сульфокатионообменной смолы в мембранах СМН при НД смешанных эквимольярных растворов хлорида натрия и фенилаланина. Массовая доля смолы в мембране: 45 (1) и 70 (2) %. Концентрация смешанного раствора: 0.05 (1') и 0.01 (2') М.

Эффективность деминерализации водно-солевых растворов аминокислоты максимальна в области разбавленных растворов и увеличивается с ростом содержания сульфокатионообменника. Степень выделения при концентрации раствора 0.01 М составляла для ионов натрия 80%. При увеличении концентрации раствора в пятнадцать раз установлено уменьшение степени выделения катионов в шесть раз. Низкие значения степени выделения минерального иона при возрастании концентрации смешанного раствора вызваны возникновением стерических затруднений и ростом конкурентного потока аминокислоты. С ростом доли ионообменной смолы в катионообменной мембране от 45 до 70% установлено повышение степени выделения ионов натрия в четыре раза при концентрации деминерализуемого раствора 0.01 М.

Таблица. 4.2. Потери аминокислоты через катионообменные мембраны при НД растворов фенилаланина и хлорида натрия.

C ₀ (Phe)= C ₀ (NaCl), 10 ⁻² М	L, %					
	Массовая доля смолы в мембране СМН, %					
	45	50	55	60	65	70
1.0	0.25±0.01	0.38±0.02	0.56±0.02	0.63±0.02	0.73±0.03	0.76±0.03
2.5	0.24±0.02	0.35±0.02	0.42±0.02	0.52±0.02	0.62±0.02	0.64±0.03
5.0	0.23±0.01	0.30±0.01	0.36±0.02	0.42±0.01	0.48±0.02	0.53±0.02
7.5	0.19±0.02	0.21±0.01	0.25±0.01	0.30±0.02	0.34±0.02	0.37±0.02
10.0	0.16±0.01	0.18±0.02	0.22±0.01	0.26±0.01	0.29±0.01	0.30±0.01
12.5	0.12±0.01	0.16±0.01	0.18±0.01	0.20±0.01	0.23±0.02	0.24±0.02
15.0	0.11±0.01	0.13±0.01	0.16±0.01	0.17±0.01	0.19±0.01	0.21±0.01

Процесс разделения фенилаланина и хлорида натрия характеризуется небольшими потерями аминокислоты *L* из-за преимущественного нахождения аминокислоты в биполярной форме (таблица 4.2). Величины потерь аминокислоты через катионообменную мембрану падают с увеличением концентрации деминерализуемого раствора и возрастают с увеличением массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране.

4.4. Сравнительный анализ параметров эффективности и селективности разделения аминокислоты и минеральной соли нейтрализационным методом с промышленными и экспериментальными мембранами

Сравнительный анализ переноса ионов минеральной соли при НД с применением экспериментальных образцов ионообменных мембран Ralex и коммерческих мембран МК-40 и МА-41 с одинаковым содержанием ионообменной смолы 65% выявил практически одинаковые характеристики эффективности процесса для мембран с идентичными фиксированными группами (рис. 4.15, 4.16).

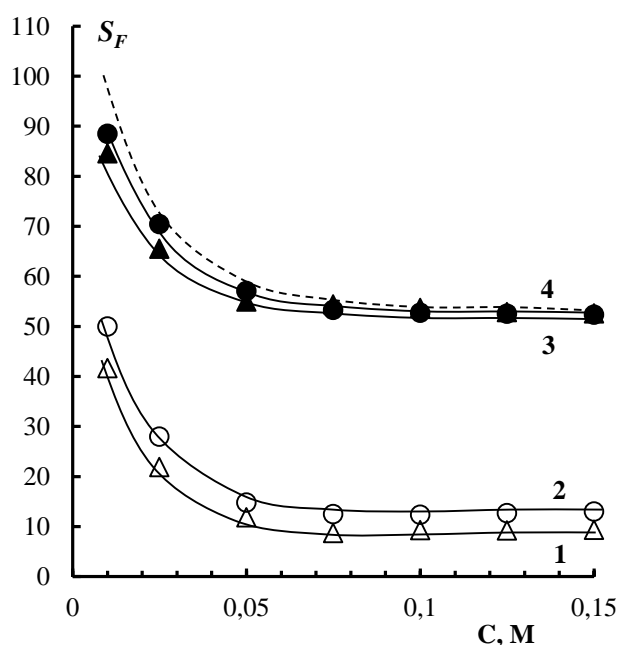


Рис. 4.15. Зависимость фактора разделения хлорида натрия и фенилаланина для мембран АМН (1), МА-41 (2), МК-40 (3) и СМН (4) от концентрации растворов. Штриховая линия – СМН ($\omega=70\%$).

Незначительная разница величин может определяться структурными особенностями ионообменных мембран (пористость, доля ионообменника на поверхности). Однако, повышение массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране СМН до 70% приводит в области разбавленных растворов к росту величин коэффициента разделения и степени выделения на 13% и 15% соответственно.

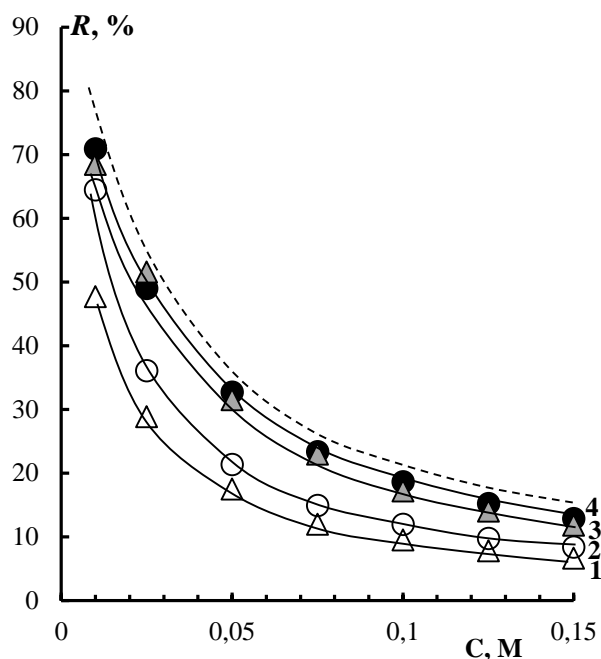


Рис. 4.16. Концентрационные зависимости степени выделения хлорид-ионов (1, 2) и натрия (3, 4) через мембраны с массовой долей ионообменной смолы 65%: МА-41 (1), АМН (2), МК-40 (3) и СМН (4). Штриховая линия соответствует мембране СМН ($\omega=70\%$).

Таким образом, для эффективного разделения смешанных растворов минеральных солей и нейтральной аминокислоты методом нейтрализационного диализа рациональной является переработка разбавленных растворов ($C < 0.05$ М) при использовании мембран СМН с массовой долей ионообменной смолы 70%. Полученные результаты расширяют фундаментальную базу для разработки диализных технологий разделения аминокислот и минеральных солей, а также открывают новые возможности для более широкого внедрения мембранных технологий в промышленность.

ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОМЕМБРАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ НЕЙТРАЛЬНОЙ АМИНОКИСЛОТЫ И МИНЕРАЛЬНЫХ ИОНОВ В СМЕШАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

5.1. Электрохимические характеристики сульфокатионообменных мембран в смешанном растворе хлорида натрия и фенилаланина

Методом вольт-амперометрии изучены особенности электрохимического поведения экспериментальных гетерогенных ионообменных мембран с различной массовой долей сульфированной катионообменной смолы. Исследованы электромембранные системы с индивидуальным раствором NaCl (0.01 М) и со смешанным раствором Phe (0.05 М) и NaCl (0.01 М), моделирующие растворы на стадии деминерализации при получении нейтральных аминокислот методом микробиологического синтеза. На рис. 5.1 представлено сравнение вольт-амперных характеристик образцов катионообменных мембран с различным соотношением смола/полиэтилен в растворе хлорида натрия и в его смешанном растворе с фенилаланином.

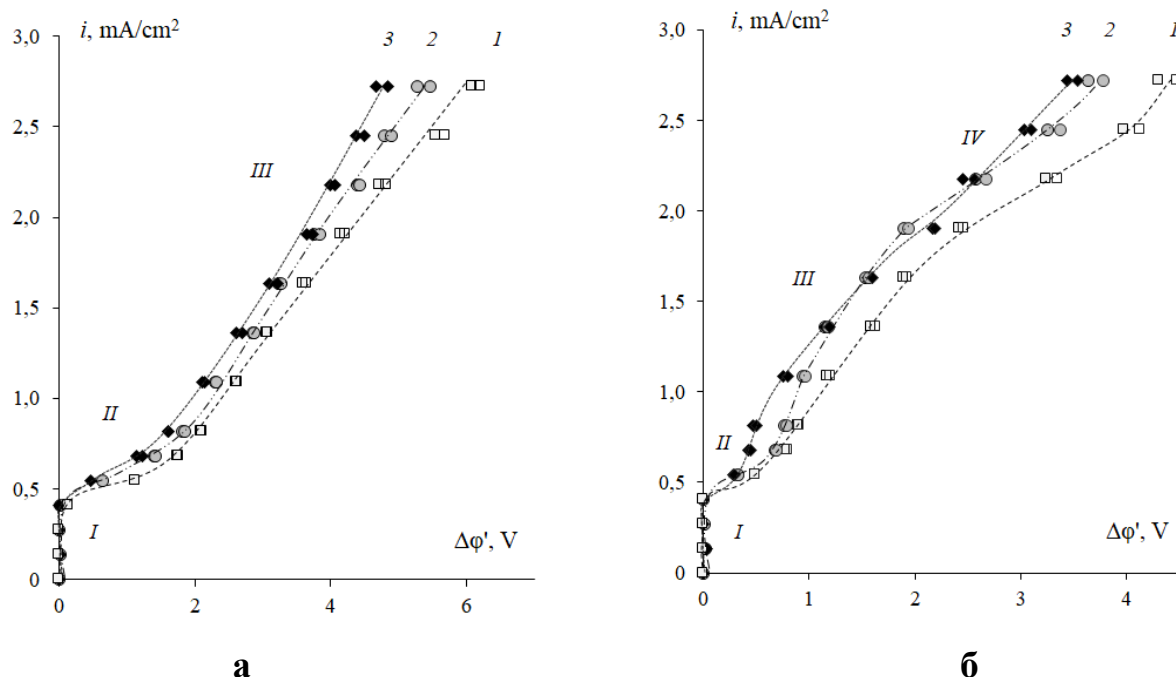


Рис. 5.1. ВАХ мембран с содержанием смолы 45 (1), 55 (2) и 65 (3) % в индивидуальном растворе NaCl (а) и в смешанном растворе NaCl + Phe (б).

В случае сильного раствора электролита (рис. 5.1а) форма экспериментальных ВАХ для всех мембран близка к описанной в [170].

Начальная часть (I) ВАХ, примерно при $i < i_{lim}$, является линейной в координатах $i - \Delta\phi$. Затем имеется наклонная область плато предельного тока (II), начинающаяся при $i \approx i_{lim}$. Область вторичного увеличения тока (III) с ростом потенциала относится к области сверхпредельных токов, где устанавливаются колебания электрического потенциала. При токах $i > i_{lim}$ происходит процесс диссоциации воды на границе мембрана - раствор, перенос ионов H^+ в концентрационный участок и накопление ионов OH^- на поверхности катионообменных мембран. Это соответствует увеличению рН раствора в секции деминерализации и подкислению раствора в секции концентрирования (рис. 5.2). На ВАХ мембран в растворах минеральных солей этим процессам соответствует область наклонного участка плато предельного тока (II).

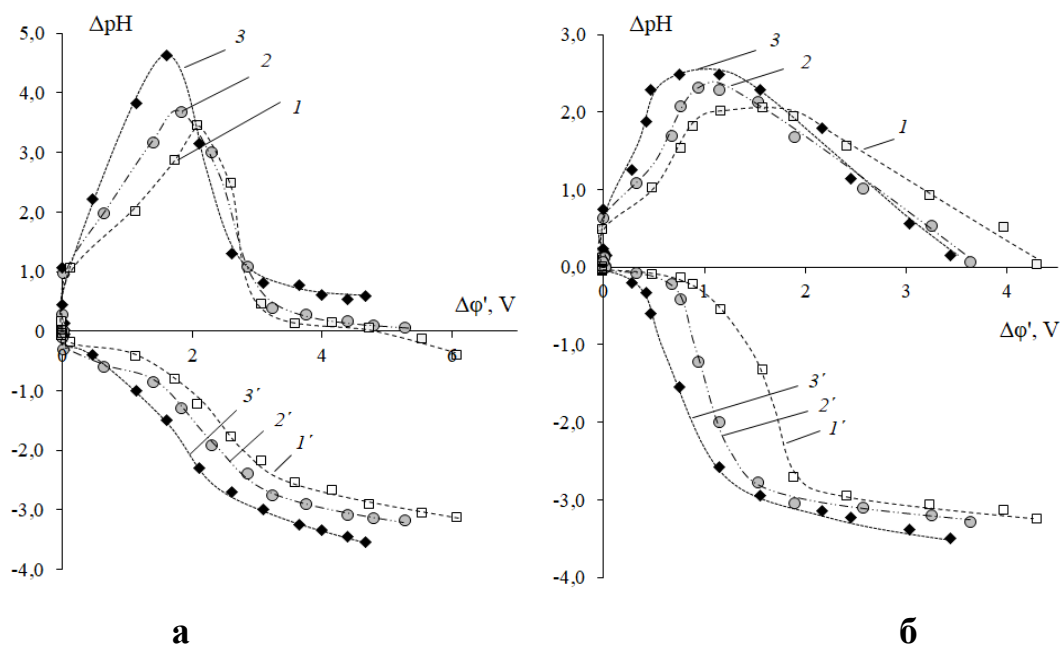


Рис. 5.2. Зависимости ΔpH раствора на выходе и входе секций деминерализации (кривые 1–3) и концентрационной (кривые 1'–3') от приведенного падения потенциала $\Delta\phi'$ при электродиализе раствора хлорида натрия. (а) и смешанный раствор хлорида натрия и фенилаланина (б). Катионообменные мембраны с содержанием смолы 45 (1, 1'), 55 (2, 2') и 65 (3, 3') %.

Максимальные изменения рН растворов как в концентрационной секции, так и в секции деминерализации устанавливаются для мембраны с максимальным содержанием катионообменной смолы. При $\Delta\varphi' = 1.6$ В изменение рН на выходе и входе секции деминерализации при электродиализе раствора хлорида натрия достигает максимума и составляет 4.62. Это в 2 раза выше, чем соответствующее значение для системы со смешанным раствором NaCl + Phe при таком скачке приведенного потенциала.

Меньшие изменения рН в секции деминерализации во время электродиализа смешанного раствора связаны с буферным эффектом из-за участия фенилаланина в реакции протонирования-депротонирования (рис. 5.3).

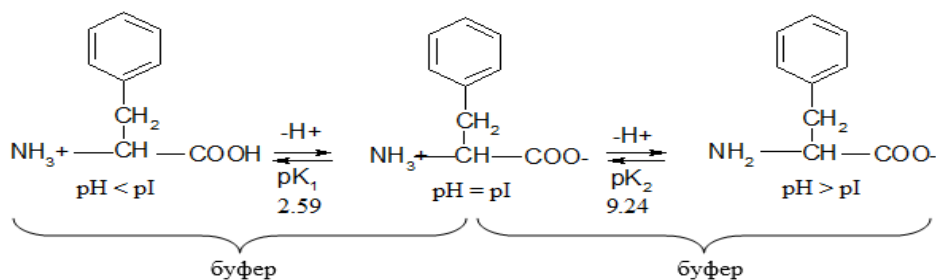


Рис. 5.3. Схема буферного действия фенилаланина при подкислении ($pH < pI$) и подщелачивании ($pH > pI$) раствора.

В растворе секции концентрирования более сильное закисление выявлено в случае смешанных растворов. При этом в системе параллельно протекают два процесса генерации ионов H^+ и OH^- с участием функциональных групп мембраны в секции деминерализации и за счет протолитических реакций аминокислоты в растворе секции концентрирования. Катионы Phe^+ содержатся в деминерализуемом растворе и образуются из-за перезарядки биполярных ионов фенилаланина в сильнокислой среде мембранной фазы. После переноса через мембрану в секцию концентрирования катионы аминокислот переходили в биполярную форму за счет участия в реакции протонирования водой (рис. 5.3). Образующиеся ионы H^+ усиливают эффект подкисления раствора в секции

концентрирования по сравнению с системой, содержащей только минеральную соль.

Форма ВАХ катионообменных мембран, наблюдаемая в смешанном растворе NaCl + Phe (рис. 5.1б), в целом отличается от полученных в растворе NaCl (рис. 5.1а). Начальный участок (I) линейный, как и в случае индивидуального раствора хлорида натрия. Участок I ($i < i_{lim}$) соответствует стадии, когда катионы натрия являются основными носителями тока в электромембранной системе. В этом диапазоне тока незначительный транспорт фенилаланина через катионообменную мембрану происходит за счет диффузионного переноса и за счет электроосмотического механизма (сопряженный перенос аминокислот в гидратной оболочке ионов натрия). Электромиграция катионов аминокислот невелика, так как содержание иона Phe⁺ в исходном растворе составляет 0.06%, что соответствует $C_0(\text{Phe}^+) = 3 \cdot 10^{-5}$ М. В связи с этим наличие аминокислоты в растворе хлорида натрия при $C_0(\text{Phe}) = 5 \cdot C_0(\text{NaCl})$ незначительно влияет на величину предельной плотности диффузионного тока на катионообменной мембране. Значение i_{lim} соответствует предельной плотности диффузионного тока для катионов натрия.

В водно-солевом растворе фенилаланина основные отличия параметров ВАХ мембран по сравнению с раствором хлорида натрия установлены в областях II и III участков ВАХ (рис. 5.1б). Установлено уменьшение длины плато предельного тока для минерального иона и уменьшение сопротивления второго участка R_2 для всех исследуемых мембран в смешанном растворе. Для мембраны с содержанием катионита 45 % выявлено уменьшение длины плато предельного тока в 2.5 раза и сопротивления R_2 в два раза (табл. 5.1).

При $i = i_{lim1}$ концентрация основных носителей тока, таких как катионы Na⁺, на поверхности мембраны может уменьшаться до значений, сравнимых с концентрацией ионов H⁺ (ОН⁻), образующихся в результате диссоциации воды.

Таблица 5.1. Параметры ВАХ мембраны СМН ($\omega = 45\%$) в растворе NaCl (0.01 M) и смешанном растворе NaCl (0.01 M) + Phe (0.05 M).

