



Как видно из полученных данных, реакция образования АмЖК в данных условиях в течение временного периода подавляет образование МЭЖК.

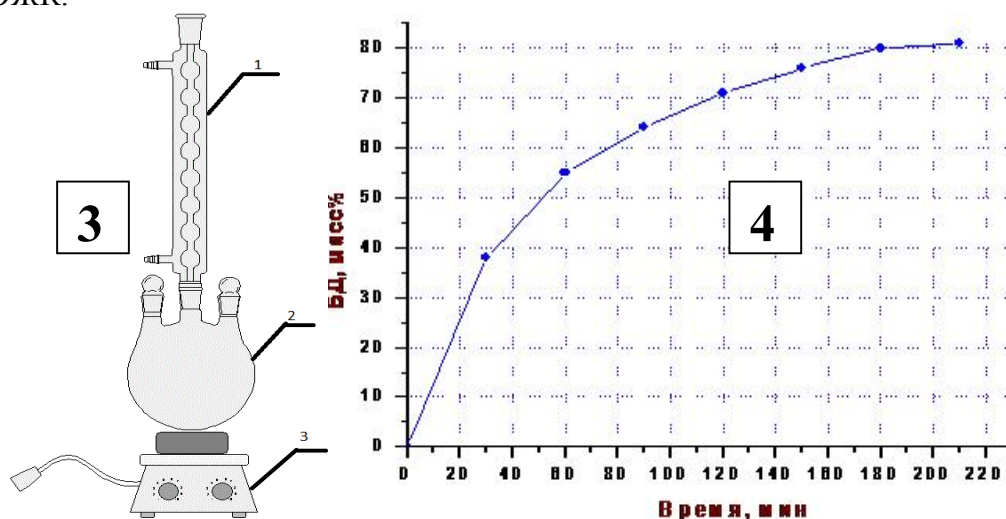


Рис. 2. Временная зависимость образования Метилвых Эфиров (МЭЖК) при катализе ДФГ. Температура 65°C

Рис. 3. Схема установки: 1-холодильник, 2 – стеклянные колбы, 3 - мешалка и нагревательный элемент

На следующем этапе нами была исследована возможность использования N,N-дифинилгуанидина (ДФГ) в качестве катализатора реакции переэтерификации. Исследования с ДФГ мы проводили на установке, показанной на рисунке 3. Реакцию проводили при атмосферном давлении и температуре 65 °С при соотношении Масло/Метанол = 50/20 грамм.

Полученные результаты (рис. 4), являются очень интересными и весьма перспективными, на наш взгляд, для дальнейшего исследования и возможной промышленной реализации.

УДК 547.313

В.Ф. Швец, Р.А. Козловский, И.А. Козловский, А.В. Прохоров, Г.Г. Каграманов, Е. Егоров, С.А. Максимов

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО И КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ПРОМЫШЛЕННОГО РАСТВОРА ЛАКТАТА АММОНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ В НЕМ ПРИМЕСЕЙ

