

УДК 543.456:615.1:661.745

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОФОТОГРАФИЧЕСКОГО СПОСОБА РЕГИСТРАЦИИ ЭФФЕКТОВ НАБУХАНИЯ СОРБЦИОННО-АКТИВНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ГРАНУЛ В АНАЛИЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Л.В. Рудакова¹, И.Г. Кудухова², В.Ф. Селеменев³

¹*Кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии.*

Воронежская государственная медицинская академия

Ул. Студенческая, 10. г. Воронеж, 394000. Россия

vodoley65@mail.ru

²*Кафедра физики и химии.*

Воронежский государственный архитектурно-строительный университет

Ул. 20-летия Октября, 86. г. Воронеж, 394006. Россия

chemistry@vgasu.vrn.ru

³*Кафедра аналитической химии. Воронежский государственный университет*

Университетская пл.1. г. Воронеж, 394006. Россия.

journal@chem.vsu.ru

Поступила в редакцию 28 ноября 2011 г.

Предложен микрофотографический способ анализа растворов биологически активных веществ на основании интегральной зависимости степени набухания в них нескольких сорбционно-активных полимерных гранул. В качестве единичного аналитического сигнала использован полученный с применением цифрового фотоаппарата, совмещенного с микроскопом, цифровой видеосигнал, регистрирующий степень набухания гранулы полимера. В качестве интегрального показателя предложено использовать геометрические параметры диаграмм, построенных в полярных координатах, на которых отложены результаты измерений объемов нескольких набухающих гранул.

Ключевые слова: набухание полимерных гранул, цифровой видеосигнал, микрофотография, интегральный показатель, растворы биологически активных веществ.

Рудакова Людмила Васильевна – кандидат химических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежской государственной медицинской академии.

Область научных интересов: аналитическая химия биологически активных веществ, оптические и хроматографические методы анализа.

Автор 100 публикаций.

Кудухова Инга Гайозовна – аспирант третьего года обучения кафедры физики и химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета.

Область научных интересов: анализ фармацевтических препаратов и пищевых продуктов с применением мультисенсорных систем.

Автор 15 публикаций.

Селеменев Владимир Федорович – доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующий кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета.

Область научных интересов: аналитическая и физическая химия природных соединений, сорбционные и хроматографические процессы.

Автор более 600 публикаций.

На степень набухания полимерных материалов в растворах может оказывать влияние целый ряд факторов [1]: природа полимера и растворителя, гибкость полимерной цепи, молекулярная масса, поперечная связанность, кристаллическая структура полимера, температура и др. Для аналитической химии важным является то, что одним из факторов, влияющих

на объемные эффекты, наблюдаемые при взаимодействии полимеров с растворами, является химическая природа полимера и концентрация веществ в растворе. Если величина объемных эффектов может селективно и количественно зависеть от химической природы полимера и растворенного вещества, а также от его кон-

центрации, тогда объемные эффекты можно использовать как аналитический сигнал.

Применение эффекта набухания в генерации аналитического сигнала связано с рядом проблем. Необходима, в первую очередь, надежная регистрация изменения объема или поперечного размера гранулы, которая должна быть правильной геометрической формы – сферической или эллипсоидной. Гранулы полимера должны иметь однородную, без дефектов поверхность и структуру матрицы, равномерность шивки и размеров пор. Целесообразно, чтобы процесс набухания быстро достигал равновесного состояния. Гранулы при регистрации изменения размеров при набухании не должны перемещаться [2]. Еще одна проблема, которую необходимо решить при использовании эффектов набухания – это обеспечение селективности изменения объема гранул в зависимости от природы аналита.

Объемные эффекты гранул полимеров и ионообменных смол в растворах давно привлекали к себе внимание исследователей. Для их регистрации использовали аналоговую и цифровую микрофотографию, макроизмерения в колонках, заполненных гранулами, изопиестический метод и дилатометрию [1-5]. Современные достижения в цифровой фотографии и программном обеспечении по обработке электронных изображений позволяют наиболее эффективно использовать именно цифровые технологии в измерении степени набухания полимерных частиц [5, 6]. Цифровые устройства позволяют не только регистрировать видеосигнал, но и транслировать его на персональный компьютер для последующей программной обработки полученных изображений.