Раствор	i_{lim1} , мА/см ²	i_{lim2} , мА/см ²	$\Delta\varphi'_{plat1}$, В	R_2 , Ом·см ²	R_3 , Ом·см ²
NaCl	0.39	—	1.71	7730	1890
NaCl+ Phe	0.40	1.76	0.69	3930	1260

Более низкое значение сопротивления R_2 в смешанных растворах связано с тем, что доля тока, переносимого катионами Phe⁺, увеличивается. Более того, появляются дополнительные носители тока. Это ионы H⁺, являющиеся продуктами диссоциации воды. Другая причина - гидрофобизация поверхности мембраны, что создает условия для развития равновесной электроконвекции в устойчивом режиме, аналогичном режиму Духина-Мищука [171]. Изменение гидрофильно-гидрофобного баланса поверхности мембраны происходит за счет адсорбции ароматической аминокислоты с гидрофобными свойствами. Переход в нестационарный режим электроконвекции соответствует области вторичного увеличения тока (III) ВАХ. С повышением гидрофобных свойств поверхности мембраны увеличивается интенсивность нестационарного электроконвективного перемешивания раствора. Следовательно, сопротивление R_3 третьей области на вольт-амперной кривой уменьшается на 50% в присутствии фенилаланина.

Второе отличие состоит в том, что в смешанных растворах ВАХ имеют два наклонных участка плато (II и IV), тогда как в растворе сильного электролита устанавливается только один участок (II). ВАХ показывают наличие i_{lim2} , значения которого превышают значения i_{lim1} . Аналогичное явление было обнаружено для мембран в растворах минеральных и органических амфолитов [172, 173].

На рис. 5.4 показан сравнительный анализ формы ВАХ, изменений рН деминерализованного раствора и соответствующих значений долей аминокислоты в различных ионных формах. Первое наклонное плато и значение i_{lim1} соответствуют состоянию системы, когда концентрация

основных переносчиков, которыми являются катионы натрия, в растворе у поверхности мембраны намного ниже, чем их концентрация в объеме деминерализуемого раствора.

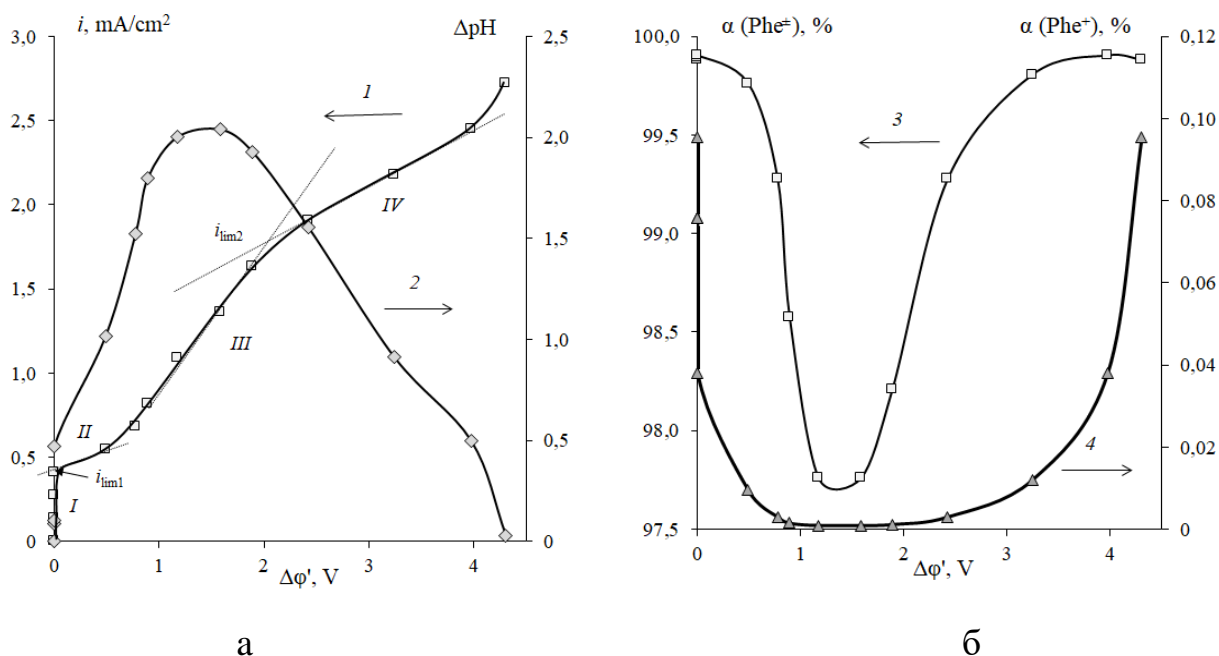


Рис. 5.4. ВАХ (1) и зависимости ΔpH (2) раствора на входе и выходе секции деминерализации (а), доли биполярных ионов (3) и катионов (4) фенилаланина в деминерализуемом растворе (б) от приведённого потенциала на мембране ($\omega = 45\%$) при электродиализе смешанного раствора $NaCl + Phe$.

Причиной появления второго наклонного плато на вольт-амперной кривой является способность фенилаланина как органического амфолита участвовать в протолитических реакциях. Существенное изменение рН смешанного раствора в секции деминерализации при $i > i_{lim}$ влияет на количественное соотношение различных типов носителей тока в растворе. Увеличение количества ионов OH^- на границе мембрана - раствор, участвующих в перезарядке аминокислоты с образованием анионов с увеличением тока, приводит к уменьшению содержания биполярных ионов Phe^\pm и катионов Phe^+ в деминерализуемом растворе, участвующем в передаче тока через мембрану. Появление второго участка плато предельного тока (IV) на ВАХ соответствует минимальному содержанию как катионов Phe^+ , так и

биполярных ионов Phe^{\pm} в растворе секции деминерализации. В области предельной плотности тока $i_{\text{lim}2}$ доля аминокислоты в катионной форме незначительна. Для системы с мембраной, содержащей ионообменной смолы 45% концентрация катионов Phe^+ в растворе составляет $(5-6) \cdot 10^{-7}$ М при общей концентрации аминокислоты $C_0(\text{Phe}) = 0.05$ М.

5.2. Визуализация концентрационного поля и гидродинамических явлений в растворе на границе с катионообменными мембранами.

Известно, что эффективность мембранных процессов в значительной степени определяется скоростью массопереноса через мембраны. Существуют два различных подхода к анализу явлений переноса: *средние величины* и *локальные величины*. Применение средних величин не всегда позволяет продуктивно решать задачи кинетики электродиализа и не даёт понимания сущности процесса. По мнению ведущего аналитика России акад. Ю.А. Золотова одной из перспективных задач в области аналитической химии является развитие локальных (распределительных), непрерывных и неразрушающих методов анализа [174]. Локально-распределительный анализ позволяет понять механизм процесса и дать практические рекомендации для конструирования эффективных электродиализаторов. Задачей настоящего подраздела явилось измерение концентрационных профилей в растворах на межфазной границе с ионообменными экспериментальными мембранами Ralex СМН в секции деминерализации электродиализатора в гальваностатическом режиме методом лазерной интерферометрии.

На рис. 5.5 представлены интерференционные картины в растворе хлорида натрия в секции деминерализации при использовании экспериментальной катионообменной мембраны с содержанием смолы 65% при разных значениях плотности тока. В отсутствие электрического поля полосы интерференционной картины параллельны, в виде прямых эквидистантных линий, перпендикулярных поверхности мембран, так как,

отсутствует концентрационного градиента (рис. 5.5а). Как только включается в системе электрический ток, каждая интерференционная полоса начинает постепенное смещение у поверхности мембран, пропорциональное изменению концентрации и представляет реальный концентрационный профиль (рис. 4.2б). Установлено, что с увеличением величины наложения на систему электрического поля увеличивается перенос ионов электролита через ионообменные мембраны и начинается смещение интерференционных полос. До величины предельного диффузионного тока на катионообменной мембране $i_{lim}=0.45$ мА/см², выявлен стационарный характер концентрационного распределения (рис.5.5 б, г). При плотности тока выше $1.5 i_{lim}$ концентрационный профиль приобретает нестационарный колебательный характер (рис.5.5 в).

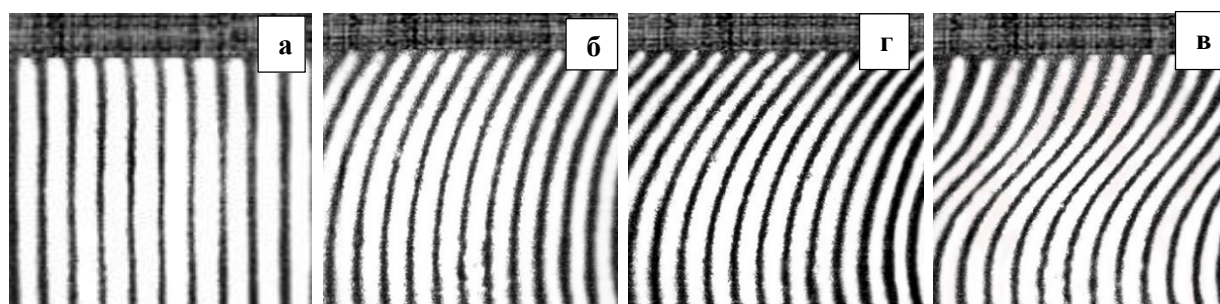


Рис. 5.5. Интерферограммы в растворе хлорида натрия в секции деминерализации на границе с мембраной СМН ($\omega =65\%$) при безразмерной плотности тока i/i_{lim} : 0.6 (а), 1.2 (б), 2.4 (г), 4.1 (в); $C_0(\text{NaCl})=1.0 \cdot 10^{-2}$ М.

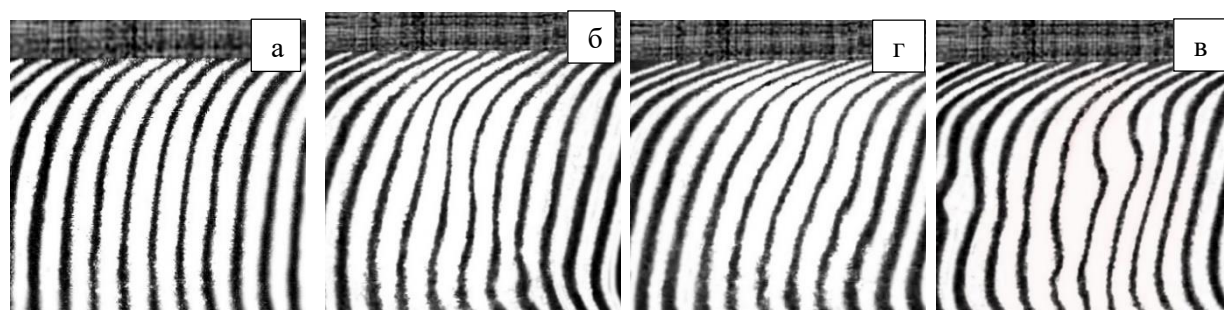


Рис. 5.6. Интерферограммы раствора фенилаланина в секции деминерализации на границе с мембраной СМН ($\omega =65\%$) при плотности тока: 0.27 (а), 0.54 (б), 0.81 (г), 1.08 (в) мА/см²; $C_0(\text{Phe})=5.0 \cdot 10^{-2}$ М, $h=2 \cdot 10^{-3}$ м.

Визуализированы концентрационные изменения в индивидуальном растворе нейтральной аминокислоты фенилаланина на границе с катионообменной мембраной в широком диапазоне токов. На рис. 5.6 представлены интерференционные картины в индивидуальном растворе фенилаланина концентрации 0.05 М в секции деминерализации на границе катионообменной мембран с содержанием смолы 65% при разных значениях плотности тока.

На рис. 5.7а представлены концентрационные профили, полученные по оцифровке интерференционных картин в растворе хлорида натрия концентрации 0.01 М у границы с экспериментальной сульфокатионообменной мембраной СМН ($\omega=65\%$) при разных значениях плотности тока.

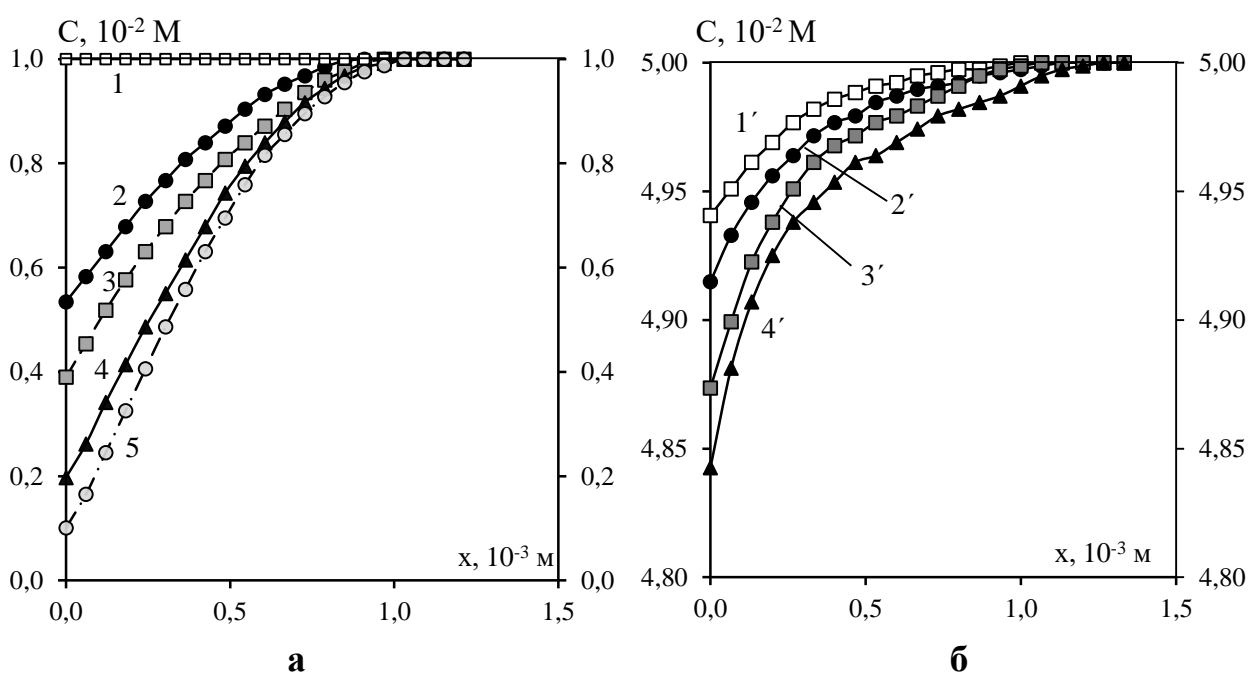


Рис. 5.7. Концентрационные профили в растворе хлорида натрия (а) и фенилаланина (б) на границе с СМН ($\omega =65\%$) при плотности тока: 0 (1, 1'), 0.27 (2, 2'), 0.40 (3, 3'), 0.54 (4, 4') и 0.68 (5) мА/см². $C_0(\text{NaCl})=1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $C_0(\text{Phe})=5.0 \cdot 10^{-2}$ М, $V=3.5 \cdot 10^{-4}$ м/с, $h=2 \cdot 10^{-3}$ м.

Установлено уменьшение поверхностной концентрации с ростом тока. Увеличение электрического тока до 0.27 мА/см² вызывает снижение концентрации электролита в растворе у поверхности мембраны на 50%. При

плотности тока 0.68 mA/cm^2 поверхностная концентрация уменьшается на 90%.

Отличительной особенностью транспорта аминокислоты является наличие градиента концентрации при отсутствии каких-либо градиентов электрического потенциала (рис. 5.76). Это указывает на интенсивную молекулярную диффузию фенилаланина в раствор секции концентрирования, не содержащий аминокислоту. С ростом плотности тока наблюдается увеличение градиента концентрации и снижение локальной концентрации у поверхности катионообменной мембраны. Следует отметить, что начальная величина pH раствора фенилаланина концентрации 0.05 M составляет 5.70. Этой величине соответствует содержание в растворе биполярной, катионной и анионной форм аминокислоты 99.89% (Phe^\pm), 0.08% (Phe^+) и 0.03% (Phe^-), соответственно. Концентрации катионов и анионов фенилаланина составляли соответственно 3.79×10^{-5} и $1.44 \times 10^{-5} \text{ M}$, что обеспечивало миграцию фенилаланина через ионообменные мембраны. Незначительно изменение поверхностной концентрации аминокислоты можно объяснить тем, что при $\text{pH} = 5.70$ большинство молекул фенилаланина существует в виде биполярной формы $C(\text{Phe}^\pm) = 4.98 \cdot 10^{-2} \text{ M}$. В процессе электродиализа происходит закисление среды до величин pH раствора = 4.49. При этом концентрация катионов фенилаланина увеличивается в 15 раз, что приводит к увеличению градиента концентрации аминокислоты и уменьшению её поверхностной концентрации.

Влияние содержания ионообменника в мембране на распределение концентрации веществ в растворе. Применение мембран с разным содержанием ионообменной смолы при электродиализе раствора индивидуального минерального электролита приводит к изменению и локальных характеристик концентрационных профилей. Изменение поверхностной концентрации электролита на границе с ионообменной мембраной является функцией плотности тока. Считается, что при предельном диффузионном токе поверхностная концентрация стремится к нулю.

Полученная методом лазерной интерферометрии информация выявила достаточно высокий уровень C_s в примембранном слое катионообменных мембран. Развитие конвективных течений и установления колебательного характера концентрационного поля на межфазной границе являлось одной из причин того, что предельный ток не соответствовал максимальной скорости массопереноса. Процессы электропереноса вызывают уменьшение поверхностной концентрации хлорида натрия на межфазной границе с ростом тока. Однако электроконвективные потоки доставляет свежие порции раствора из середины канала и поэтому вслед за падением величины приповерхностной концентрации электролита начинается её рос.

Установлено, что с ростом тока величины концентрации вблизи поверхности мембраны с содержанием смолы 70% были меньше по сравнению с мембраной, содержащей 45% смолы только до величины превышающей предельный диффузионный ток в 1.7 раз (рис. 5.8).

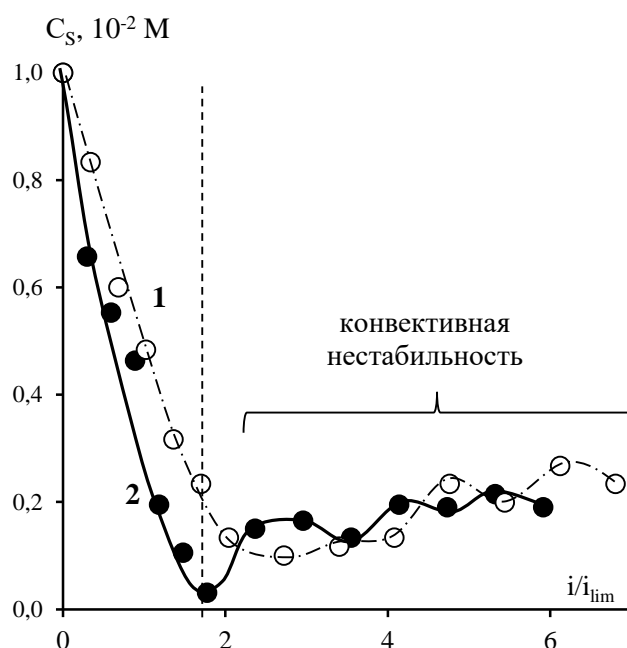


Рис. 5.8. Влияние плотности тока на величину поверхностной концентрации для мембран СМН 45(1) и 70% (2) в растворе хлорида натрия. $C(NaCl)=0.01$ М.