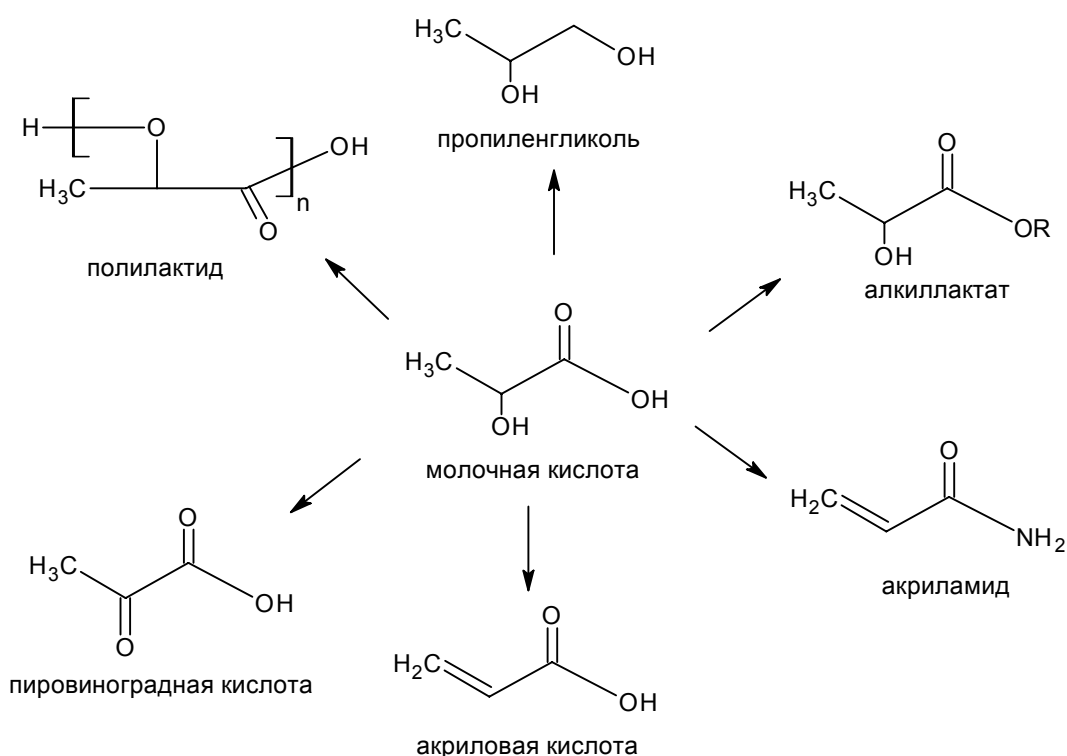
The methods of qualitative and quantitative analysis of the industrial solution of ammonium lactate on the content of lipids, peptides and amino acids. The total mass of impurities in the ammonium lactate solution was determined. The analysis of solutions of lactate, purified by nanofiltration installation.



Рассмотрены методы качественного и количественного анализа промышленного раствора лактата аммония на содержание в нем липидов, пептидов и аминокислот. Определена суммарная масса примесей в растворе лактата аммония. Проведен анализ растворов лактата, очищенных на нанофильтрационной установке (НФ).

*Введение.* Молочную кислоту в промышленности получают либо синтетическими методами из продуктов переработки нефти, либо методом молочнокислого брожения сахаросодержащего сырья. Последний метод более актуален ввиду постепенного истощения запасов нефти. Сама молочная кислота может быть использована для синтеза многих ценных веществ. Наиболее ценные из них представлены на схеме 1.

Схема 1. Применение молочной кислоты.



В процессе молочнокислого брожения образующаяся кислота нейтрализуется аммиаком, поэтому конечным продуктом брожения является лактат аммония. Ферментационный раствор (культуральная жидкость) представляет собой разбавленный раствор, содержащий большое количество различных веществ – продуктов жизнедеятельности бактерий, эти вещества (особенно пептиды и аминокислоты) затрудняют дальнейшую переработку лактата аммония в бутиллактат, так как вступают в побочные процессы и снижают селективность целевой реакции.

Целью данной работы стала идентификация примесей, а также разработка экспресс-методов их определения в растворе лактата аммония как исходном, так и очищенном различными способами.



Анализ раствора лактата аммония проводился методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) на алюминиевых пластинках, покрытых слоем силикагеля. Количественное определение суммарной массы примесей проводилось следующим образом [1], [2]: к раствору лактата аммония добавляли примерно 100 % от массы раствора лактата аммония азеотропообразователя (бензол). Затем основное количество воды отгоняли на ректификационной колонне в виде азеотропа вода-бензол, а оставшуюся воду удаляли при 60°C под вакуумом на роторе.