Следует отметить, что, начиная с 90-х годов прошлого века, морфологический и цветометрический анализ электронных изображений стал всё шире применяться в оптической и электронной микроскопии, в диагностике материалов, медицинской диагностике, химическом анализе [7-12]. Цифровой фотоаппарат в качестве регистрирующего устройства в настоящее время широко используют не только в микрофотографии, но и в цветометрии, в контроле качества сельскохозяйственной, пищевой продукции и т.д., так как помимо высокой производительности, экспрессивности, документальности, доступности и компактности, он предоставляет возможность сохранения большого числа данных и применим как в лаборатории, так и в полевых условиях [7, 8, 12].

При наличии селективности набухания гранул полимеров в растворах различных аналитов, их можно рассматривать как твердотельные химические сенсоры, пригодные для создания мультисенсорного устройства [9-11].

Целью работы является изучение возможностей мультисенсорного микрофотографиче-

ского способа контроля в водных и водно-органических растворах биологически активных веществ с использованием в качестве аналитического сигнала объемов нескольких набухающих гранул полимеров.

Способ реализован на устройстве, состоящем из цифрового фотоаппарата Olympus SP-500 UZ, установленного на окуляр микроскопа Biolam. Гранулы полимеров помещали в термостатируемый пластиковый планшет, закрытый стеклянной пластиной. В качестве источника света в микроскопе использовали красный светодиод, позволяющий получать изображение гранулы с четким контуром. Фотоаппарат для передачи данных в реальном времени соединили с персональным компьютером (ПК). Программная часть установки состояла из двух приложений для ПК: программы для получения изображения от фотокамеры Cam2Com и программы Pixa, Ver. 4.70e, позволяющей рассчитывать размеры гранул по электронному изображению.

Для регистрации видеосигнала гранулы помещали в ячейки планшета, ячейки заполняли растворителем или раствором сравнения. Поскольку степень набухания зависит от температуры, то последнюю с помощью термостата поддерживали постоянной в течение анализа (25 ± 1 °C). Через промежуток времени, достаточный для достижения равновесного объема гранул в растворителе или растворе сравнения, фиксировали изображение гранул с помощью цифровой фотокамеры. Для получения мультисенсорного сигнала использовали 5-7 гранул размером 0.50-0.75 мм формы, близкой к сферической (по данным измерений на лазерном дифрактометре Fritsch Analysette 22 NanoTech Combi).

Далее ячейки планшета освобождали от растворителя и заполняли анализируемым раствором. Через время, достаточное для достижения равновесного объема гранул в исследуемом растворе, регистрировали изображение гранул с помощью мультисканального детектора.

В качестве чувствительных элементов были испытаны сферические гранулы полимерных сорбентов ионообменной и неионогенной природы, некоторые из них приведены в табл. 1.

По полученным в формате .jpeg цифровым изображениям набухших гранул определяли поперечный размер гранул и рассчитывали относительное изменение объема F гранул в анализируемом растворе по сравнению с чистым растворителем или раствором сравнения:

$$F = \frac{V - V_0}{V_0},$$

где V – объем гранулы в растворе аналита, V_0 – объем гранулы в чистом растворителе или растворе сравнения.

Перечень используемых полимерных гранул

Марка	Тип полимера
AB 17 Cl ⁻	Стирольный гелевый, анионит сильноосновный
C 120 E H ⁺	Стирольный гелевый катионит сильнокислотный
ПАА	Полиакриламидный неионогенный 3% сшивки
ПВС	Поливинилспиртовый неионогенный 20% сшивки
ВП 1 An	Винилпиридиновый анионит сильноосновный
ВП 14 K	Винилпиридиновый амфолит
WOFATIT EA 60	Целлюлозный анионит сильноосновный
WOFATIT ES tech	Целлюлозный анионит сильноосновный
СГ-1М H ⁺	Макропористый катионит слабокислотный
КУ-23 H ⁺	Стирольный макропористый катионит сильнокислотный
КБ-2э7 H ⁺	Акриловый макропористый катионит слабокислотный
КБ-4П-2 H ⁺	Акриловый макропористый катионит слабокислотный
КБ-2-4 H ⁺	Акриловый макропористый катионит слабокислотный
AB-16 GC OH ⁻	Стирольный макропористый анионит сильноосновный