Экспериментальные значения токов, соответствующих минимальному значению величин поверхностной концентрации электролита составляли 1.08

и 0.82 mA/cm^2 для мембраны с содержанием ионообменника 45 и 70%, соответственно. Предельные диффузионные токи составляли для мембраны ($\omega=45\%$) 0.40 mA/cm^2 , а для мембраны ($\omega=70\%$) 0.46 mA/cm^2 . При плотности тока $1.7 i_{lim}$ локальная концентрация у поверхности катионообменной мембраны СМН ($\omega=70\%$) составляет $3.0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, а у мембраны СМН ($\omega=45\%$) – $2.3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, т. е. концентрация на поверхности мемbrane с содержанием ионообменника 45% превышала в 7.5 раза соответствующую величину для мембраны с максимальным содержанием смолы (рис. 5.8).

Таким образом, в диапазоне токов $0 < i < 1.5 i_{lim}$ концентрационное поле имело стационарный характер. Однако, при токах выше $1.5 i_{lim}$ наблюдается появление флуктуаций интерференционных полос и возникновение нестационарного колебательного концентрационного профиля у мембраны. Появление турбулентных пульсаций скорости из глубины раствора к поверхности мембраны, вызывающих доставку дополнительного количества вещества на межфазную границу, приводит к увеличению поверхностной концентрации C_s по сравнению с ее значениями в области токов, соответствующих ламинарному гидродинамическому режиму. Это вызвано более развитым электроконвективным перемешиванием раствора на межфазной границе мембрана/раствор.

Прямым доказательством более развитой электроконвекции в растворе на границе с мембраной ($\omega=70\%$) являются нестационарный характер интерференционной картины и результаты измерения толщины области электроконвективной неустойчивости (рис. 5.9) методом лазерной интерферометрии. Во всем исследуемом диапазоне потенциала установлен большой размер области конвективной неустойчивости в растворе на границе с мембраной с максимальным содержанием ионообменника по сравнению с их значениями для мембраны с минимальным содержанием смолы (рис. 5.9).

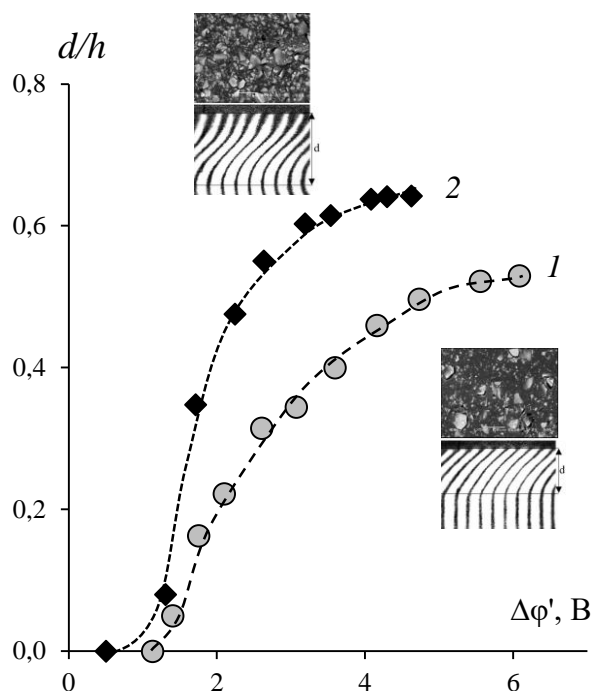


Рис. 5.9. Зависимости толщины области конвективной неустойчивости от величины скачка приведённого потенциала при электродиализе раствора хлорида натрия. Содержание ионообменника в мембране, %: 45 (1), 70(2).

Максимальная разница величин наблюдается в интенсивных токовых режимах, где более интенсивно протекает электроконвекция. Установленный эффект объясняется увеличением почти в два раза доли проводящих частиц ионообменника на поверхности мембраны при повышении содержания ионообменной смолы в мембране от 45 до 70%.

5.3. Спектральные свойства флуктуаций концентрационного поля в растворе хлорида натрия при высокоинтенсивных токовых режимах электродиализа

Исследование флуктуационной динамики концентрационного профиля (интерференционной полосы) в мембранных системах в запредельном состоянии, позволило получить информацию о интенсивности массопереноса и особенностях гидродинамических потоков на межфазной границе мембрана – раствор. Методом лазерной интерферометрии проведён *in situ* локально-

распределительный анализ флуктуаций нестационарного концентрационного профиля в растворе на границе экспериментальных катионообменных мембран с разным содержанием ионообменника при устойчивой стратификации системы.

Нестационарное концентрационное поле при высокоинтенсивных токовых режимах электродиализа. При электродиализе раствора хлорида натрия в области относительно низких токов концентрационный профиль на границе мембрана-раствор имел стационарный характер. При плотности тока $i/i_{lim} > 1.5$ были визуализированы флуктуации интерференционных полос и проявление нестационарного колебательного характера концентрационного профиля в растворе на границе с катионообменной мембраной (рис. 5.10).

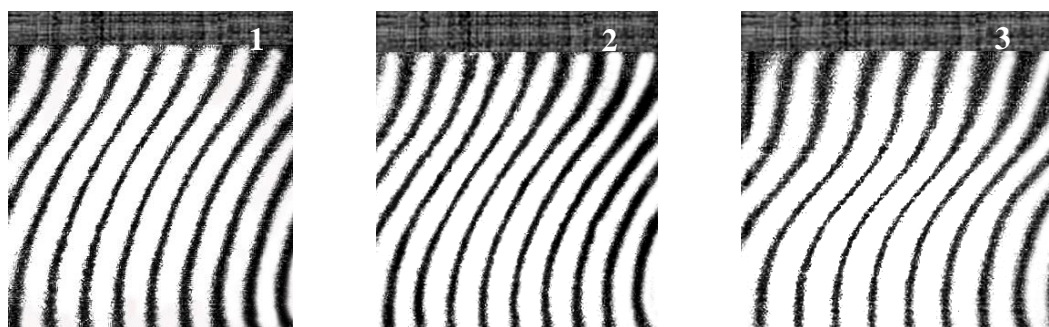


Рис. 5.10. Интерферограммы в растворе на границе с катионообменной мембраной с содержанием смолы 45 (1), 55 (2) и 70 (3) % при приведенном скачке потенциала $\Delta\varphi' = 3.1$ В; $C_0(\text{NaCl}) = 1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $V = 3.5 \cdot 10^{-4}$ м/с, $h = 2 \cdot 10^{-3}$ м.

Мгновенное изменение приповерхностной концентрации, выражающееся в смещении интерференционной полосы в растворе на границе с мембраной относительно средней величины \bar{S} , принимало как положительные, так и отрицательные значения (рис.5.11). В результате проведённых исследований было установлено возрастание амплитуды колебаний величин локальной концентрации по мере увеличения плотности тока или скачка потенциала на мембране.

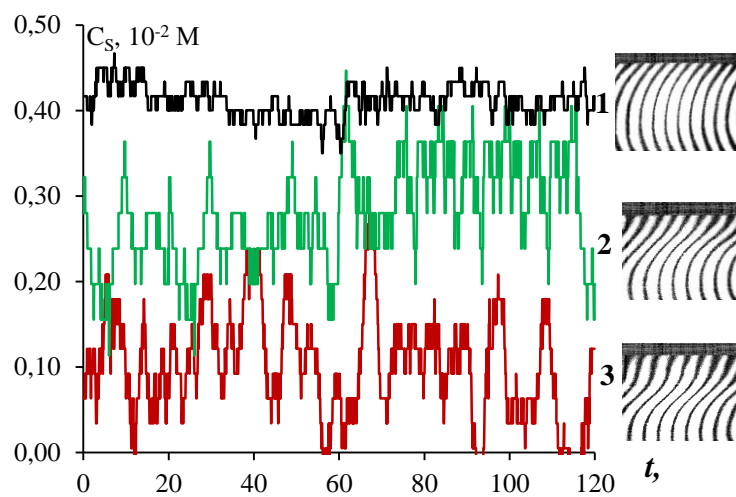


Рис. 5.11. Изменение локальной концентрации хлорида натрия во времени в растворе на границе с мембраной СМН ($\omega = 70\%$) при приведенном скачке потенциала $\Delta\varphi'$, В: 0.04 (1), 2.2 (2), 3.1 (3) В; $C_0(\text{NaCl})=1.0 \cdot 10^{-2}$ М.

Для исследуемых образцов мембран с разным содержанием смолы установлены заметные различия флуктуационной динамики локальной концентрации (рис.5.12).

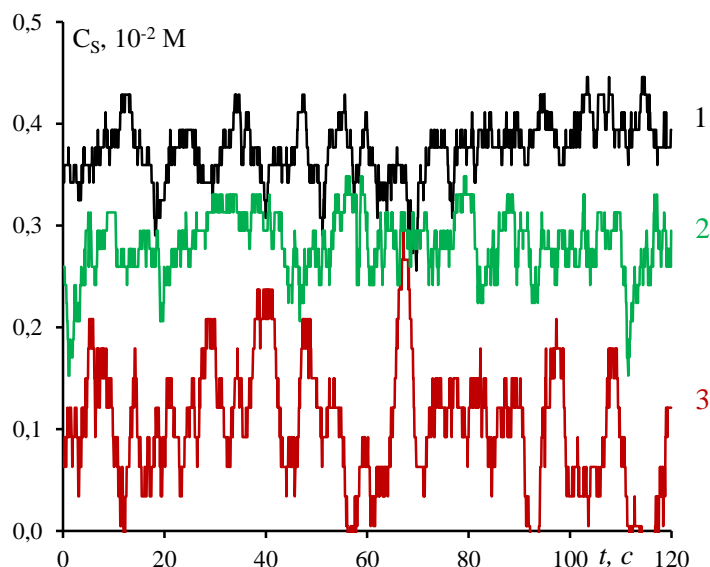


Рис. 5.12. Флуктуации локальной приповерхностной концентрации хлорида натрия во времени в растворе на границе с катионообменной мембраной с содержанием смолы 45% (1), 55% (2) и 70% (3) при приведенном скачке потенциала $\Delta\varphi'=3.1$ В; $C_0(\text{NaCl})=1.0 \cdot 10^{-2}$ М.

При скачке приведенного потенциала $\Delta\varphi'=3.1$ В амплитуда колебаний приповерхностной концентрации для мембраны с содержанием смолы 70%

превышала более чем в два раза её значение для образца с массовой долей ионообменника 45%. Данный факт свидетельствует о том, что увеличение содержания ионообменной смолы в катионообменной мембране способствует интенсификации электроконвекции.

Сигнал-шум в электромембранной системе. Точность измерительной системы, а вместе с ней и сигналов и функций сигналов, полученных инструментальными аналитическими методами, характеризуется отношением сигнал/шум S/N . Современные аналитические методы, такие как спектрометрия и хроматография, все в большей степени используют S/N для оценки предела обнаружения [175]. При низкой частоте шум может перекрываться с сигналом, вследствие чего последний может стать трудноразличимым. Скрытые сигналы могут быть обнаружены путем улучшения экспериментальной техники или применения хемометрических процедур для улучшения разрешения сигнала и / или отношения сигнал/шум. В аналитической химии отношением сигнал-шум определяется по формулам [176]:

$$\frac{S}{N} = \frac{\bar{X}_S - \bar{X}_N}{s(\Delta X)} \quad (5.1)$$

$$s^2(\Delta X) = \left[\frac{1}{N_S - N_N - 2} \right] \left(\frac{1}{N_S} + \frac{1}{N_N} \right) [s_S^2(N_S - 1) + s_N^2(N_N - 1)] \quad (5.2)$$

где \bar{X}_S – среднее значение величины сигнала; \bar{X}_N – среднее значение величины шума; N_S – число измерений сигнала; N_N – число измерений шума; s_S^2 – дисперсия сигнала; s_N^2 – дисперсия шума.

Сравнение величин соотношения S/N рассчитанных по (5.1) для экспериментальных мембран представлено на рис.5.13. Установлено уменьшение величины S/N с повышением плотности тока (рис.5.13а).

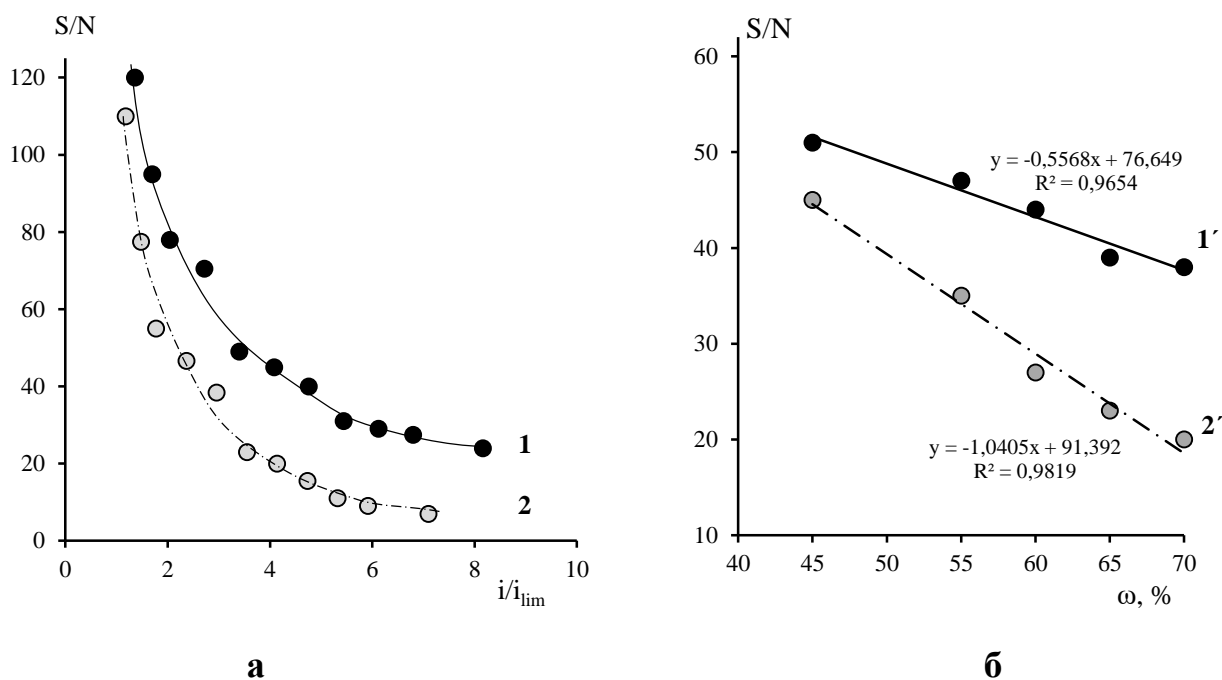


Рис. 5.13. Влияние плотности тока (а) и массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране (б) на соотношение сигнал-шум при измерении локальной концентрации хлорида натрия у поверхности мембран СМН с долей смолы 45(1) и 70 (2) % при $i/i_{lim}=3.1$ (1') и 4.2 (2')

Это объясняется увеличением флуктуаций величин локальной концентрации хлорида натрия с ростом тока вследствие увеличения интенсивности электроконвективного перемешивания раствора на межфазной границе. Снижение величин S/N с возрастанием тока является доказательством роста массопереноса ионов через мембраны по электроконвективному механизму [177]. Экспериментальные данные соотношения сигнал-шум, представленные в виде билогарифмической зависимости S/N от безразмерной плотности тока, выявили линейный вид с коэффициентами корреляции в диапазоне от 0.989 до 0.998 (таблица 5.2).

Таблица. 5.2. Коэффициенты корреляции соотношения $lg(S/N) = a+b \cdot lg(i/i_{lim})$ для мембран СМН с разным содержанием ионообменника ω .

$\omega, \%$	$a \pm \Delta a$	$b \pm \Delta b$	r
45	2.19 ± 0.02	-0.91 ± 0.03	0.994
55	2.17 ± 0.01	-0.99 ± 0.02	0.998
70	2.18 ± 0.04	-1.51 ± 0.07	0.989

Уменьшение значения параметра b с ростом содержанием ионообменника свидетельствует о росте флуктуаций локальной концентрации хлорида натрия вследствие развития электроконвективного перемешивания на межфазной границе. Изменение величин S/N с разной массовой долей ионообменника в экспериментальных образцах мембран показывают более значительную шумовую составляющую сигнала для мембраны с максимальным содержанием ионообменника (рис.5.13б).

На рис. 5.14 представлена спектральная плотность мощности шума (взаимосвязь между мощностью P и частотой f шума), для экспериментальных образцов мембран СМН.

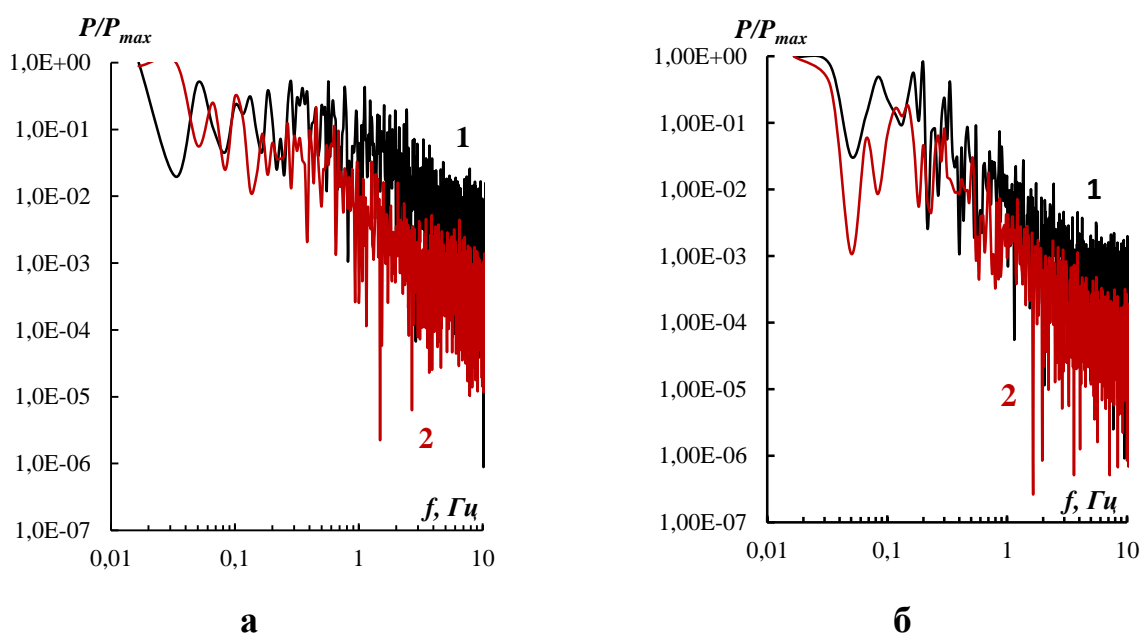


Рис. 5.14. Спектральная плотность мощности флуктуаций локальной концентрации у поверхности катионообменных мембран СМН с содержанием ионообменника 45 (1) и 70 (2) % при приведенном скачке потенциала $\Delta\varphi'$ 1.7 (а) и 3.1 (б) В.