*Результаты и их обсуждение.* Методом ТСХ [2] провели качественный анализ раствора лактата аммония, а также растворов экстрагентов (которыми обрабатывали раствор лактата аммония), на содержание в них нейтральных липидов и фосфолипидов. Положение вещества на хроматограмме характеризуется величиной  $R_f$ , которая представляет собой отношение длины пути, пройденного веществом на хроматограмме к длине пути, пройденного элюэнтотом. В методике определения использовались элюэнты:

- на фосфолипиды: хлороформ – ацетон – уксусная кислота – метанол – вода (12:6:3:3:1 по объему);
- на нейтральные липиды: петролейный эфир – диэтиловый эфир – уксусная кислота (90:10:1 по объему).

Проявитель: 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты. Полученные данные приведены в таблице 1.

**Табл 1. Данные по анализу исходного раствора лактата аммония и экстрактов на липиды**

Экстрагент	Фосфолипиды	Нейтральные липиды	$R_f$
Исходный раствор	нет	нет	-
Гексан	нет	нет	-
Диэтиловый эфир	нет	нет	-
Бутанол	нет	нет	-
Хлороформ	нет	нет	-
Хлороформ-этанол	нет	нет	-
Стандарт (стеариновая кислота)	нет	да	0,46

Таким образом, было установлено, что исходный раствор лактата аммония не содержит фосфолипидов и нейтральных липидов.

Далее, методом ТСХ [2] провели качественный анализ раствора лактата аммония на содержание в нем пептидов и аминокислот. Для проведения анализа брали 1% раствор лактата аммония, 0,3 % раствор дрожжевого экстракта (который представляет собой питательную смесь для молочнокислых бактерий) и 1% раствор искусственного лактата аммония, не содержащий примесей. Последние два раствора использовались в качестве растворов сравнения. Также в качестве растворов сравнения брали 0,1% растворы глицина и валина. В методике определения использовались элюэнты:



на белки и аминокислоты: хлороформ – ацетон – уксусная кислота – метанол – вода (12:6:3:3:1 по объему) хлороформ-метанол-25% аммиак(2:2:1 по объему). В качестве проявителя использовали раствор нингидрина, при приготовлении которого 0,3 г нингидрина растворяют в растворе, состоящем из 67 мл бутанола и 2 мл ледяной уксусной кислоты. Полученные данные приведены в таблице 2.

Табл. 2. Анализ исходного раствора лактата аммония на пептиды и аминокислоты

Вещество	Rf
Аминокислоты	0,96; 0,73; 0,68; 0,62
Лактат аммония	0,52
Пептиды	0,46; 0,32; 0,22; 0,19; 0,13; 0,05

Таким образом, в растворе лактата аммония было обнаружено, по крайней мере, 4 аминокислоты и 6 пептидов, причем было замечено, что чем выше молярная масса аминокислоты тем выше ее Rf. Нингидрин окрашивает аминокислоты и пептиды в темно-синий цвет, в отличие от них лактату аммония соответствует характерное бесцветное «серповидное» пятно.

Табл. 3. Идентифицированные аминокислоты.(в скобках приведен Rf по [1]).

Аминокислоты	Rf	Наличие в культуральной жидкости	Наличие в дрожжевом экстракте
Лактат аммония	0,66	+	-
Триптофан	0,49(0,47)	+	+
Тирозин	0,39(0,41)	+	+
ε-амино-н-капроновая к-та	0,34(0,34)	+	-
α-Аминоизомасляная к-та	0,27(0,27)	+	+ (Наибольшая интенсивность и площадь пятна)
α-Амино-н-масляная к-та			
γ-Амино-н-масляная к-та			
β-Аминоизомасляная к-та	0,26(0,25)	-	+
Треонин	0,195(0,20)	+	+
Глицин	(0,18)	Наибольшая интенсивность и площадь пятна.	
Серин	(0,18)		
Таурин	(0,18)		
Саркозин	0,12(0,12)		
Аргинин	0,07(0,06)	+	+
Орнитин	0,043(0,04)	+	-
Гистидин	(0,05)		

Для идентификации аминокислот была использована специальная методика [1]. В ней в качестве элюэнта используется система н-бутанол - ледяная уксусная кислота – вода (80:20:20 по объему), в качестве проявителя также используется нингидрин. Полученные данные приведены в таблице 3.