В связи с тем, что наряду с положительным эффектом набухания возможен отрицательный эффект (контракция), для интерпретации мультисенсорных данных с целью получения количественного обобщенного показателя использовали абсолютные значения изменения относительного объема гранул:

$$\alpha_{abs} = \left| \frac{V - V_0}{V_0} \right|. \quad (1)$$

Такой подход позволяет устранить разнонаправленность векторов изменения объема при положительном и отрицательном набухании.

Новой парадигмой аналитического контроля, как показано Золотовым Ю.А. в [13], является переход от дорогостоящего покомпонентного анализа к оценке интегральных показателей в рутинном химическом анализе, в диагностике материалов, в проверке аутентичности, обнаружении фальсификатов. Для мультисенсорных систем применению интегральных показателей вообще нет альтернативы.

В качестве интегрального показателя для интерпретации набора аналитических сигналов от нескольких гранул использовали геометрические параметры диаграмм (площадь или периметр), построенных в полярных координатах в оболочке прикладных пакетов программ MS Excel или Mathcad, так называемые лепестковые диаграммы, в которых количество осей соответствует числу сенсоров, использованных в анализе. Способ визуализации мультисенсорной информации с помощью лепестковых диаграмм (ЛД) уже нашел применение в аналитической практике, в частности, в химической сенсорике [13-16], для такого обобщенного показателя применяют термин «визуальный отпечаток». Идентификация образцов по визуальным отпечаткам

выполняется чаще всего экспертным путем на качественном уровне. Вместе с тем расчет геометрических размеров ЛД легко автоматизируется, а значит, параметры ЛД можно сравнивать количественно.

Площади и периметры рассчитывали по уравнениям (2) и (3):

$$S_j = \sum_{n=1}^c \left(\frac{1}{2} \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \sin \Delta\varphi \right), \quad (2)$$

$$P_j = \sum_{n=1}^c \sqrt{(\alpha_{j,n})^2 (\alpha_{j,n+1})^2 - 2 \cdot \alpha_{j,n} \cdot \alpha_{j,n+1} \cdot \cos \Delta\varphi}, \quad (3)$$

где j – индекс сорбента, n – индекс концентрации, а $\Delta\varphi$ – углы между соседними радиусами на лепестковой диаграмме.

На осях лепестковых диаграмм (ЛД_n) отражали α_{abs} чувствительных элементов (индекс n – число сенсоров). ЛД являются по своей сути вторичным электронным изображением обобщенного аналитического сигнала.

Установлено, что между значением α_{abs} и концентрацией в модельных растворах индивидуального аналита существуют количественные зависимости $\alpha_{abs} = f(C_x)$ или $\ln \alpha_{abs} = f[\ln C_x]$. Уже этот факт позволяет в отдельных случаях успешно использовать моносенсорную систему (гранулу одного типа) в химическом анализе. Например, на рис. 1 представлена зависимость абсолютного изменения объема гранулы из поливинилового спирта (20 % сшивки) в водно-этанольных растворах, которая позволяет контролировать содержание воды в водно-спиртовых смесях в широком диапазоне концентраций (30-100 %). На рис. 2 дана зависимость относительного изменения объема гранул сульфокатионита C 120 E H⁺ от концентрации лизоцима в его