График зависимости логарифма спектральной плотности мощности (lgP) от логарифма частоты (lgf) имел характерную «фликкер-шумовую» зависимость и позволяет определить количественную характеристику шума (параметр n), усреднённого по всему времени записи колебательного процесса локальной концентрации.

Установлено, что колебания локальной концентрации на границе мембрана – раствор характеризуются функцией спектральной плотности мощности шума, форма которой зависит от плотности тока. До достижения величины предельного диффузионного тока значение параметра $n \approx 0$ и шум имеет практически одинаковую мощность на всех частотах (белый шум). Этот тип шума предполагается в большинстве методов анализа данных. Данные по анализу флуктуаций интерференционной полосы при токах $i > 1.5 i_{lim}$ подтверждают изменение значений параметра шума n с ростом плотности тока в электромембранной системе.

В рамках концепции фликкер-шумовой спектроскопии (ФШС), увеличение количественного параметра n в спектре мощности флуктуаций интерференционных полос с ростом плотности тока отражает постепенный переход характера движения жидкости на межфазной границе от ламинарного к предельно турбулизованному [178]. Максимальное значение $n = 3.0$ для показателя степени в спектре мощности шума характеризует хаотическое объемное турбулентное перемешивание раствора.

Исследование спектрального состава колебаний приповерхностной концентрации выявило увеличение наклона участка спектра и возрастание его количественного показателя n с ростом скачка потенциала для всех экспериментальных образцов мембран (рис. 5.15а).

Методом ФШС получены также доказательства влияния доли проводящей фазы в мембране на флуктуационную динамику приповерхностной концентрации хлорида натрия вследствие развития электроконвективной неустойчивости. Сравнение величин показателя n флуктуаций приповерхностной концентрации при использовании мембран СМН с разным содержанием ионообменника при величине приведенного скачка потенциала $\Delta\varphi' = 3.1$ В приведено на рис. 5.15б.

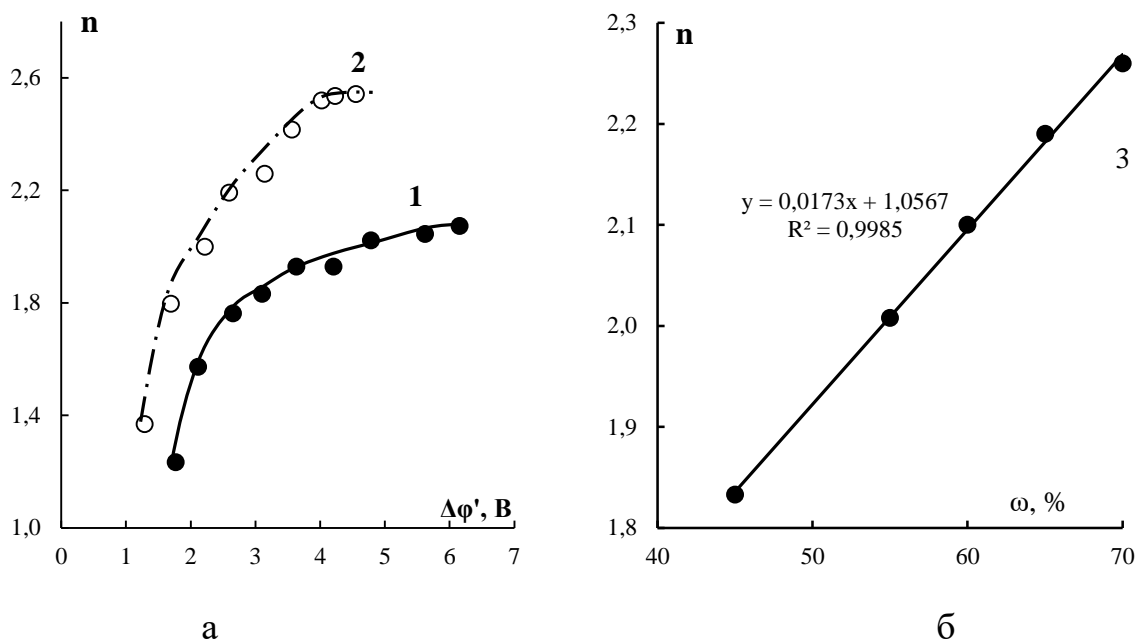


Рис. 5.15. Влияние приведенного скачка потенциала (а) и массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране (б) на параметр n спектральной мощности флуктуаций локальной концентрации у поверхности мембраны СМН. Массовая доля смолы, %: 45(1) и 70 (2). Приведённый потенциал: $\Delta\varphi' = 3.1$ В (3).

Показано, что с увеличением содержания ионообменника, шумовая составляющая аналитического сигнала возрастает из-за усиления интенсивности электроконвективной неустойчивости на границе с мембраной. Максимальная степень турбулизованности раствора была обнаружена у поверхности мембраны с содержанием ионообменника 70%. Анализ полученных спектров мощности шума и сравнение рассчитанных значений параметра n позволили выявить, что с ростом содержания ионообменной смолы в мембране от 45 до 70% происходило увеличение шумовых характеристик локальной концентрации (параметра n) на 25%, что является прямым доказательством более интенсивного перемешивания раствора на границе с мембраной, содержащей 70% ионообменника.

Расширить возможности обработки сложных сигналов позволяет совершенствование старых (Фурье-анализ) и развитие новых (Вейвлет-анализ) методов спектрального анализа. Анализ частотных составляющих шума в

исследуемых электрохимических системах, проведённый методом Вейвлет-анализа, был использован для получения информации о динамике протекающих процессов. Результаты выделения индивидуальных частотных спектров флуктуации поверхностной концентрации представлены на рис. 5.16.

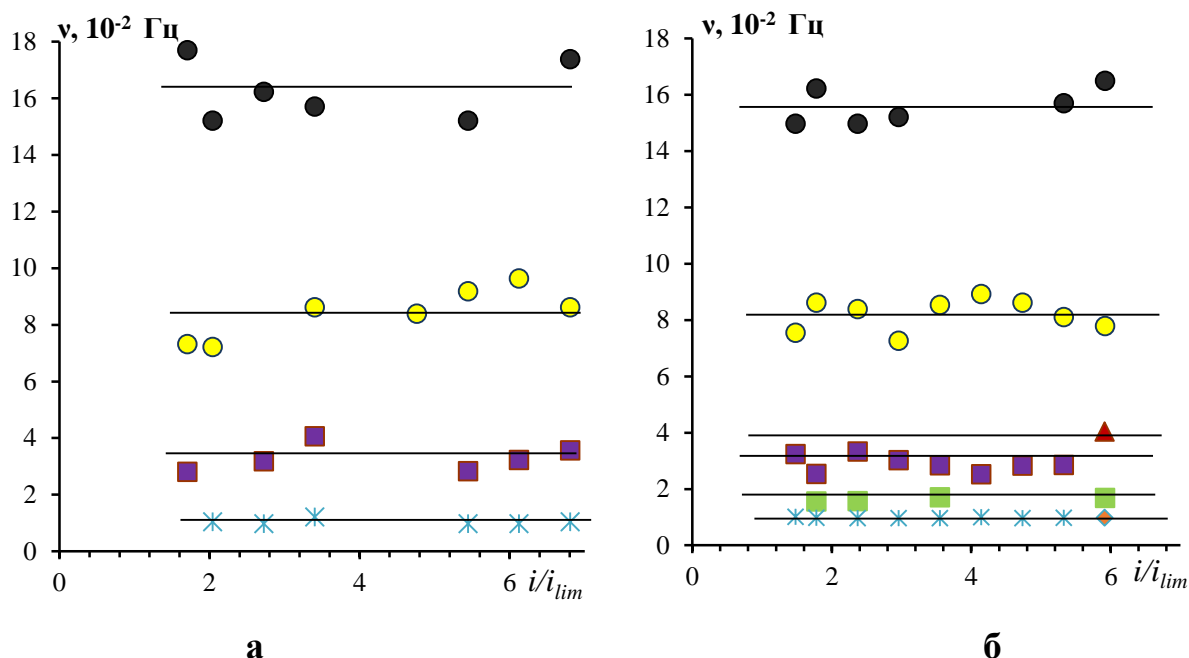


Рис. 5.16. Частотная составляющая шума, полученная методом Вейвлет-преобразования флуктуаций интерференционной полосы в растворе на границе с катионообменной мембраной с содержанием смолы 45% (а) и 70% (б) в $1,0 \cdot 10^{-2}$ М растворе хлорида натрия.

Показано, что использование катионообменной мембраны с максимальным содержанием ионообменной смолы приводит к усилению шумовой составляющей сигнала. Об этом свидетельствовал больший набор частот в области 10^{-2} - 10^{-1} Гц для мембраны с содержанием смолы 70% и их фиксированное положение при монотонном изменении кратности превышения предельного тока. Установленные низкочастотные флуктуации концентрационного поля соответствуют именно конвективному характеру колебательной неустойчивости [179]. Физически это означает, что возникающие колебания можно рассматривать как колебания внутренних волн [180].

5.4. Влияние массовой доли ионообменной смолы в мембране на характеристики процесса электродиализного разделения фенилаланина и хлорида натрия.

Транспорт компонентов через ионообменные мембраны из смешанных растворов. Изучение потоков минеральной соли и аминокислоты при электродиализе их смешанного раствора является важным для установления особенностей процессов, протекающих при взаимодействии или взаимовлиянии всех компонентов в электромембранной системе. Нами были получены зависимости потоков ионов минеральной соли через исследуемые мембраны от плотности тока (рис. 5.17).

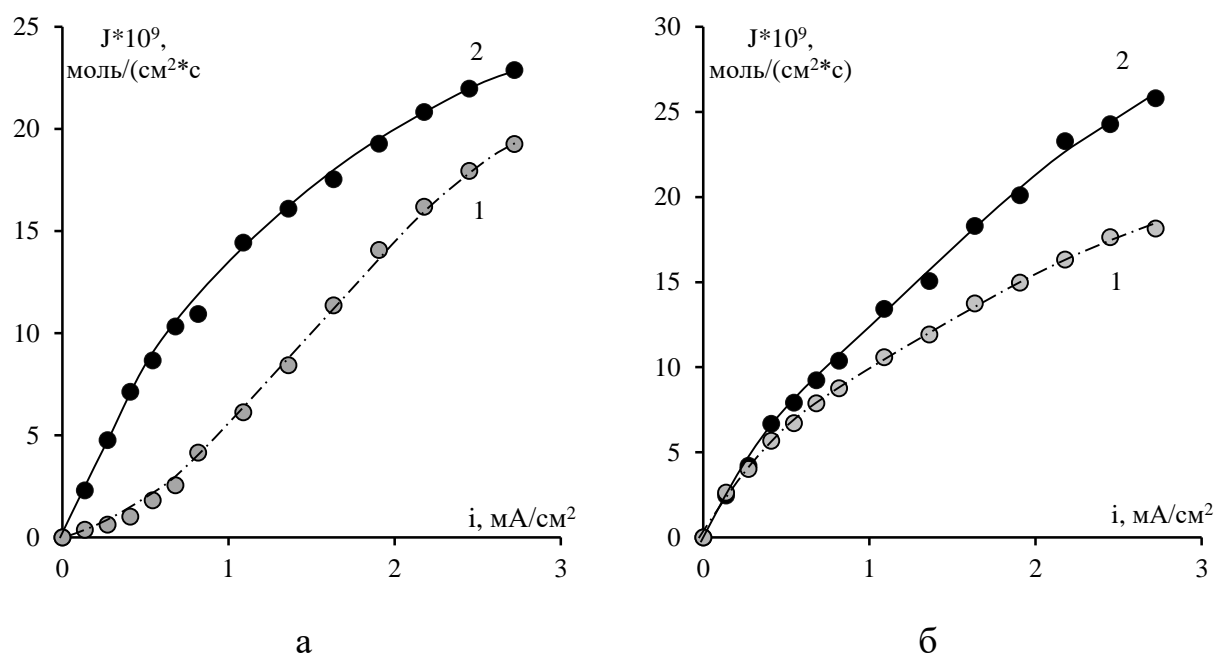


Рис. 5.17. Сравнение потоков ионов натрия (а) и хлорид-ионов (б) через катионообменную (1, 1') и анионообменную мембраны (2, 2') ($\omega=65\%$) от плотности тока при электродиализе индивидуального раствора NaCl (1, 2) и смешанного раствора NaCl + Phe (1', 2').

При анализе потоков ионов минерального электролита через мембраны установлено влияние наличия аминокислоты в растворе на массоперенос ионов при плотности тока. Во всём исследуемом диапазоне токов массоперенос ионов натрия из смеси с фенилаланином больше по сравнению

с индивидуальным раствором. Этот эффект обусловлен гидрофобизацией поверхности мембраны и образованием микроконвективных течений в смешанном растворе при токах меньше предельной величины.

На рис. 5.18 показано влияние плотности тока на транспортные характеристики экспериментальных сульфокатионообменных мембран при электродиализе смешанного раствора аминокислоты и минеральной соли. Сравнительный анализ потоков ионов натрия при электродиализе смешанного раствора выявил увеличение массопереноса с ростом содержания сульфокатионообменной смолы в мембранах (рис. 5.18а).

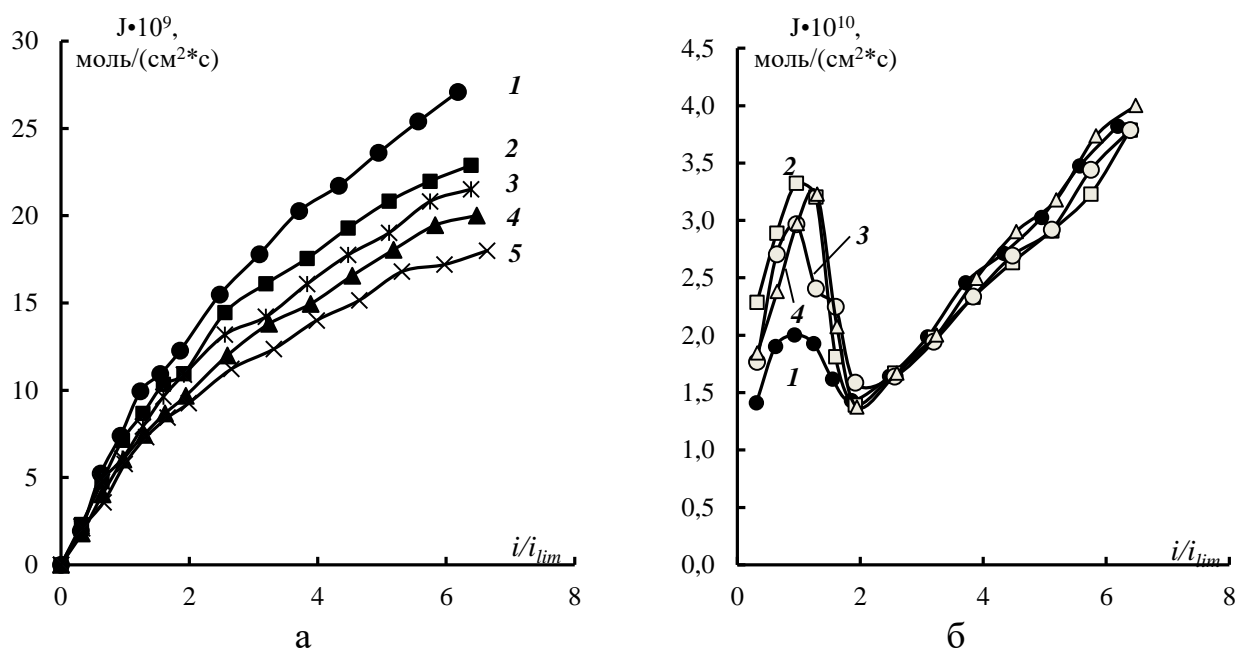


Рис. 5.18. Зависимости потоков ионов натрия (а) и фенилаланина (б) от безразмерной плотности тока через экспериментальные мембраны с массовой долей сульфокатионообменной смолы 70 (1), 65 (2), 60 (3), 55 (4) и 45 (5) %.

До достижения величин предельного диффузионного тока потоки ионов натрия различаются незначительно. Максимальное отличие наблюдается в области сверхпредельных токовых режимов, где доминирующим механизмом транспорта компонентов является электроконвекция. Установлена линейная корреляция между величинами потоков катионов минеральной соли и массовой долей ионообменной смолы (рис. 5.19).

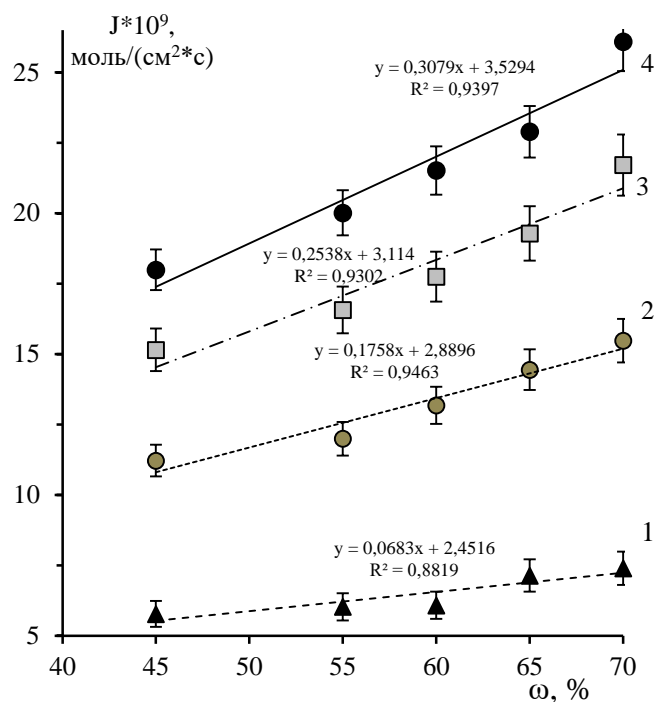


Рис. 5.19. Влияние массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране на поток ионов натрия. i/i_{lim} : 1.02 (1), 2.72 (2), 4.76 (3), 6.80 (4).

С повышением в мембране содержания ионообменника от 45 до 70 % поток ионов натрия увеличивается в полтора раза при превышении величины предельного диффузионного тока в шесть раз.