Таким образом, с помощью данной методики было определено количество аминокислот в культуральной жидкости и дрожжевом экстракте (по крайней мере 9), также были идентифицированы аминокислоты, и были определены отличия в составе аминокислот в питательной смеси для молочнокислых бактерий и в растворе лактата аммония (культуральной жидкости), являющемся конечным продуктом молочнокислого брожения (в культуральной жидкости отсутствуют аминокислоты с  $R_f$  0,26; 0,12, а в дрожжевом экстракте в свою очередь отсутствуют аминокислоты с  $R_f$  0,66; 0,34; 0,043. Установлено, что основной составляющей культуральной жидкости (максимальная интенсивность) является аминокислота (или смесь аминокислот) с  $R_f$  0,195, а основной составляющей дрожжевого экстракта является аминокислота (или смесь аминокислот) с  $R_f$  0,27.

Полученные методики были применены при исследовании растворов лактата аммония, очищенных на НФ. Эксперименты проводились на промышленном рулонном модуле ЭРН-Б-45-350 производства ЗАО «Владипор» при давлении 8 бар и температуре 40-50°C. Характеристики рулонного модуля приведены в таблице 4

Табл. 4. Характеристики мембранного модуля ЭРН-Б-45-350

Параметр	ЭРН-Б-45-350
Материал селективного слоя	Полиамид
Типоразмер модуля	1812
Площадь мембраны, м <sup>2</sup>	0,28
Рабочее давление, бар	5
Максимальное давление, бар	8
Производительность по воде при рабочем давлении, л/ч	8
Селективность по 0,2% раствору MgSO <sub>4</sub>	90%
Селективность по 0,15% раствору NaCl	55%
Рабочий диапазон pH	2-12
Максимальная температура, °C	55

При разделении 2,5 л культуральной жидкости на НФ было получено 1 л пермеата №1 (раствор, прошедший через мембрану) и 1,5 л концентрата №1 (раствор, не прошедший через мембрану). Затем к концентрату №1 было добавлено 2,5 л культуральной жидкости и получен раствор после смешения №1, после разделения которого образовалось 2,5 л пермеата №2 и 1,5 л концентрата №2. Концентрат №2 был разбавлен лактатом аммония (получен раствор после смешения 2) и подвергнут нанофильтрации при 9 барах. Получено 2,5 л пермеата №3 и 2,5 л концентрата №3.

Для анализа были приготовлены 1% растворы из полученных на мембране и 0,3% раствор дрожжевого экстракта. Использовались две методики (на аминокислоты и универсальная – на белки и аминокислоты).

Установлено, что нанофильтрация дает лишь частичную очистку от аминокислот. Во втором пермеате эффективность очистки не снижается, но



в третьем пермеате площади пятен несколько выше, чем в первом и втором, что косвенно указывает на увеличение содержания данных веществ в нем. В концентратах происходит накопление примесей о чем можно судить по увеличению площади пятен на хроматограмме, соответствующих веществам. Таким образом, накопление примесей в пермеатах происходит медленно и становится заметно только в 3 концентрате, что свидетельствует об эффективной работе НФ в течение длительного времени.