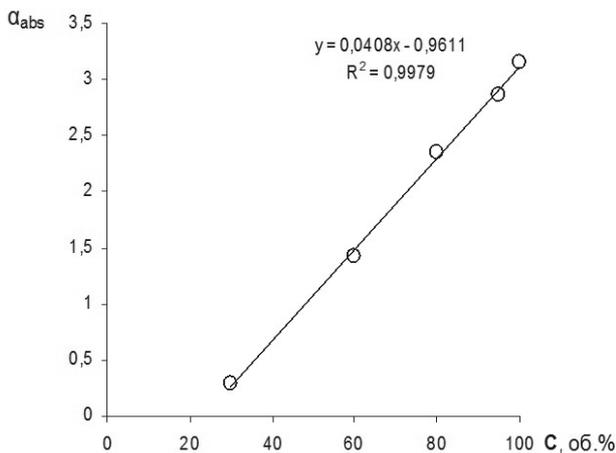


Рис. 1. Зависимость относительного изменения объема гранул ПВХ от концентрации воды в водно-этанольных растворах C , об. %

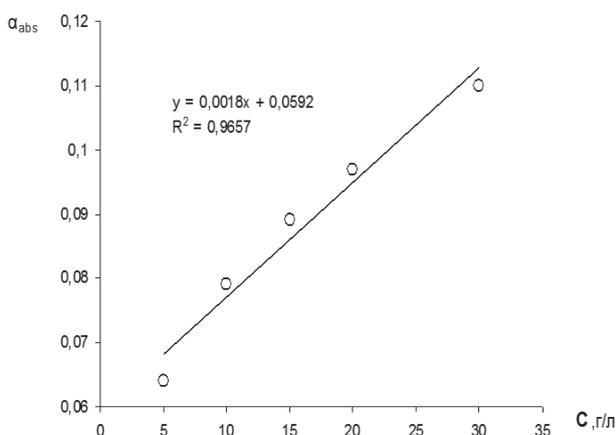


Рис. 2. Зависимость относительного изменения объема гранул сульфокатионита С 120 Е Н⁺ от концентрации лизоцима в его водных растворах C , г/л

водных растворах, по которой можно контролировать содержание в них этого белка.

Очевидно, что если каждый сенсор в отдельности дает количественный сигнал на концентрацию аналита, то и обобщенный (суммарный) сигнал в виде площади или периметра лепестковой диаграммы, построенной в полярных координатах, на осях которой отложены абсолютные значения сигналов от нескольких сенсоров, найденных по уравнению (1), так же может быть количественным. На рис. 3 представлены лепестковые диаграммы для водно-этанольных растворов с различной концентрацией воды и зависимость площади диаграммы от концентрации воды $\ln S = f[\ln C_x]$. На рис. 4 приведены данные для водно-ацетонитрильных смесей.

Таким образом, метрологические исследования показали, что обобщенный показатель в форме лепестковых диаграмм в принципе пригоден для количественного анализа.

В бюджетных лабораториях или цехах малых предприятий для экспрессной идентификации или цехового контроля качества (тест-контроля) таких сложных многокомпонентных смесей, как водные, водно-спиртовые и водно-органические экстракты из растительного или животного сырья, где не требуется покомпонентного анализа, рассматриваемая нами мультисенсорная система может быть полезной. Рассмотрим в качестве примера результаты измерений объемных эффектов в водно-спиртовых экстрактах из растительного сырья, используемых в качестве лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД). Как видно из рис. 5, для каждого экстракта, приобретенного в розничной аптечной сети, характерен индивидуальный «визуальный отпечаток»