Особенностью переноса фенилаланина через мембрану при электродиализе является наличие максимума на зависимости потока аминокислоты от плотности тока (рис. 5.18б). К ограничению потока аминокислоты через мембрану приводит перезарядка ионов амфолита, вызванная локальным изменением рН на межфазной границе при превышении предельной диффузионной плотности тока (барьерный эффект) [181]. До достижения величины предельного диффузионного тока i_{lim} по ионам натрия на катионообменной мембране незначительный перенос аминокислоты происходит вследствие электромиграции катионов аминокислоты, диффузионного переноса и электроосмотического механизма за счет сопряженного переноса аминокислоты в гидратной оболочке ионов натрия. При токах $i > i_{lim}$ происходит процесс диссоциации воды на границе

мембрана–раствор и транспорт аминокислоты через катионообменную мембрану снижается из-за барьерного действия при мембранных слоёв раствора с высоким значением рН на межфазной границе. Дальнейший рост массопереноса аминокислоты в работах [181, 182] объясняется эффектом облегченной электромиграции, обусловленным сопряженным транспортом аминокислоты с ионами-продуктами диссоциации воды. При превышении величины предельного диффузионного тока в два раза на катионообменной мембране установлен рост массопереноса фенилаланина (рис. 5.18б).

Электроконвекция является эффектом, который не только вызывает значительное увеличение массопереноса, но также приводит к снижению скорости диссоциации воды [183]. Это воздействие объясняется тем, что увеличение электроконвективного перемешивания примыкающего к мембране слоя раствора приводит к увеличению концентрации ионов минеральной соли выше критического значения, при котором начинается генерация ионов H^+ и OH^- на межфазной границе. Уменьшение вследствие развития электроконвекции количества ионов гидроксила, образующихся при диссоциации воды на межфазной границе с катионообменной мембраной и участвующих в перезарядке аминокислоты с образованием анионов, способствует снижению и разрушению барьерного действия примембранных слоев раствора. Этот факт подтверждают замедление скорости изменения рН в растворе секции концентрирования (рис. 5.20а, кривая 1) и значительный перенос фенилаланина через мембрану (рис. 5.18б) с ростом плотности тока.

Таким образом, перенос аминокислот через мембраны при электродиализе смешанного раствора фенилаланина и хлорида натрия является нежелательным, так как приводит к потере целевого продукта. Потери аминокислоты определяют два основных фактора: изменение рН и развитие электроконвекции. Известно, что при превышении предельной плотности тока диссоциация воды на границе мембран-раствор приводит к образованию слоёв растворов с повышенной величиной рН. Это приводит к

ограничению переноса аминокислоты через мембрану (барьерный эффект) т.е. падению её потерь ($1.0 < i/i_{lim} < 2.0$).

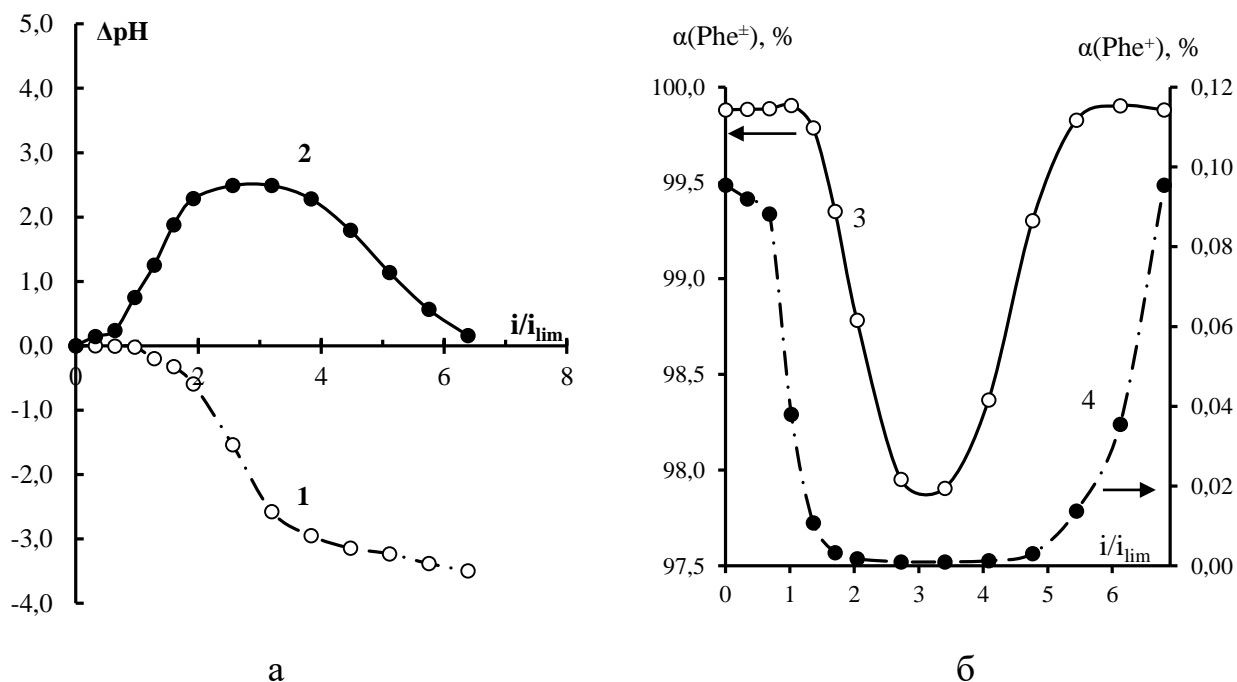


Рис. 5.20. Зависимость разности рН на выходе и входе для секции концентрирования (1) и для секции деминерализации (2) (а), доли биполярных ионов (3) и катионов (4) фенилаланина в деминерализуемом растворе (б) образованных СМН ($\omega=65\%$) и АМН ($\omega=65\%$), от плотности тока при электродиализе смешанного раствора хлорида натрия и фенилаланина.

Действие второго фактора заключается в развитии электроконвективных течений в растворе на границе с мембраной при сверхпредельных токовых режимах электродиализа. Электроконвекция негативно влияет на процесс диссоциации воды и разрушает барьерное действие примембранных слоев раствора с высоким значением показателя рН. Это приводит к уменьшению величины рН в секции деминерализации (рис. 5.20а, кривая 2) и, следовательно, возрастанию доли катионов аминокислоты (рис. 5.20б, кривая 4), которые переносятся через мембрану по электроконвективному механизму т.е. росту её потерь ($i/i_{lim} > 3.0$).

Прямым доказательством более развитой электроконвекции на границе с мембраной с содержанием смолы 70 % в смешанном растворе является более

выраженный нестационарный характер интерференционной картины. Результаты измерения толщины области электроконвективной неустойчивости методом лазерной интерферометрии выявили её рост с увеличением приведённого потенциала и содержания ионообменника (рис. 5.21).

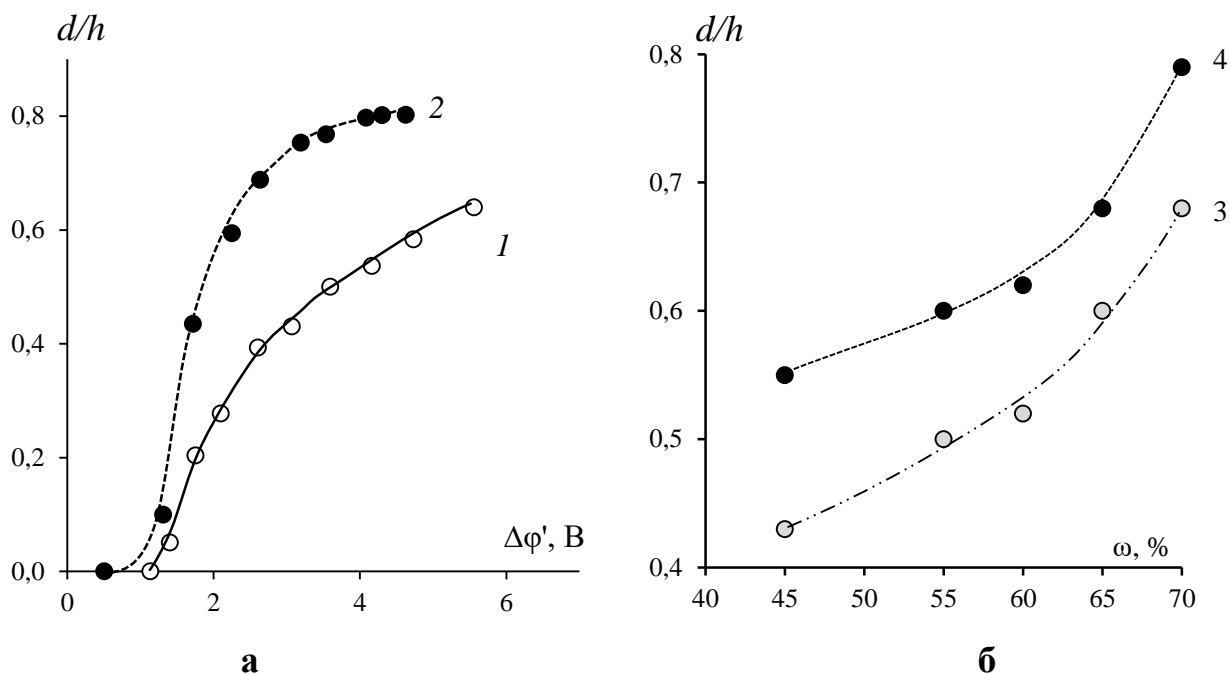


Рис. 5.21. Зависимости толщины области конвективной неустойчивости от величины скачка приведённого потенциала (а) и от массовой доли (б) сульфокатионообменной смолы в мембранах СМН при электродиализе смешанного раствора хлорида натрия и фенилаланина. Содержание ионообменника в мембране, %: 45 (1), 70(2). Величина скачка приведённого потенциала, В: 3,1 (3), 4,6 (4).

При скачке приведённого потенциала $\Delta\phi' = 3.1 \text{ В}$ с ростом содержанием смолы от 45 до 70% толщина области конвективной неустойчивости увеличивается в 1.6 раз.

Установлена более высокая шумовая составляющая аналитического сигнала в смешанном растворе, по сравнению с раствором содержащим хлорида натрия (рис. 5.22). При величине тока $i=1.63 \text{ мА/см}^2$ амплитуда колебаний интерференционной полосы на границе с катионообменной

мембраной в смешанном растворе с аминокислотой более чем в два раза превышала соответствующую величину в растворе хлорида натрия.

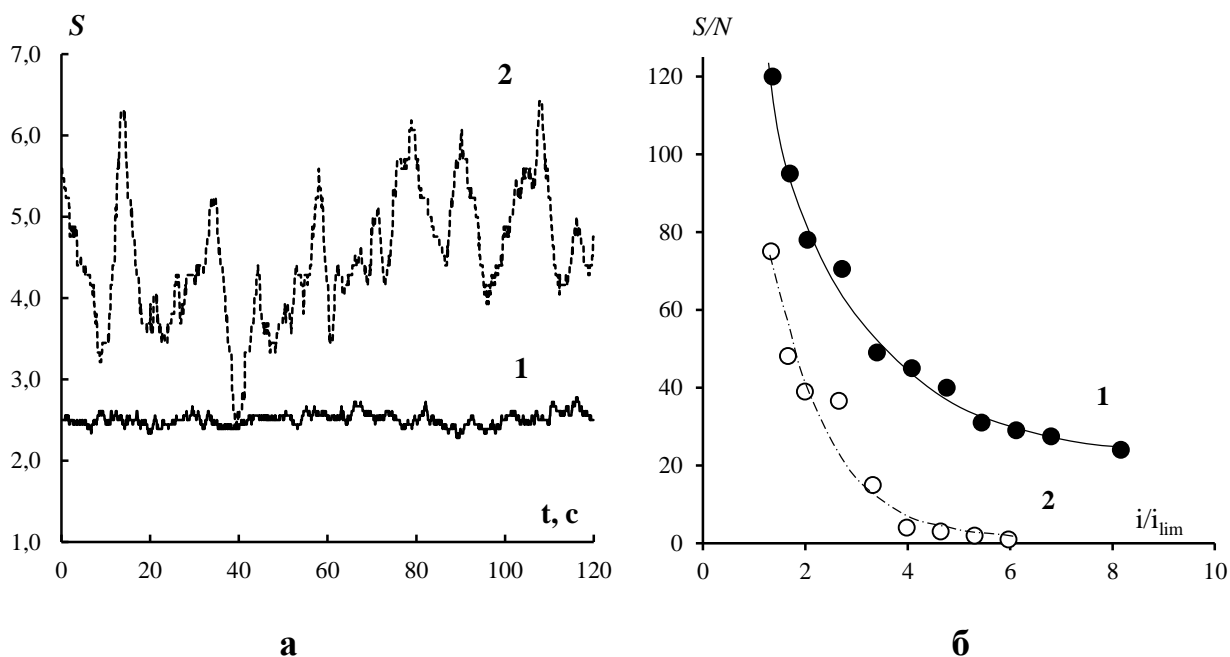


Рис. 5.22. Смещение интерференционной полосы во времени при плотности тока $i=1.63 \text{ mA/cm}^2$ (а) и изменение соотношения сигнал-шум (б) на границе с сульфокатионообменной мембраной СМН ($\omega=45\%$) в растворе NaCl (0.01 М) (1) и NaCl+Phe (0.01, 0.05 М) (2).

Полученные прямым линиям в билогарифмических зависимостях между соотношением сигнал-шум и плотностью тока в растворе хлорида натрия и смешанного с Phe отвечает связь в виде $\lg(S/N) = a + b \cdot \lg(i/i_{lim})$, где a и b – эмпирические параметры, значения которых представлены в таблице 5.3.

Таблица. 5.3. Коэффициенты соотношения сигнал-шум и плотности тока для мембран СМН при электродиализе индивидуального раствора хлорида натрия и его смеси с фенилаланином.

$\omega, \%$	$a \pm \Delta a$		$b \pm \Delta b$		r	
	NaCl	NaCl+Phe	NaCl	NaCl+Phe	NaCl	NaCl+Phe
45	2.19 ± 0.02	2.39 ± 0.14	-0.91 ± 0.03	-2.83 ± 0.27	0.994	0.969
70	2.18 ± 0.04	2.13 ± 0.05	-1.51 ± 0.07	-2.76 ± 0.11	0.989	0.996

Сравнение зависимостей показателя степени n , полученного из спектров шума для всех мембран в индивидуальном растворе хлорида натрия и в смеси с фенилаланином показало, что максимальная степень турбулизованности раствора на межфазной границе наблюдалась в случае смешанного раствора (рис. 5.23).

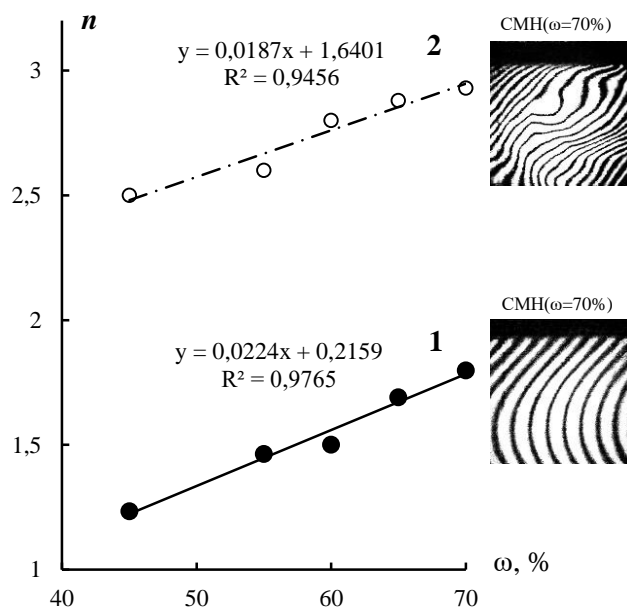


Рис. 5.23. Влияние массовой доли сульфокатионообменной смолы на величину параметр n спектры мощности флуктуаций интерференционных полос у поверхности катионообменных мембран СМН при электродиализе раствора хлорида натрия (1) и его смеси с фенилаланином (2). Приведённый потенциал: $\Delta\varphi' = 1.7$ В

В интенсивных токовых режимах установлено, что значения n для смешанного раствора превышали в полтора раза соответствующую величину для индивидуального раствора хлорида натрия. Сравнительный анализ зависимости параметра n от массовой доли ионообменной смолы в мембране выявил усиление перемешивания как для индивидуальном растворе хлорида натрия, так в смешанном растворе с фенилаланином с увеличением содержания смолы в мембране. При приведенном скачке потенциала $\Delta\varphi' = 1.7$ В с повышением массовой доли катионообменной смолы от 45 до 70%

установлено увеличение величины показателя степени n на 25% для раствора хлорида натрия и на 20 % для его смеси с фенилаланином.

Изучение влияния массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране на характеристики процесса разделения. Применение мембран с разным содержанием ионообменной смолы при электродиализе смешанного раствора аминокислоты и минерального электролита приводит к изменению параметров, характеризующих эффективность процесса. При электродиализе потоки минерального электролита через мембраны превышали потоки аминокислоты на два порядка (рис.5.18), что делает возможным их эффективное разделение. Зависимости фактора разделения натрия и фенилаланина S_F от безразмерной плотности тока представлены на рис.5.24.

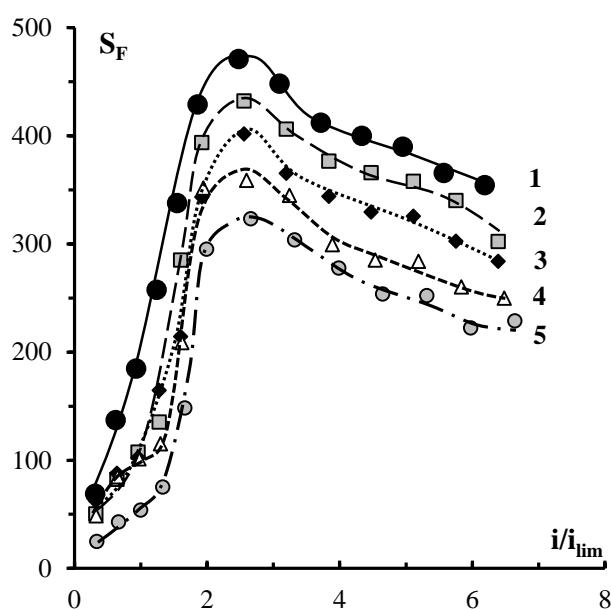


Рис. 5.24. Зависимость фактора разделения натрия и фенилаланина от безразмерной плотности тока для экспериментальных мембран с массовой долей сульфокатионообменника 70 (1), 65 (2), 60 (3), 55 (4) и 45 (5) % при электродиализе смешанного раствора NaCl (0.01 M) + Phe (0.05 M).