Табл. 5. Результаты анализа растворов лактата аммония, полученных после очистки на нанофильтрацией на модуле ЭРН-Б-45-350

Раствор	$m_{p-ра}$ , Г	$m_{бензола}$ , Г	$m_{лакт}$ , Г	$m_{примесей}$ , Г	$W_{примесей}$ , %	$W_{на\ лакт}$ , %	Выход бутиллактата, %
Исходный	52,77	6,07	4,4	0,78	1,48	12,85	79,4
Пермеат №1	50,57	43,58	3,87	0,21	0,42	5,43	96,6
Концентрат №1	41,23	30,26	3,69	0,54	1,31	14,63	
После смешения 1	36,30	32,73	3,42	0,80	2,10	23,32	
Пермеат №2	54,3	41,5	4,41	0,58	1,07	13,15	93,1
Концентрат №2	50,6	34,83	5,33	1,17	2,31	21,95	
После смешения 2	41,6	46,3	4,50	0,87	2,1	19,33	
Пермеат №3	54,30	55,40	5,25	0,95	1,75	18,10	92,0
Концентрат №3	52,94	56,10	6,47	1,83	3,46	28,28	70,5

Обнаружено, что при помощи НФ раствор лактата аммония эффективно очищается от белков, причем ни в первом, ни во втором пермеате не обнаружено белков, а в пермеате №3 их очень мала.

Таким образом, на НФ осуществляется очистка культуральной от белков и, частично, от аминокислот, причем 1 и 2 пермеаты практически не отличаются друг от друга по степени очистки, а в концентратах накапливаются примеси.

Для установления влияния концентрации примесей на процесс получения бутиллактата, пермеаты и концентрат №3 подвергли этерификации бутанолом. Выходы бутиллактата в этих экспериментах приведены в таблице 5. Количественный метод анализа исходного и очищенных растворов лактата аммония на суммарное содержание в них примесей основывался на отгоне воды из раствора лактата с азеотропообразователем (бензол), после чего



по разнице массы сухого остатка и массы сухого лактата аммония (найден титрованием) определяли массу примесей. Полученные данные приведены в таблице 5.

*Выводы.* Проведен качественный анализ раствора лактата аммония на содержание в нем пептидов и аминокислот методами тонкослойной хроматографии.

Установлено суммарное содержание примесей в растворе лактата аммония методом отгона воды с азеотропообразователем (бензолом) и последующего измерения массы сухого остатка.

Методом тонкослойной хроматографии было доказано отсутствие в растворе лактата аммония фосфолипидов и нейтральных липидов.

Показано, что нанофильтрация является эффективным методом очистки культуральной жидкости от пептидов, что приводит к существенному увеличению выхода в реакции этерификации.

Важно отметить, что проведение очистки раствора лактата аммония на промышленном рулонном модуле ЭРН-Б-45-350 производства ЗАО «Владипор» упрощает внедрение данной технологии.

#### Библиографические ссылки

1. Дэвени Т., Гергей Я., Аминокислоты, пептиды и белки пер. с англ./Т. Дэвени, Я. Гергей. М.: Мир, 1976. 368с.
2. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях /пер. с нем./Э. Шталь. М.: Мир, 1965. 508с.

УДК 547.73+543.214

А.А. Мизерев,<sup>a</sup> Е.В. Луковская,<sup>a</sup> А.А. Бобылева,<sup>a</sup> О.А. Федорова,<sup>a,b</sup>  
Ю.В. Федоров<sup>b</sup>, А. В. Анисимов<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Химический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>b</sup> Институт элементоорганических соединений РАН, Москва, Россия

#### СИНТЕЗ, КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ, ОПТИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ОЛИГОТИОФЕНОВ

A series of oligothiophenes containing annelated crown-ethers was synthesized. Using spectrophotometric titration and cyclic voltammetry methods it was shown that one of the oligothiophenes revealed the properties of ditopic receptor having optical and electrochemical responses during complex formation.

Осуществлен синтез серии олиготиофенов, содержащих аннелированный краун-эфир. Методами спектрофотометрического титрования и циклической вольтамперометрии показано, что один из олиготиофенов является дитопным рецептором, обладающим оптическим и электрохимическим откликом на процесс комплексобразования.