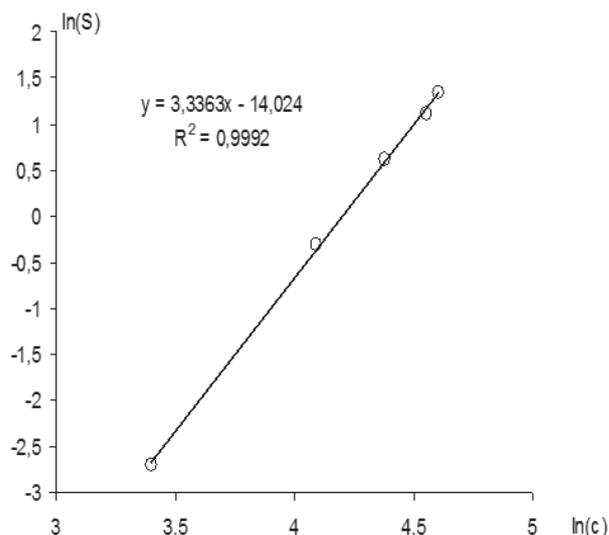
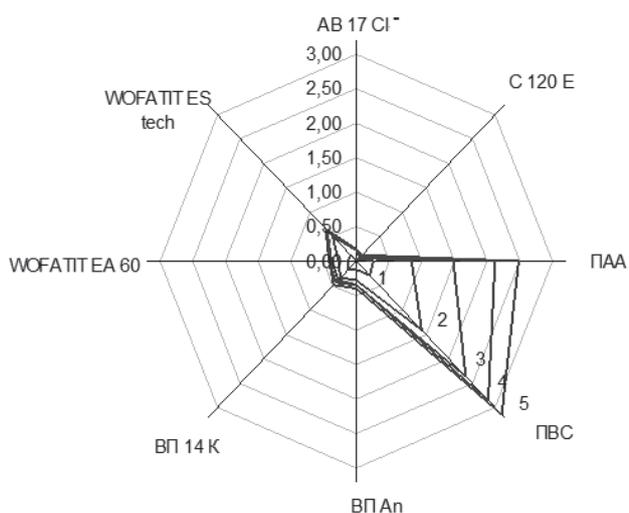


Рис. 3. Лепестковые диаграммы для различных концентраций воды в растворах этанола (1 – 30; 2 – 60; 3 – 80; 4 – 95; 5 – 100 % об. воды), и соответствующая градуировочная зависимость площадей диаграммы от концентрации воды

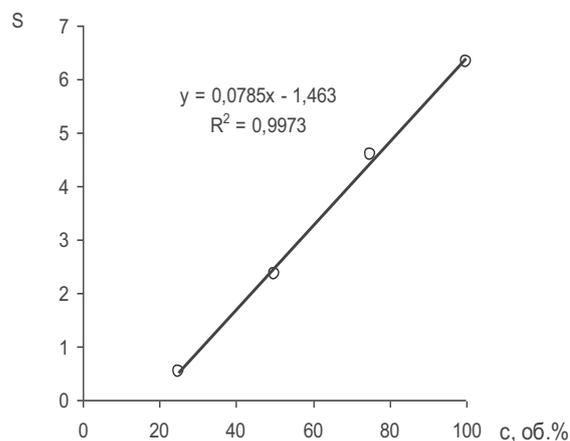
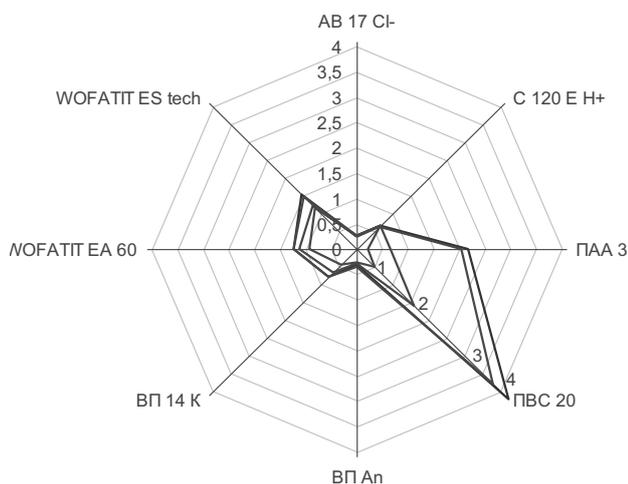


Рис. 4. Лепестковые диаграммы для различных концентраций воды в растворах ацетонитрила (1 – 25; 2 – 50; 3 – 75; 4 – 100 % об. воды) и соответствующая градуировочная зависимость площадей диаграммы от концентрации воды

или «образ» ЛД. В табл. 2 приведены количественные геометрические характеристики ЛД, а именно периметр P , площадь S , отношение квадратного корня площади к периметру $(\sqrt{S})/P$ и фрактальность фигур D , рассчитанная при помощи компьютерной программы Fractall 2.