Для всех экспериментальных мембран зависимости фактора разделения характеризуются экстремумами, приходящимися на интервал превышения величины предельного диффузионного тока i_{lim} в 2–3 раза. Различия вследствие влияния массовой доли ионообменной смолы на величину

коэффициента разделения проявляется только в его величине, а положение максимума не изменяется. Максимальная эффективность разделения наблюдается для мембраны с содержанием катионообменной смолы 70%.

Установлена линейная положительная корреляция между параметрами процесса (фактор разделения и степень деминерализации) и массовой долей ионообменника в мембране (рис. 5.25). Это позволяет прогнозировать эффективность процесса разделения при произвольной величине содержания ионообменника.

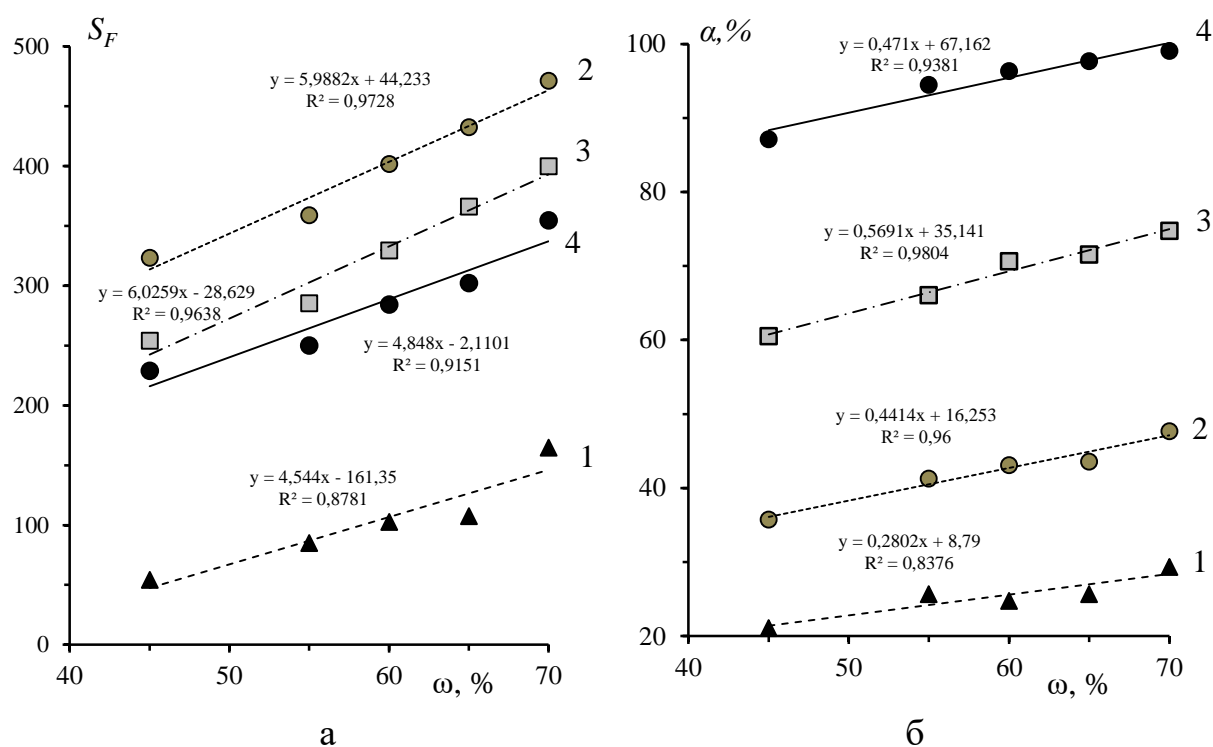


Рис. 5.25. Влияние массовой доли ионообменника в мембране на фактор разделения (а) и степень обессоливания (б) при разделении фенилаланина и хлорида натрия. Плотности тока, i/i_{lim} : 1.0 (1), 2.5 (2), 4.7 (3), 6.8 (4).

При степени поляризации $i/i_{lim} = 2.5$ с ростом содержания катионообменной смолы в мембране от 45 до 70 % установлено увеличение фактора разделения в 1.5 раза (рис. 5.25а). В интервале токов $2 \leq i/i_{lim} \leq 3$, соответствующему наибольшему фактору разделения компонентов, степень обессоливания раствора для мембраны с максимальным содержанием ионообменника составляет 40–60 %, а для мембраны с минимальным

содержанием 30-40 % (рис. 5.25б). Деминерализация исследуемого раствора для мембраны с максимальным содержанием смолы становится практически полной при превышении величины предельного диффузионного тока в 6 раз.

Потери аминокислоты во всем диапазоне токов для всех экспериментальных мембран составляют не более 0.2% (таблица 5.4).

Таблица. 5.4. Потери фенилаланина L при электродиализе раствора NaCl (0.01 М) + Phe (0.05 М).

Плотность тока i/i_{lim}	$L, \%$				
	Массовая доля смолы в мембране СМН, %				
	45	55	60	65	70
0.6	0.145	0.081	0.083	0.094	0.063
1.0	0.174	0.100	0.105	0.108	0.067
1.6	0.095	0.065	0.074	0.061	0.053
3.1	0.068	0.068	0.064	0.070	0.070
6.2	0.131	0.131	0.128	0.128	0.129

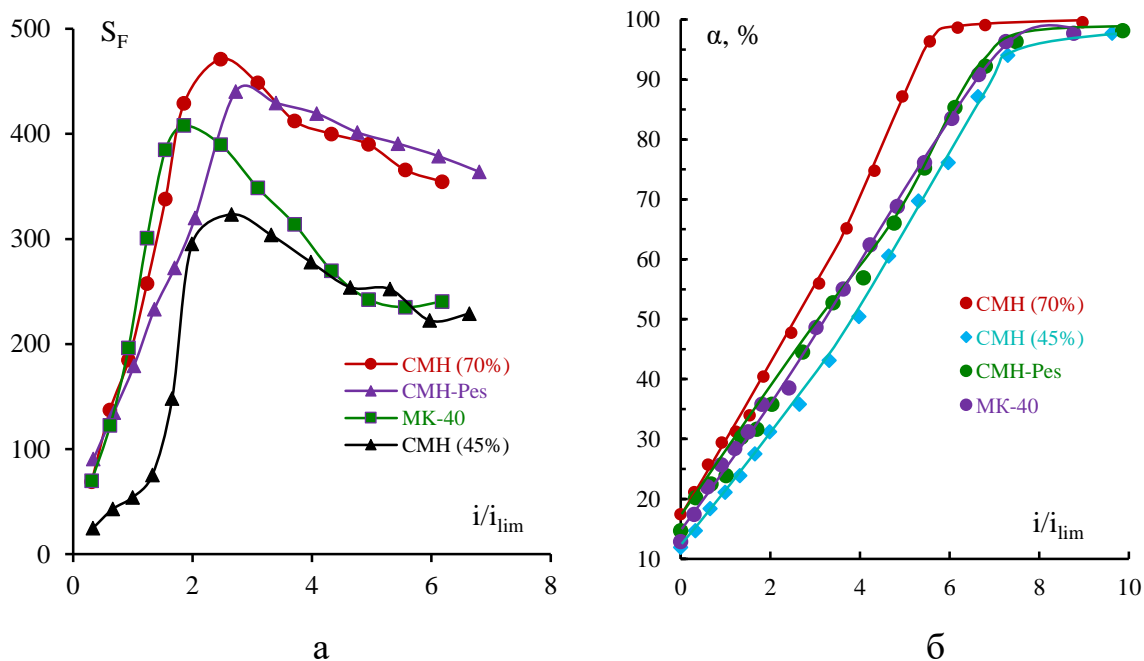


Рис. 5.26. Зависимость фактора разделения (а) и степени деминерализации смешанного раствора хлорида натрия и фенилаланина от безразмерной плотности тока для экспериментальных мембран с разной массовой долей сульфокатионообменника и промышленных образцов мембраны Ralex и МК-40.

На рис. 5.26 представлены характеристики эффективности процессов электродиализа смешанного раствора при использовании экспериментальных мембран с разным содержанием ионообменной смолы, коммерческих образцов мембраны Ralex и мембраны российского производства МК-40.

Таким образом, для эффективного разделения фенилаланина и хлорида натрия электродиализом наиболее перспективно использовать экспериментальную сульфокатионообменную мембрану с содержанием смолы 70%. Преимущества мембраны с максимальным содержанием катионообменника, выражаются в достижении больших величин фактора разделения и степени деминерализации растворов при потерях целевого продукта не более 0.2%. Использование мембраны с высоким содержанием ионообменника, характеризующейся более высокими значениями степени деминерализации и фактора разделения, позволяет сократить энергозатраты при очистке раствора аминокислоты от минеральной соли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов комплексного исследования разделения фенилаланина и хлорида натрия мембранными методами и совместного их определения спектроскопическими методами в разбавленных водных растворах произвольной кислотности сделаны следующие основные выводы:

1. Показано, что при варьировании кислотности среды аналитический сигнал и результаты определения фенилаланина значительно различаются вследствие нахождения аминокислоты в различных ионных формах, отличающихся величиной молярного коэффициента поглощения. Обоснован выбор аналитической формы аминокислоты в виде аниона для проведения спектрофотометрического анализа с максимальной чувствительностью и точностью. Установлено, что максимальная чувствительность определения фенилаланина падает в ряду $\varepsilon(\text{Phe}^-) > \varepsilon(\text{Phe}^+) > \varepsilon(\text{Phe}^\pm)$ на 20%. Приведены регрессионные уравнения, позволяющие осуществить выбор аналитической длины волны при любой произвольной величине рН раствора.

2. Проверкой значимости разности между величинами коэффициентов чувствительности градуировочных графиков доказан статистически значимый характер влияния фенилаланина на определение натрия атомно-эмиссионным методом фотометрии пламени в области разбавленных растворов. Основной причиной снижения фототока эмиссии щелочного металла в присутствии аминокислоты является повышение вязкости раствора, что приводит к понижению скорости распыления в анализаторе. Другая возможная причина обусловлена влиянием присутствия аминокислоты на процесс атомизации и увеличением размера частиц. Доказан систематический тип погрешности при определении натрия в присутствии фенилаланина, которая составила 10 и 20% при 0.01 и 0.10 мМ концентрации аминокислоты в эквимольном смешанном растворе, соответственно.

3. Установлено, что при нейтрализационном диализе большие величины фактора разделения компонентов и степени извлечения минеральных ионов при незначительных потерях фенилаланина реализуются за счет преимущественного нахождения аминокислоты в биполярной форме вследствие реакции нейтрализации в деминерализуемом растворе. Изменение содержания сульфокатионообменной смолы в составе мембраны от 45% до 70% приводит к росту массопереноса минеральных ионов вследствие увеличения ее полной обменной емкости и влагосодержания. Закисление смешанного раствора аминокислоты и соли с ростом массовой доли сульфокатионообменной смолы в мембране являлось причиной потерь целевого продукта из-за усиления трансмембранного переноса фенилаланина в катионной форме.

4. При разделении фенилаланина и хлорида натрия методом электродиализа показано, что для всех образцов мембран с разным содержанием смолы зависимости фактора разделения от тока характеризуются экстремумами, приходящимися на интервал двух-трехкратного превышения величины предельного диффузионного тока. Установлено, что изменение содержания сульфокатионообменника в мембране от 45 до 70% позволяет увеличить скорость массопереноса минерального иона в полтора раза. При использовании мембраны с массовой долей сульфокатионообменной смолы 70% в интенсивных токовых режимах электродиализа показана возможность извлечения ионов электролита до 90% с потерями фенилаланина не более 1%.

5. Преимуществом разработанного способа определения аминокислоты без коррекции величины рН в растворах являются возможность повышения чувствительности и обеспечение относительной погрешности определения менее 3% при относительном стандартном отклонении 0.02-0.10. Предел обнаружения аминокислоты, рассчитанный по $3s$ -критерию, составляет $(1.4 - 1.6) \times 10^{-5}$ М. Диапазон определяемых содержаний фенилаланина находится в интервале $(0.5 - 5.3) \times 10^{-3}$ М.

Показана эффективность предложенного способа для определения фенилаланина в образце препарата "L-Фенилаланин" (PROTEIN COMPANY, Россия) методом добавок. Доказана возможность минимизации погрешности совместного определения аминокислоты и натрия при контроле содержания компонентов после разделения их смеси методами нейтрализационного диализа и электродиализа.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с целенаправленным подбором мембран, характеризующихся необходимыми свойствами и поиском дополнительных эффектов (например, профилирование поверхности рекомендованных в работе мембран с максимальным содержанием ионообменной смолы), которые позволили бы увеличить эффективность и селективность мембранных методов выделения и очистки аминокислот.

Защелачивание деминерализуемых водно-солевых растворов нейтральных аминокислот в процессе электродиализа при использовании мембран с максимальным содержанием ионообменной смолы способствует увеличению точности спектрофотометрического определения аминокислоты, что позволяет предполагать расширение перспектив применения электродиализа как непрерывного метода разделения и пробоподготовки.

СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

Обозначения

- pI – изоэлектрическая точка амфолита;
- pH – водородный показатель;
- pK – константа диссоциации;
- C – концентрация вещества в растворе, моль/дм³;
- Q_0 – полная обменная ёмкость мембраны, ммоль/г;
- W – массовая доля воды в мембране, %;
- ω – массовая доля ионообменной смолы в мембране, %;
- P – доля макропор на поверхности или в объеме мембраны;
- S – доля ионообменника на поверхности или в объеме мембраны;
- λ_{max} – максимум полосы поглощения, нм;
- ε – молярный коэффициент поглощения, М⁻¹см⁻¹;
- C_{min} – предел обнаружения, М;
- J – плотность потока компонента, моль/см²·с;
- S_F – фактор разделения;
- R – степень извлечения ионов, %;
- L – потери вещества, %;
- i_{lim} – предельная диффузионная плотность тока, мА/см²;

Сокращения

- РЭМ – растровая электронная микроскопия;
- ДОС – диапазон определяемых содержаний;
- ПАЖ – пламенно-фотометрический анализатор жидкостей;
- НД – нейтрализационный диализ;
- ФШС – фликкер-шумовая спектроскопия;
- S/N – Сигнал-шум;
- ВАХ – вольт-амперная характеристика;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Continuous downstream processing of amino acids in a modular miniplant / L. Hohmann, L. Lobnitz, Ch. Menke [et al.] // Chem. Eng. & Technol. – 2018. – Vol. 41, No. 6. – P. 1152–1164.
2. Kirchera M. The fermentative production of L-lysine as an animal feed additive / M. Kirchera, W. Pfeffer // Chemosphere. – 2001. – Vol. 43. – P. 27-31.
3. Leuchtenberger W. Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects / W. Leuchtenberger, K. Huthmacher, K. Drauz // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2005. – Vol. 69, Iss. 1. – P. 1-8.
4. Kumar R. Production and purification of glutamic acid: A critical review towards process intensification / R. Kumar, D. Vikramachakravarthi, P. Pal // Chem. Eng. Process. – 2014. – Vol. 81. – P. 59-71.
5. Separation of amino acids by electrodialysis with ion-exchange membranes / K. Kikuchi, T. Gotoh, H. Takahashi [et al.] // J. Chem. Eng. Jpn. – 1995. – Vol. 28, Iss. 1. – P. 103-109.
6. Polyelectrolyte nanoparticles based thin-film nanocomposite (TFN) membranes for amino acids separation / Y.-L. Ji, W.-J. Qian, Q.-F. An [et al.] // J. Ind. Eng. Chem. – 2018. – Vol. 66. – P. 209-220.
7. Two birds with one stone: Porous poly(ionic liquids) membrane with high efficiency for the separation of amino acids mixture and its antibacterial properties / L. Liu, Sh. Xiong, L. Zeng [et al.] // J. Colloid Interface Sci. – 2021. – Vol. 584. – P. 866-874.
8. Lin S.-H. Extraction equilibria and separation of phenylalanine and aspartic acid from water with di(2-ethylhexyl)phosphoric acid / S.-H. Lin, C.-N. Chen, R.-S. Juang // J. Chem. Technol. Biotech. – 2006. – Vol. 81. – P. 406-412.
9. Мулдер М. Введение в мембранную технологию / М. Мулдер. – Москва: Мир, 1999. – 513 с.
10. Tanaka Y. Ion Exchange Membranes. Fundamentals and Applications / Y. Tanaka // Membr. Sci. Technol.: book series. – 2007. – Vol. 12. – P. 1-531.

11. Ktari T. Mass transfer characterization in Donnan dialysis / T. Ktari, C. Larchet, B. Auclair // *J. Membr. Sci.* – 1993. – Vol. 84. – P. 53–60.
12. Igawa M. Transport characteristics of neutralization dialysis and desalination of tap water / M. Igawa, K. Mikami, H. Okochi // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 2003. – Vol. 76. – P. 437-441.
13. Sato K. Modeling of ionic transport in neutralization dialytic deionization / K. Sato, T. Yonemoto, T. Tadaki // *J. Chem. Eng. Jpn.* – 1993. – Vol. 26. – P. 68-72.
14. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering / D.F. Stamatialis, B. J. Papenburg, M. Girones [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2008. – Vol. 308. – P. 1–34.
15. Sato K. Effects of the feed solution concentrations on the separation degree in Donnan dialysis for binary systems of amino acids / K. Sato // *J. Membr. Sci.* – 2002. – Vol. 196. – P. 211-220.
16. Selective transport of neutral amino acids across a double-membrane system comprising cation and anion exchange membranes / K. Ueno, T. Doi, B. Nanzai [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2017. – Vol. 537. – P. 344-352.
17. Sikdar S. K. Permeation characteristics of amino acids through perfluorosulphonated polymeric membrane / S. K. Sikdar // *J. Membr. Sci.* – 1987. – Vol. 26. – P. 170-174.
18. Васильева В. И. Динамика разделения аминокислоты и минеральной соли при стационарном диализе растворов с профилированной сульфокатионообменной мембраной МК-40 / В.И. Васильева, Е.А. Воробьева // *Журн. физ. химии.* – 2012. – Т.86, № 11. – С. 1852-1858.
19. Effect of surface profiling of a cation-exchange membrane on the phenylalanine and NaCl separation performances in diffusion dialysis / V. Vasil'eva, E. Goleva, N. Pismenskaya [et al.] // *Sep. Purif. Technol.* – 2019. – Vol. 210. – P. 48-59.
20. Tsukahara Sh. Selective transport of amino acids across a double membrane system composed of a cation- and an anion-exchange membrane / Sh. Tsukahara, B. Nanzai, M. Igawa // *J. Membr. Sci.* – 2013. – Vol. 448. – P. 300-307.