Эти данные наглядно показывают существенные количественные различия и позволяют утверждать, что профиль ЛД может служить интегральным показателем не только для количественных определений БАД, но и, пред-

положительно, для качественной идентификации продукции, для проверки ее аутентичности. Конечно, для проверки данного предположения требуется дополнительно исследовать вопрос селективности сигнала и привести убедительные примеры аналитических решений для индивидуальных веществ и возможных смесей при вариации их концентраций. Аналогичные выводы сделаны нами при изучении эффектов набухания гранул нескольких типов сорбентов в водных инъекционных формах ряда лекар-

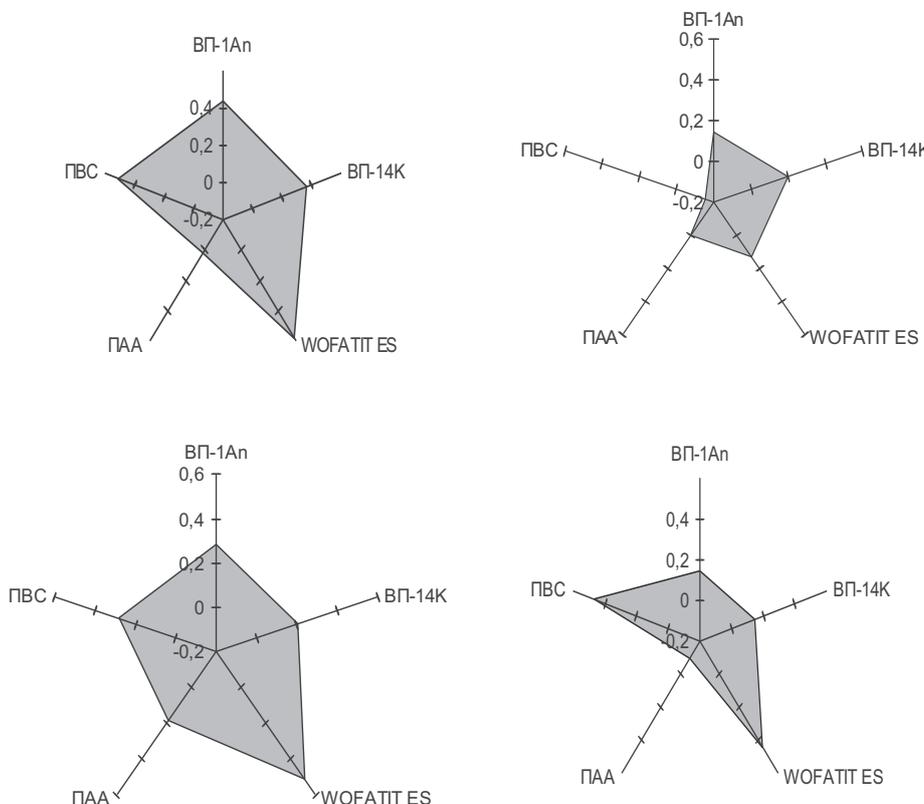


Рис. 5. Лепестковые диаграммы для спиртовых настоек: а - валериана, б - календула, в - боярышник, г - пустырник (70 % об. этанола)

Таблица 2

Геометрические характеристики ЛД для водно-этанольных (40 % об.) настоек из растительного сырья

Наименование настойки	<i>S</i>	<i>P</i>	$(\sqrt{S})/P$	<i>D</i>
Настойка валерианы	10.6	9.2	0.35	1.09
Настойка календулы	2.8	4.4	0.37	1.29
Настойка боярышника	14.8	12.0	0.32	1.05
Настойка пустырника	4.1	6.0	0.33	1.50

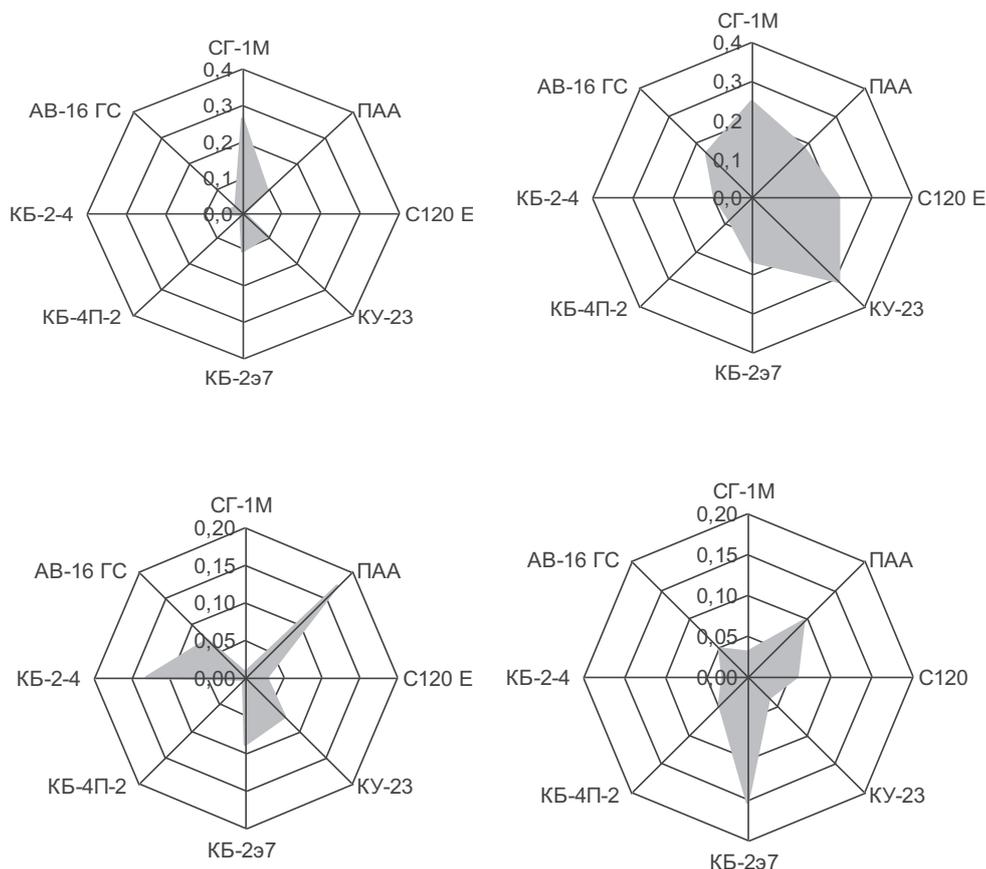


Рис. 6. Лепестковые диаграммы для водных растворов (0.5 % об.): а - винпоцетин, б - новокаина, в - но-шпа, г - парацетам

ственных средств. Для анализа водных растворов винпоцетина, новокаина, но-шпы, парацетама с концентрацией 0.5 % были выбраны в качестве чувствительных гранул следующие полимеры: СГ-1М Н⁺; ПАА; С 120 Е Н⁺; КУ-23 Н⁺; КБ-2э7 Н⁺; КБ-4П-2 Н⁺; КБ-2-4 Н⁺; АВ-16 ГС ОН⁻. На рис. 6 для примера приведены результаты измерений мультисенсорного сигнала в виде ЛД с 8-ю осями.

Таким образом, предложенный микрофотографический способ химического анализа растворов биологически активных веществ является перспективным для разработки методик тест-контроля аутентичности и качества фармацевтической и пищевой продукции, биологически активных добавок, технических жидкостей и растворов. В этом способе в качестве интегрального показателя могут быть использованы

геометрические параметры диаграмм, построенных в полярных координатах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тагер А.А. Физико-химия полимеров, М.: Химия, 1978. 544 с.
2. Микрофотографическое определение эффектов набухания полимерных гранул в водно-спиртовых растворах / И.Г. Кудухова и [др.] // Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы строительного материаловедения и высокие технологии. 2011. № 3-4. С. 117-121.
3. Шамрицкая И.П., Раильченко Н.А. Микроскопический метод определения удельных объемов ионообменных смол // Синтез и свойства ионообменных материалов. М.: Наука, 1968. С. 213-215.