21. Kimura Y. Selective Separation of Organic Electrolytes by Neutralization Dialysis with Grafted Polyethylene Films. / Y. Kimura, K. Yamada // *Int. J. Mater. Sci. Appl.* – 2018. – V. 7. – P. 95–105.
22. Igawa M. Selective transport of aldehydes across an anion-exchange membrane via the formation of bisulfite adducts / M. Igawa, Y. Fukushi, T. Hayashita // *Am. Chem. Soc.* – 1990. – Vol. 29, № 5. – P. 857-861.
23. Experimental investigation of neutralization dialysis in three-compartment membrane stack / M. Chérif, I. Mkacher, R. Ghalloussi [et al.] // *Desalin. Water. Treat.* – 2015. – Vol. 56, Iss. 10. – P.2567-2575.
24. Reconstituted and brackish waters desalination by neutralization dialysis process with ion-exchange membranes / M. Chérif, S. Korchane, L. Chaabane [et al.] // *Desalin. Water. Treat.* – 2017. – Vol. 65. – P. 52-59.
25. Tanabe H. Separation of Weak Acids and Bases by Neutralization dialysis / H. Tanabe, H. Okochi, M. Igawa // *Ind. Eng. Chem. Res.* – 1995. – Vol. 34. – P. 2450-2454.
26. Bleha M. Neutralization dialysis for deionization / M. Bleha, G. A. Tishchenko // *J. Membr. Sci.* – 1992. – Vol. 73. – P. 305-311.
27. Neutralization dialysis for phenylalanine and mineral salt separation. Simple theory and experiment / A. Kozmai, E. Goleva, V. Vasil'eva [et al.] // *Membranes.* – 2019. – Vol. 9, №. 12. – P. 171-186.
28. Dialytic transport of carboxylic acids through an anion exchange membrane / A. Zheleznov, D. Windmoller, S. Korner [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 1998. – Vol. 139. – P. 137-143.
29. Separation of weak acids and bases by neutralization dialysis / M. Igawa, H. Tanabe, T. Ida [et al.] // *Chem. Lett.* – 1993. – Vol. 22, No. 9. – P. 1591-1594.
30. Fluoride removal by Donnan dialysis with anion exchange membranes / F. Durmaz, H. Kara, Y. Cengeloglu [et al.] // *Desalination.* – 2005. – Vol. 177. – P. 51-57.

31. Miyoshi H. Diffusion coefficients of ions through ion exchange membrane in Donnan dialysis using ions of different valence / H. Miyoshi // *J. Membr. Sci.* – 1998. – Vol. 141. – P. 101-110.
32. Transport of chromium through cation-exchange membranes by Donnan dialysis in the presence of some metals of different valences / A. Tor, Y. Cengeloglu, M. Ersoz [et al.] // *Desalination.* – 2004. – Vol. 170. – P. 151-159.
33. Васильева В. И. Селективное выделение ионов натрия из смеси с фенилаланином Доннановским диализом с профилированной сульфокатионообменной мембраной / В.И. Васильева, Е.А. Голева // *Журн. физ. химии.* – 2013. – Т.87, № 11. – С. 1895-1901.
34. Способ деминерализации нейтрализационным диализом раствора смеси аминокислоты и соли : пат. 2607227 Рос. Федерация : МПК В01D 61/48 / В. И. Васильева, Е. А. Голева, В. И. Заболоцкий [и др.]; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет. – Москва, 2017. – (№ 2015135832 ; заявл. 24.08.2015 ; опубл. 10.01.2017).
35. Голева Е.А. Разделение фенилаланина и хлорида натрия стационарным диализом с профилированной сульфокатионообменной мембраной / Е.А. Голева, В.И. Васильева // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* – 2012. – № 1. – С. 33-38.
36. Sato K. Effects of the feed solution concentrations on the separation degree in Donnan dialysis for binary systems of amino acids / K. Sato // *J. Membr. Sci.* – 2002. – Vol. 196. – P. 211-220.
37. Itoi S. Electrodialysis of aqueous solution of amino acid containing electrolyte by ion exchange membrane / S. Itoi, T. Utsunomiya // *Asahi Glass Res. Rep.* – 1965. – Vol. 15. – P. 171–178.
38. Елисеева Т.В. Разделение и очистка смесей аминокислот электродиализом с ионообменными мембранами / Т. В. Елисеева, В. А. Шапошник, В. Ф. Селеменев // *Теория и практика сорбционных процессов : межвузовский сборник научных трудов .— Воронеж, 1997 .— Вып. 22. – С. 174-178.*

39. Chen D.-H. Separation of phenylacetic acid, 6-aminopenicillanic acid and penicillin G with electrodialysis under constant current / D.-H. Chen, S.-S. Wang, T.-C. Huang // *J. Chem. Tech. Biotechnol.* – 1995. – Vol. 64. – P. 284-292.
40. Kumar M. Electro-membrane process for the separation of amino acids by isoelectric focusing / M. Kumar, B.P. Tripathi, V.K. Shahi // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 85. – P. 648–657.
41. Recovery by means of electrodialysis of an aromatic amino acid from a solution with a high concentration of sulphates and phosphates / V. Montiel, V. García-García, J. González-García [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 1998. – Vol. 140. – P. 243-250.
42. Method for purification of amino acid containing solutions by electrodialysis: Patent USOO6551803B1 / A. Fischer, C. Martin, J. Müller. – PCT Pub No: WO01/32298; PCT Pub Date 10.05.2001; Date of Patent 22.04.2003.
43. Desalting of neutral amino acids fermentative solutions by electrodialysis with ion-exchange membranes / A. E. Aghajanyan, A. A. Hambardzumyan, A. A. Vardanyan [et al.] // *Desalination.* – 2008. – Vol. 228. – P. 237–244.
44. Способ получения L-лизина : Пат.2223946, МКИ С 07 С 227/34, 229/26 / Т.В.Елисеева, А.Ю. Текучев, В.Ф. Селеменев [и др.]; ООО "Воронеж-Аква" .— Москва, 2004. — (№ 2002127880, заявл. 17.10.02; опубл. 20.02.04, Бюл. № 5).
45. Novel membrane concept for internal pH control in electrodialysis of amino acids using a segmented bipolar membrane(sBPM) / O.M. Kattan Readi, H.J. Kuenen, H.J. Zwijnenberg [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2013. – Vol. 443. – P. 219–226.
46. Extraction of amphoteric amino acids by an electromembrane process. pH and electrical state control by electrodialysis with bipolar membranes. / H. Grib, L. Bonnal, J. Sandeaux [et al.] // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 1998. – Vol. 73, Iss. 1. – P. 64–70.

47. Desalting of phenylalanine solutions by electro dialysis with ion-exchange membranes / H. Grib, D. Belhocine, H. Lounici [et al.] // *J. Appl. Electrochem.* – 2000. – Vol. 30. – P. 259-262.
48. Current–voltage curves of ion-exchange membranes in electro dialysis of solutions containing alkyl aromatic amino acids and various mineral salts / A. Yu. Kharina, V. I. Kabanova, T. V. Eliseeva // *Desalination and Water Treat.* – 2015. – Vol. 56, Iss. 12. – P. 3191-3195.
49. Choi J.-H. Structural effects of ion-exchange membrane on the separation of Lphenylalanine (L-Phe) from fermentation broth using electro dialysis / J.-H. Choi, S.-J. Oh, S.-H. Moon // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 2002. – Vol. 77. – P. 785-792.
50. Influence of different resins on the amino acid recovery by resin-filling electro dialysis / F. Yuan, Q. Wang, P. Yang [et al.] // *Sep. Purif. Techn.* – 2015. – Vol. 153. – P. 51–59.
51. Харина А.Ю. Деминерализация раствора фенилаланина электромембранными методами / А.Ю. Харина, С.Я. Елисеев // *Конденсированные среды и межфазные границы.* – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 126-132.
52. Елисеева Т. В. Эффекты циркуляции и облегченной электромиграции аминокислот при электродиализе с ионообменными мембранами / Т. В. Елисеева, В. А. Шапошник // *Электрохимия.* – 2000. – Т. 36, № 1. – С. 73-76.
53. Shaposhnik V.A. Barrier effect during the electro dialysis of ampholytes / V.A. Shaposhnik, T.V. Eliseeva // *J. Membr. Sci.* – 1999. – Vol. 161. – P. 223-228.
54. Войтович И.М. К вопросу об электродиализной очистке маннита / И.М. Войтович, В.А. Шапошник, В.В. Котов // *Теория и практика сорбционных процессов.* – Воронеж: ВГУ, 1976. – №11. – С. 106-109.
55. Weinstein J. N. Charge-Mosaic Membranes: Dialytic Separation of Electrolytes from Nonelectrolytes and Amino Acids / J. N. Weinstein, S. R. Caplan // *American Association for the Advancement of Science.* – 1970. – Vol. 169. – P. 296-298.

56. Electrodialysis with porous membrane for bioproduct separation: Technology, features, and progress / L. Sun, Q. Chen, H. Lu [et al.] // *Food Research International*. – 2020. – Vol. 137. – Art. No 109343.
57. Fukuda T. KCl Transport mechanism across charged composite membrane in KCl-sucrose mixed system / T. Fukuda, W. Yang, A. Yamauchi // *J. Membr. Sci.* – 2003. – Vol. 212. – P. 255-261.
58. Higa M. Charge composite membranes prepared from laminated structures of PVA-based charged layers: 1. Preparation and transport properties of charged composite membranes / M. Higa // *J. Membr. Sci.* – 2008. – Vol. 310. – P. 466-473.
59. Wang X.-L. Nanofiltration of L-phenylalanine and L-aspartic acid aqueous solutions / X.-L. Wang, A.-L. Ying, W.-N. Wang // *J. Membr. Sci.* – 2002. – Vol. 196. – P. 59-67.
60. Hong S.U. Separation of amino acid mixtures using multilayer polyelectrolyte nanofiltration membranes / S.U. Hong, M.L. Bruening // *J. Membr. Sci.* – 2006. – Vol. 280. P. 1–5.
61. Similarly sized protein separation of charge-selective ethylene-vinyl alcohol copolymer membrane by grafting dimethylaminoethyl methacrylate / L. Huang, H. Ye, T. Yu, [et al.] // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2018. – Vol. 135. – Art. No. 46374.
62. Multifunctional negatively-charged poly (ether sulfone) nanofibrous membrane for water remediation / S. Chen, C. Lv, K. Hao [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 2019. – Vol. 538. – P. 648-659.
63. How physico-chemical and surface properties of cation-exchange membrane affect membrane scaling and electroconvective vortices: Influence on performance of electrodialysis with pulsed electric field / S. Mikhaylin, V. Nikonenko, N. Pismenskaya [et al.] // *Desalination*. – 2016. – Vol. 393. – P. 102–114.
64. Transient ion exchange of anion exchange membranes exposed to carbon dioxide / T.D. Myles, K.N. Grew, A.A. Peracchio [et al.] // *J. Power Sources*. – 2015. – Vol. 296. – P. 225-236.

65. Spatiotemporal pH dynamics in concentration polarization near ion-selective membranes / M.B. Andersen, D.M. Rogers, J. Mai [et al.] // *Langmuir*. – 2014. – Vol. 30. – P. 7902-7912.
66. Denisov G.A. Theoretical analysis of neutralization dialysis in the three-compartment membrane cell / G.A. Denisov, G. Tishchenko, M. Bleha [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 1995. – Vol. 98. – P.13-25.
67. Water desalination by neutralization dialysis with ion-exchange membranes: Flow rate and acid/alkali concentration effects / M. Chérif, I. Mkacher, L. Dammak [et al.] // *Desalination*. – 2015. – Vol. 361. – P. 13–24.
68. Neutralization dialysis for phenylalanine and mineral salt separation. Simple theory and experiment / A. Kozmai, E. Goleva, V. Vasil'eva [et al.] // *Membranes*. – 2019. – Vol. 9. – Art. No. 171. – P. 1-17.
69. Galier S. The electrophoretic membrane contactor: A mass-transfer-based methodology applied to the separation of whey proteins / S. Galier, H. R. Balmann // *Sep. Purif. Technol.* – 2011. – Vol. 77. – P. 237-244.
70. Mikhaylin S. Fouling on ion-exchange membranes: Classification, characterization and strategies of prevention and control / S. Mikhaylin, L. Bazinet // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2016. – Vol. 229. – P. 34–56.
71. Kattan Readı O. M. Separation of complex mixtures of amino acids for biorefinery applications using electro dialysis / O.M. Kattan Readı, M. Girones, K. Nijmeijer // *J. Membr. Sci.* – 2013. – Vol.429. – P. 338-348.
72. Marshal D. The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: A literature review / D. Marshall, P.A. Munro, G. Trägårdh // *Desalination*. – 1993. – Vol. 91. – P. 65-108.
73. Evolution of anion-exchange membrane properties in a full scale electro dialysis stack / W. Garcia-Vasquez, L. Dammak, C. Larchet [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2013. – Vol. 446. – P. 255-265.
74. Linstrand V. Organic fouling of electro dialysis membranes with and without applied voltage / V. Linstrand, A.S. Jönsson, G. Sundström // *Desalination*. – 2000. – Vol. 130. – P. 73-84.

75. How peptide physicochemical and structural characteristics affect anion-exchange membranes fouling by a tryptic whey protein hydrolysate / M. Persico, S. Mikhaylin, A. Doyen [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2016. – Vol. 520. – P. 914–923.
76. Bukhovets A. Fouling of anion-exchange membranes in electrodialysis of aromatic amino acid solution / A. Bukhovets, T. Eliseeva, Y. Oren // *J. Membr. Sci.* – 2010. – Vol. 364. – P. 339–343.
77. The influence of current density on the electrochemical properties of anion exchange membranes in electrodialysis of phenylalanine solution / A. Bukhovets, T. Eliseeva, N. Dalthrope [et al.] // *Electrochimica Acta.* – 2011. – Vol. 56. – P. 10283–10287.
78. Основы аналитической химии. Т. 2 / Н. В. Алов, Ю.А. Барбалат, А.Г. Борзенко и др.; под ред. Ю. А. Золотова. – 5-е изд., стер. – М. Издательский центр «Академия», 2012. – 416 с.
79. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: в 2-х томах / Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто и др.; пер. с англ.; под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Мир, 2004. – 608 с.
80. Harris D. C. Quantitative chemical analysis / D. C. Harris. – Macmillan, 2010. – 892 p.
81. Гарифзянов А. Р. Эмиссионная фотометрия пламени и атомно-абсорбционная спектроскопия / А.Р. Гарифзянов. – Казань: Казан. гос. ун-т им. В.И. Ульянова Ленина, 2009. – 94 с.
82. Аналитическая химия / Ю. М. Глубокое, В.А. Головачева, Ю. А. Ефимова и др.; под ред. А. А. Ищенко. – 12-е изд., стер. – М.: Издательский центр «Академия», 2017. – 464 с.
83. Skoog D. A. Principles of Instrumental Analysis. 7th edn/ D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch. – Cengage Learning: Boston, 2017. – 92 p.
84. Encyclopedia of analytical science / P. Worsfold, A. Townshend, C. F. Poole, et al. – Elsevier, 2019. – 252 p.
85. Horlick G. Flame emission, atomic absorption, and fluorescence spectrometry / G. Horlick // *Analytical Chemistry.* – 1980. – Vol. 52, №. 5. – P. 290–305.

86. Отто М. Современные методы аналитической химии (3-е издание) / М. Отто; пер. с немец.; под ред. А.В. Гармаша. – М. : Техносфера, 2008.– 544 с.
87. Experimental investigation on temporal release of potassium from biomass pellet combustion by flame emission spectroscopy / Z. He, C. Lou, J. Fu, et al. // *Fuel*. – 2019. – Vol. 253. – P. 1378–1384.
88. In-situ measurement of temperature and alkali metal concentration in municipal solid waste incinerators using flame emission spectroscopy / X. He, C. Lou, Y. Qiao [et al.] // *Waste Management*. – 2020. – Vol. 102. – P. 486–491.
89. Flame photometric determination of salinity in processed foods / M. Chen, Y. Hsieh, Y. Weng [et al.] // *Food chemistry*. – 2005. – Vol. 91, №. 4. – P. 765–770.
90. Labounmi B., Kruanetr S., Ruengsitagoon W. Simple method for determination of sodium using photogrammetry/ B. Labounmi, S. Kruanetr, W. Ruengsitagoon // *IJPS*. – 2018. – Vol. 14, №. 2. – P. 122–130.
91. Direct solid sampling by flame atomic absorption spectrometry: determination of manganese in coal samples / É. M. M. Flores, J. N. G. Paniz, A. P. F. Saidelles [et al.] // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2004. – Vol. 15, №. 2. – P. 199–204.
92. Broekaert J. A. C. Analytical atomic spectrometry with flames and plasmas / J. A. C. Broekaert. – Weinheim : Wiley-VCH, 2005. – 432 p.
93. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени / Н.С. Полуэктов. – М.: ГНТИ химической литературы, 1959. – 230 с.
94. Барсуков В.И. Пламенно-эмиссионные и атомно-абсорбционные методы анализа и инструментальные способы повышения их чувствительности/ В.И. Барсуков. – М.: Машиностроение-1, 2004. – 232 с.
95. Барсуков В. И. Возможность теоретического учета влияния кислот на результаты определения магния методом пламенной эмиссионной фотометрии / В. И. Барсуков, О. С. Дмитриев, А. А. Барсуков // *Вестник ТГТУ Математика. Физика*. – 2016. – Т. 22, №. 4. С. 666–673.
96. Pohl P. Determination and fractionation of metals in honey / P. Pohl, I. Sergiel, H. Stecka // *Crit. Rev. Anal. Chem.* – 2009. – Vol. 39, №. 4. – P. 276–288.

97. Houde D. J. Biophysical characterization of proteins in developing biopharmaceuticals / D. J. Houde, S. A. Berkowitz. – Elsevier, 2019. 586 p.
98. Schroeder W. A. Quantitative Determination of Amino Acids by Iodometric Titration of Their Copper Salts-Reinvestigation of the Method of Pope and Stevens/ W. A. Schroeder, L. M. Kay, R. S. Mills //Analytical Chemistry. – 1950. – Vol. 22, №. 6. – P. 760–763.
99. El-Brashy A. M. Titrimetric determinations of some amino acids / A. M. El-Brashy, S. M. Al-Ghannam //Microchemical journal. – 1996. – Vol. 53, №. 4. – P. 420–427.
100. Amini M. K. PVC-based Mn (III) porphyrin membrane-coated graphite electrode for determination of histidine / M. K. Amini, S. Shahrokhian, S. Tangestaninejad //Analytical chemistry. – 1999. – Vol. 71, №. 13. – P. 2502–2505.
101. Abbaspour A. Determination of l-histidine by modified carbon paste electrode using tetra-3, 4-pyridinoporphyrazinatocopper (II) / A. Abbaspour, A. Ghaffarinejad, E. Safaei // Talanta. – 2004. – Vol. 64, №. 4. – P. 1036–1040.
102. Бобрешова О. В. Потенциометрическая мультисенсорная система для определения лизина в водных растворах с хлоридами калия и натрия / О. В. Бобрешова А. В. Паршина Е. А. Рызжкова //Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65, №. 8. – С. 885–891.
103. Определение глицина, аланина и лейцина при различных рН раствора с помощью ПД-сенсоров на основе гибридных мембран / Паршина Е. А., Т. С. Титова, Е. Ю. Сафронова [и др.] //Журнал аналитической химии. – 2016. – Т. 71, №. 3. – С. 272–281.
104. Количественный анализ α -аминокислот в моче нейрохирургических больных методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Армсорб» / В. Н. Майстренко, Р. Р. Ильясова, Ф. Х.Кудашева [и др.] // Вестник Башкирского университета. – 2008. – Т. 13, №. 2. – С. 265–269.
105. Soga T. Amino acid analysis by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry / T. Soga, D. N. Heiger //Analytical chemistry. – 2000. – Vol. 72, №. 6. – P. 1236–1241.