4. Шамрицкая И.П., Матвеева М.В. Микрофотографический метод изучения кинетики набухания ионообменных смол // Теория и практика сорбционных процессов: сб. статей. 1971. Вып. 5. С. 61-64.
5. О колебательном характере процесса сорбции аминокислот на катионитах / М.П. Цюрюпа и [др.] // Ж. физич. химии. 2009. Т. 83, № 5. С. 996.
6. Ферাপонтов Н.Б., Ковалева С.С., Рубин Ф.Ф. Определение природы и концентрации растворенных веществ методом набухающей гранулы // Ж. аналитич. химии. 2007. Т. 62, № 10. С. 1028-1033.
7. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т. 70. С. 411-428.
8. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В. Пенополиуретаны: Сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М.: КРАСАНД, 2010. 264 с.
9. Цифровая регистрация эффектов набухания гранул полимеров как аналитический сигнал / Л.В. Рудакова и [др.] // Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 24, № 1-4. С. 16-21.
10. Применение гранул сульфокатионита для контроля содержания лизоцима в изотоническом растворе / О.В. Байдичева и [др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т. 7, № 4. С. 699-702.
11. Рудакова Л.В. Мультисенсорная система «электронный глаз», основанная на регистрации объемных эффектов цифровыми методами // Учебно-методические материалы Всероссийской конференции «Нано- и супрамолекулярная химия в сорбционных и ионообменных процессах», 14-17 сент., 2010. Белгород. БГУ. С. 78-86.
12. Технохимический контроль жиров и жирозаменителей / О.Б. Рудаков и [др.] // С.-П.: Лань, 2011. 576 с.
13. Золотов Ю.А. Новая парадигма аналитического контроля: от покомпонентного анализа к оценке интегральных показателей // Успехи аналитической химии: к 75-летию академика Ю.А. Золотова. М.: Наука, 2007. С. 80-84.
14. Кучменко Т.А., Погребная Д.А. Сравнительная оценка возможностей интегрального и дифференциального анализаторов газа типа «электронный нос» для исследования мясных продуктов // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15, № 3. С. 313-323.
15. Шогенов Ю.Х., Кучменко Т.А., Гражулене С.С. Особенности сорбции смесей спиртов нормального и изомерного строения на углеродных наноматериалах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 3. С. 416-423.
16. Калач А.В., Зяблов А.Н., Селеменев В.Ф. Введение в сенсорный анализ. Воронеж: Научная книга, 2007. 164 с.

THE APPLICATION OF MICROPHOTOGRAPHIC METHOD OF REGISTRATION OF THE SWELLING EFFECT OF SORPTION-ACTIVE POLYMER GRANULES FOR THE ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES SOLUTIONS

L.V. Rudakova¹, I.G. Kudukhova², V.F. Selemenev³

*¹ Department of pharmaceutical chemistry of Voronezh state medical academy,
394000, Voronezh, Student's str., 10
vodoley65@mail.ru*

*² Department of physics and chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering
394006, Voronezh, str. 20-letya Oktyabrya, 84
chemistry@vgasu.vrn.ru*

*³ Department of analytical chemistry of Voronezh state university
394006, Voronezh, Universitetskaya sq., 1
journal@chem.vsu.ru*

Proposed microphotographic method of analysis for the analysis of solutions of biologically active substances on the basis of integral dependence of the degree of swelling of several sorption-active polymer granules in the analyzed solution. As a single analytical signal is used a digital video which is obtained using a digital camera combined with a microscope and which allows to record the degree of swelling of the polymer granules. To evaluate the generalized result of a multisensory analysis is proposed to use the geometrical parameters of diagrams constructed in polar coordinates.

Key words: The swelling of polymers, digital video, microphotography, the integrated index, the solutions of biologically active substances.