106. Бекетов В. И. Флуориметрическое определение аминокислот и фотохимическая устойчивость продуктов их реакции с орто-фталевым альдегидом под воздействием мощного импульсного лазерного излучения / В. И. Бекетов, Р. Д. Воронина, Н. Б. Зоров // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2012. – Т. 53, №. 4. – С. 228–233.
107. A highly selective semiconducting polymer dots-based “off–on” fluorescent nanoprobe for iron, copper and histidine detection and imaging in living cells / A. Chabok, M. Shamsipur, A. Yeganeh-Faal [et al.] // Talanta. – 2019. – Vol. 194. – P. 752-762.
108. Fluorimetric method for the determination of histidine in random human urine based on zone fluidics / A. Alevridis, A. Tsiasioti, C. K. Zacharis et al. // Molecules. – 2020. – Vol. 25, №. 7. – P. 1665.
109. Спектрофотометрическое определение концентрации L-лизина в водно-органических растворах / Ю. А. Нащекина, К. Е. Курдюкова, И. М. Зорин [и др.] // Журнал технической физики. – 2018. – Т. 88, №. 9. – С. 1384–1386.
110. Antosiewicz J. M. UV–Vis spectroscopy of tyrosine side-groups in studies of protein structure. Part 2: Selected applications / J. M. Antosiewicz, D. Shugar // Biophysical reviews. – 2016. – Vol. 8, №. 2. – P. 163–177.
111. Гумеров Т. Ю. Применение спектрофотометрического метода анализа в количественном определении суммы свободных α -аминокислот / Т. Ю. Гумеров, З. Р. Фахразиева, С. А. Федотов // Современные наукоемкие технологии. – 2015. – №. 12-2. – С. 219–224.
112. Использование нингидриновой реакции для количественного определения α -аминокислот в различных объектах: методические рекомендации / А. В. Симонян, А. А. Саламатов, Ю. С. Покровская [и др.] – Волгоград, 2007. – 106 с.
113. Великанова О. Ф. Спектрофотометрический метод определения суммарного количества аминокислот в сыворотке крови / О. Ф. Великанова, Ю. В. Галаев // Лабораторное дело. – 2001. – №. 11. – С. 701–702.

114. Спектрофотометрическое определение фенилаланина и тирозина / В. Ф. Селеменев, В. Ю. Хохлов, Н. Я. Коренман [и др.] //Журнал аналитической химии. – 1994. – Т. 49, №. 4. – С. 446–447.
115. Спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты и аминокислот при совместном присутствии / Н. Я. Мокшина, Р. В. Савушкин, В. Ф. Селеменев [и др.] //Аналитика и контроль. – 2004. – № 4. – С. 346–348.
116. Spectrophotometric determination of proline in aqueous solutions / E. G. Davydova, D. L. Kotova, T. A. Krysanova [et al.] //Journal of Analytical Chemistry. – 2005. – Vol. 60, №. 8. – P. 710–713.
117. Spectrophotometric determination of aromatic and heterocyclic amino acids in mixtures / A. V. Kaznacheev, O. N. Khokhlova, V. F. Selemenев [et al.] //Journal of Analytical Chemistry. – 2000. – Vol. 55, №. 4. – P. 335–337.
118. Котова Д.Л. Спектрофотометрическое определение аминокислот в водных растворах / Д.Л. Котова, Т.А. Крысанова, Т.В. Елисеева. – Воронеж: ВГУ, 2004. – 55 с.
119. Fitz J. Spectroscopic study of the pH dependent interaction of an achiral molecular photo-switch with poly-Glutamic acid / J. Fitz, A. Mammana //J. Photochem. Photobiol., A. – 2020. – Vol. 388. – P. 112146.
120. Effect of amino group protonation on the carboxyl group in aqueous glycine observed by O 1s X-ray emission spectroscopy / Y. Horikawa, T. Tokushima, O. Takahashi [et al.] //Phys. Chem. Chem. Phys. – 2018. – Vol. 20, №. 36. – P. 23214–23221.
121. Donovan J. W. Ultraviolet absorption. In: Physical principles and techniques of protein chemistry / J. W. Donovan. – London: Elsevier, 1969. – 170 p.
122. Спектрофотометрическое определение цистеина в водном растворе / О. И. Рожнова, Д. Л. Котова, В. Ф. Селеменев [и др.] //Журнал аналитической химии. – 1999. – Т. 54, №. 12. – С. 1265–1267.
123. Demchenko A. P. Ultraviolet spectroscopy of proteins / A. P. Demchenko. – Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1986. – 312 p.

124. Mitigation of membrane scaling in electrodialysis by electroconvection enhancement, pH adjustment and pulsed electric field application / M.A. Andreeva, V.V. Gil, N.D. Pismenskaya [et al.] // *J. Membr. Sci.* – 2018. – Vol. 549. – P. 129-140.
125. Физико-химические свойства ионообменных материалов / Н.П. Березина, Н.А. Кононенко, Г.А. Дворкина [и др.]. – Краснодар: Изд-во Кубан. гос. ун-та, 1999. – 82 с.
126. Акберова Э.М. Структурно-обусловленные эффекты термохимической модификации гетерогенных ионообменных мембран: диссертация. канд. хим. наук: 02.00.05 / Э.М. Акберова; Воронеж. гос. ун-т; науч. рук. В.И. Васильева. — Защищена 04.06.15. — Воронеж, 2015. — 208 л.
127. Ионитовые мембраны. Грануляты. Порошки: каталог / Г. З. Нефедова, З. Г. Климова, Г. С. Сапожникова; под редакцией А. Б. Пашкова. – Москва: НИИТЭХим, 1977. – 31 с.
128. Сайт АО МЕГА [Электронный ресурс] [URL:http://www.mega.cz](http://www.mega.cz).
129. Davydov D. et al. Use of the Microheterogeneous Model to Assess the Applicability of Ion-Exchange Membranes in the Process of Generating Electricity from a Concentration Gradient // *Membranes*. – 2021. – Т. 11. – №. 6. – С. 406.
130. Phenylalanine roles in the seed-to-seedling stage: Not just an amino acid / M.C. Perkowski, K. M. Warpeha // *Plant Sci.* – 2019. – Vol. 289. – Art. No. 110223.
131. Effects of foliar spraying of L-phenylalanine and application of bio-fertilizers on growth, yield, and essential oil of hyssop [*Hyssopus officinalis* l. subsp. *Angustifolius* (Bieb.)] / K. Aghaei, A. G. Pirbalouti, A. Mousavi, [et al.] // *Biocatal. Agric. Biotechn.* – 2019. – Vol. 21. – Art. No. 101318.
132. Якубке Х.-Д. Аминокислоты. Пептиды. Белки / Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт. – Москва: Мир, 1985. – 82 с.
133. Neutralization dialysis for phenylalanine and mineral salt separation. Simple theory and experiment / A. Kozmai, E. Goleva, V. Vasil'eva [et al.] // *Membranes*. – 2019. – Vol. 9. – Art. No. 171.

134. Основы биохимии: в 3 томах / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит [и др.]; Т.1. – Москва: Мир, 1981. – 535 с.
135. Филлипович Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филлипович. – Москва: Агар, 1999. – 512 с.
136. Legras M. Diffusion et transport facilité à travers les membranes sulfoniques planes et tubulaires. Influence de la forme ionique. Etude la polarisation et de sa reduction par des tubulaterus : Thèse de doctorat, Université de Ruen. – 2000. – 169 p.
137. Васильева В. И. Селективное выделение ионов натрия из смеси с фенилаланином Доннановским диализом с профилированной сульфокатионообменной мембраной / В.И. Васильева, Е.А. Голева // Журн. физ. химии. – 2013. – Т.87, № 11. – С. 1895-1901.
138. Хванг С.-Т. Мембранные процессы разделения / С.-Т. Хванг, К. Каммермейер. – Москва: Химия, 1981. – 464 с.
139. Hariharan P. Basics of interferometry / P. Hariharan. – New-York: Elsever, 2007. – 227 p.
140. Шапошник В.А. Явление переноса в ионообменных процессах / В.А. Шапошник, В.И. Васильева, О.В. Григорчук. – Москва: МФТИ, 2001. – 200 с.
141. Васильева В.И. Концентрационные поля и явления переноса в электромембранных системах : диссертация . д-ра хим. наук : 02.00.05 / В.И. Васильева ; Воронеж. гос. ун-т; науч. консультант В.А. Шапошник .— Защищена 03.07.08 .— Воронеж, 2008 .— 475 с.
142. Доерфель К. Статистика в аналитической химии. – Москва: Мир, 1994. – 267 с.
143. Устройство для комплексного исследования локальных характеристик электромембранной системы: полезная модель к патенту RU 162966 U1 : МПК G01N27/40 / В. И. Васильева, Э. М. Акберова, М. Д. Малыхин [и др.] ; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет . – Москва, 2016. – (№ 2015138036/28; заявл. 07.09.2015; опубл. 10.07.2016) .

144. Тимашев С. Ф. Фликкер-шумовая спектроскопия в анализе хаотических временных рядов динамических переменных и проблема отношения «сигнал – шум» / С. Ф. Тимашев, Г. В. Встовский // Электрохимия. – 2003. – Т. 39, № 2. – С. 156–169.
145. Wentzell P. D. Signal processing in analytical chemistry / P.D. Wentzell, C.D. Brown // Encyclopedia of Analytical Chemistry. – 2000. – Vol. 11. – P. 9764-9800.
- Driscoll S. Signal processing in analytical chemistry / S. Driscoll, M. Dowd, P.D. Wentzell // Journal of Chemometrics. – 2020. – Vol. 34. – P. e3137.
146. Тимашев С. Ф. Фликкер-шумовая спектроскопия в анализе хаотических временных рядов динамических переменных и проблема отношения «сигнал – шум» / С. Ф. Тимашев, Г. В. Встовский // Электрохимия. – 2003. – Т. 39, № 2. – С. 156–169.
147. Ehrentreich F. Wavelet transform applications in analytical chemistry / F. Ehrentreich // Analytical and Bioanalytical chemistry. – 2002. – Vol. 372. – P. 115-121.
148. Калюкова Е.Н. Титриметрические методы анализа: Учебное пособие / Е.Н. Калюкова. – Ульяновск: УлГТУ, 2008. – 108 с.
149. РЭМ-диагностика поверхности гетерогенных ионообменных мембран МК-40 и МА-40 в набухшем состоянии после температурного воздействия / В. И. Васильева, Э. М. Акберова, А. В. Жильцова [и др.] // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2013. – № 9. – С. 27-34.
150. Разработка и экспериментальная апробация программного комплекса для определения доли ионопроводящей поверхности гетерогенных мембран по данным растровой электронной микроскопии / Е.А. Сирота, Н. А. Кранина, В. И. Васильева [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. – 2011. – №2. – С. 53-59.
151. Damian J. H. Biophysical characterization of proteins in developing biopharmaceuticals / J. H. Damian, S. A. Berkowitz. – USA: Elsevier, 2019. – 586 p.

152. Fitz J. Spectroscopic study of the pH dependent interaction of an achiral molecular photo-switch with poly-Glutamic acid / J. Fitz, A. Mammana // J. Photochem. Photobiol. A. – 2020. – Vol. 338. – Art. No. 112146.
153. Second derivative analysis of synthesized spectra for resolution and identification of overlapped absorption bands of amino acid residues in proteins: Bromelain and ficin spectra in the 240-320 nm range / I.A. Lavrinenko, M. G. Holyavka, V. E. Chernov [et al.] // Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. – 2020. – Vol. 227. – Art. No. 117722.
154. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот / В.Ф. Селеменев [и др.]. Воронеж: ВГУ, 2001. 300 с.
155. Butler J.N. Ionic Equilibrium: a Mathematical Approach / J.N. Butler. – London: Addison–Wesley, 1964. – 547 p.
156. Хохлова О.Н. Некоторые особенности термодинамики необменной сорбции фенилаланина анионообменниками различной природы / О.Н. Хохлова // Журн. физ. хим. – 2010. – Т. 84, № 5. – С. 956-959.
157. Реологические и спектральные свойства водных растворов фенилаланина / Е.А. Голева, В.И. Васильева, Е.О. Абрамова [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2018. – Т. 18, № 2. – С. 190–196.
158. Необменная сорбция фенилаланина низкоосновными анионообменниками из солянокислых растворов / Т.С. Карлашова, Е.С. Трунаева, О.Н. Хохлова [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – Воронеж, 2014. –Т. 14, Вып. 4. – С. 648-653.
159. Воробьев М.М. Исследование гидратации α -аминокислот методом абсорбционной миллиметровой спектроскопии / М.М. Воробьев, А.А. Баранов, В.М. Беликов // Изв. АН. Сер. Хим. – 1996. – №3. – С. 618–623.
160. Near UV-Visible electronic absorption originating from charged amino acids in a monomeric protein / S. Prasad, I. Mandal, S. Singh [et al.] // Chem. Sci. – 2017. – Vol. 8, № 8. – P. 5416–5436.

161. Основы аналитической химии. Практическое руководство / В.И. Фадеева [и др.]. М.: Высш. шк., 2001. 464 с.
162. Смагунова А.Н. Методы математической статистики в аналитической химии / А.Н. Смагунова, О.М. Карпукова. – Ростов н/Д: Феникс, 2012. – 346 с.
163. Барсуков В.И. Атомный спектральный анализ / В.И. Барсуков. – Москва: Машиностроение-1, 2005. – 132 с.
164. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени / Полуэктов Н.С. – Москва: ГНТИ химической литературы, 1959. – 230 с.
165. Барсуков В.И. Пламенно-эмиссионные и атомно-абсорбционные методы анализа и инструментальные способы повышения их чувствительности / В.И.Барсуков. – Москва: Издательство Машиностроение-1, 2004. – 232 с.
166. Хохлова О. Н. Влияние хлорида натрия на необменную сорбцию фенилаланина и тирозина низкоосновным анионообменником АН-221 / О.Н. Хохлова, Е.В. Немчинова, Т.Н. Нефедова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, вып. 5. –С. 753-759.
167. Шапошник В. А. Кинетика электродиализа / В. А. Шапошник. – Воронеж: ВГУ, 1989. – 176 с.
168. Голева Е.А. Доннановский диализ водно-солевых растворов фенилаланина на профилированных гетерогенных ионообменных мембранах: диссертация. канд. хим. наук: 02.00.04 / Е.А. Голева; Воронеж. гос. ун-т; науч. рук. В.И. Васильева.— Защищена 02.03.17 .— Воронеж, 2017 .— 172 с.
169. Effect of anion exchange membrane capacity loss on pH and electric conductivity of saline solution during neutralization dialysis / A. Kozmai, V. Nikonenko, N. Pismenskaya [et al.] //Journal of Membrane Science. – 2020. – Vol. 595. – Art. No. 117573.
170. Влияние неоднородности поверхности на вольтамперные характеристики гетерогенных ионообменных мембран /В.И.Васильева, А.В.Жильцова, Э.М.Акберова [и др.] //Конденсированные среды и межфазные границы. – 2014. – Т. 16, №. 3. – С. 257-261.

171. Mishchuk N. A. Electroosmotic mechanism of appearance of overlimiting current / N. A. Mishchuk, S. S. Dukhin // *Химия и технология воды*. – 1991. – Vol. 13, No 11. – P. 963-971.
172. Current-voltage characteristic of anion-exchange membrane in monosodium phosphate solution. Modelling and experiment / Belashova E. D., Pismenskaya N. D., Nikonenko, V. V. [et al.] // *J Membr Sci*. – 2017. – Vol. 542. – P. 177-185.
173. Kinetics of the electrical mass transfer of sodium and glycine cations with allowance for the protonation of zwitterions in conditions of limiting concentration polarization of electromembrane systems with cation-exchange membranes / Zagorodnykh L.A., Bobreshova O.V., Kulintsov P.I. [et al.] // *Russ J Electrochem*. – 2005. – Vol. 41. – P. 275–279.
174. Золотов Ю. А. Аналитическая химия: день сегодняшней / Ю. А. Золотов // *Журнал аналитической химии*. – 2007. – Т. 62, №. 10. – С. 1014-1020.
175. Данцер К. Аналитика. Систематический обзор / К. Данцер, Э. Тан, Д. Мольх. – М. : Химия, 1981. – 278 с.
176. Хемометрика / М. А. Шараф, Д. Л. Иллмэн, Б. Р. Ковальски. – Л.: Химия, 1989. – 272 с.
177. Жильцова А. В. Влияние природы ионогенных групп катионообменных мембран на колебательную неустойчивость концентрационного поля в стратифицированных электромембранных системах при высокоинтенсивных токовых режимах/ А. В. Жильцова, М. Д. Малыхин, В. И. Васильева // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2009. – Т. 9, №. 6. – С. 904-915.
178. Пространственно-временные корреляции в диссипативной структуре, возникающей в электрохимической системе с катионообменной мембраной/ Е. Ю. Будников, А. В. Максимычев, А. В. Колубин [и др.] // *Электрохимия*. – 2001. – Т. 37, №. 1. – С. 95-103.
179. Спектральные свойства флуктуаций концентрационного поля в стратифицированных электромембранных системах с катионообменной мембраной МК-40/ В. И. Васильева, А. В. Жильцова, М. Д. Малыхин [и др.]

//Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9, №. 2. – С. 196-207.

180. Александров Р.С. Влияние скорости электродных реакций на конвективную колебательную неустойчивость в трехкомпонентном электролите / Р. С. Александров, А.П. Григин, А.Д. Давыдов // Электрохимия. – 2001. – Т.37, № 1. – С.5-11.

181. Шапошник В. А. Влияние скорости электродных реакций на конвективную колебательную неустойчивость в трехкомпонентном электролите / В. А. Шапошник, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев // Электрохимия. – 1993. – Т. 29, №. 6. – С. 794-795.

182. Elisseeva T. V. Demineralization and separation of amino acids by electrodialysis with ion-exchange membranes/ T. V. Elisseeva, V. A. Shaposhnik, I. G. Luschik //Desalination. – 2002. – Vol. 149, №. 1-3. – P. 405-409.

183. How electrical heterogeneity parameters of ion-exchange membrane surface affect the mass transfer and water splitting rate in electrodialysis /S. Zyryanova, S. Mareev, V. Gil [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, №. 3. – P. 973.