

УДК 678.745.8 : 543.544.5.068.7

САМЧЕНКО Ю. М., ГЕРЦЮК М. Н.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ОТМЫВКИ
ПОЛИАКРИЛАМИДНОГО ГЕЛЯ
ОТ ОСТАТОЧНЫХ МОНОМЕРОВ**

Поліакриламідні гідрогелі виявляють хорошу біосумісність і широко використовуються в медицині. Проте ці матеріали можуть містити залишкові кількості мономерного акриламідгу, який має токсичні властивості. Перед застосуванням поліакриламід необхідно очистити від мономерів. За допомогою методу вискоєфективної рідинної хроматографії досліджено процес відмивання полімерного продукту і показано, що для видалення акриламідгу з полімерного матеріалу достатньо промити його водою протягом чотирьох діб.

Polyakrylamide hydrogels possess good biocompatibility and widely used in medicine. However these materials can contain the remaining quantities of monomeric akrylamyde, which has a toxic properties. Before application of polyakrylamide, its cleaning of monomers is needed. The process of washing of polymeric product was investigated by the method of high performance liquid chromatografy and was shown that for removal of akrylamyde from the polymeric material is enough to wash it by water during four days.

Гидрогели представляют собой сшитые гидрофильные (со)полимеры, набухающие в водных средах, но не растворяющиеся в них. Вследствие повышенной гидрофильности (гидрогели определенного состава могут впитывать свыше 10 кг воды на 1 г сухого полимера) они обладают высокой биосовместимостью и в последние годы все шире используются в медицине. Так, на основе гидрогелей получают мягкие контактные линзы [1], лучшие образцы которых, благодаря высокому водосодержанию и, как следствие, повышенной кислородопроницаемости, могут непрерывно эксплуатироваться на протяжении нескольких недель и даже месяцев. Гидрогелевые

офтальмологические и стоматологические пленки [2, 3] удобны в применении и способны к целенаправленному пролонгированному высвобождению гипотензивных, антипарадонтозных, обезболивающих и кровеостанавливающих препаратов. Противоожоговые и раневые гидрогелевые покрытия могут иметь различное консистентное состояние (мази, пленки, мелкодисперсные порошки) и обеспечивать, помимо предотвращения инфицирования раны, эффективное впитывание раневого экссудата и пролонгированное высвобождение комплекса лекарственных препаратов [4]. На основе гидрофобных гелей разработаны различные трансдермальные терапевтические системы, в частности, для доставки нитросорбида, используемые для предупреждения сердечных приступов при хронической коронарной недостаточности и позволяющие избежать многократного приема лекарственных средств [5]. В пластической и реконструктивной хирургии широко применяются цельные эндопротезы и инъекционные гидрогелевые материалы для коррекции формы груди, ног, челюстно-лицевой области [6].

На основе ионогенных мономеров, резко меняющих свое набухание в зависимости от pH окружающей их среды, были созданы pH-чувствительные терапевтические системы. Например, на поверхность раны наносили высушенный порошок гидрогеля на основе сополимера метилметакрилата и диметиламиноэтилметакрилата, содержащий лекарственные препараты. При нормальном значении pH крови (7,4) гель находится в сколлапсированном состоянии, и выделения лекарства из гидрогеля практически не наблюдается. При патологии, которая сопровождается уменьшением pH до 5,0 гидрогель набухает, выделяя содержащееся в нем лекарство [7].

Кислотные гидрогели, например, сополимеры акриловой кислоты, способны к избирательной сорбции и пролонгированному высвобождению широкого спектра лекарственных препаратов, относящихся по своей структуре к классу азотистых оснований, с которыми макромолекулярная матрица образует систему ионных связей, медленно гидролизующихся в процессе эксплуатации, в результате чего и достигается пролонгация высвобождения лекарственных препаратов, например, пилокарпина или хлоргексидина [8].

Применительно к проблеме лечения сахарного диабета, перспективными представляются глюкозочувствительные полимерные системы, которые, будучи имплантированы в организм больного, способны к контролируемому высвобождению инсулина — в ответ на повышение концентрации глюкозы. Глюкозочувствительный элемент состоит из двух полимерных мембран [9]. Первая синтезирована из полиакриламидного геля и содержит оксидазу глюкозы,

выполняющую функцию чувствительного элемента для глюкозы и образующую H_2O_2 при помощи ферментативной реакции. Вторая мембрана содержит амид никотиновой кислоты, который действует как регулятор скорости проникновения инсулина — посредством окислительной реакции с перекисью водорода.

Кроме того, акриламид и полимеры на его основе (как сшитые, так и несшитые) широко применяются в самых различных областях технологии — для структурирования почв, очистки сточных вод, в лакокрасочной промышленности, полиграфии, в косметической и текстильной промышленности, а также в лабораторной практике, например, для электрофоретического разделения белков [14].

Необходимо, однако, принимать во внимание, что хотя акриловые полимеры и безвредны для человеческого организма, а некоторые из них вообще не имеют себе равных по биосовместимости, соответствующие мономеры весьма токсичны. Так, LD_{50} для акриловой кислоты составляет 2,59, для акриламида — 170, а для акрилонитрила — 93 мг/кг [10].

Следует принимать во внимание, что в процессе получения гелей определенная часть мономеров всегда остается непрореагировавшей и поэтому загрязняет полученный гидрогель. Так, в [11] указывается, что полиакриламидный гель может содержать от 500 до 5000 мкг/г незаполимеризовавшегося мономерного акриламида. Поэтому проблема очистки гидрогелей от непрореагировавших мономеров и контроля содержания остаточных мономеров в гидрогелях весьма актуальна. Особое внимание в последние годы уделяется мономерным акриламиду и акрилонитрилу, которые, по классификации Международного агентства изучения рака, отнесены к категории 2, т. е. к веществам с вероятной канцерогенной активностью [12]. Кроме того, в последние годы совершенно неожиданно акриламид был обнаружен в некоторых пищевых продуктах, подвергавшихся термической обработке, в частности, в чипсах и жареном картофеле, и даже в подвергавшихся обжариванию при температуре свыше 120 °С зернах кофе, что привело к еще большему ужесточению соответствующих санитарных требований [13].

В соответствии с "Санитарными правилами и нормами охраны поверхностных вод от загрязнения" (СанПиН 4630 — 88), предельно допустимые концентрации акриламида в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования составляет 0,01 мг/л. Такой же показатель приведен и в "Перечне веществ, продуктов, производственных процессов, бытовых и природных факторов, канцерогенных для человека" ("Гигиенические нормативы" ГН 1.1. 725 — 98). Предельно допустимая концентрация

акриламида в воздухе рабочей зоны согласно указанному документу составляет $0,2 \text{ мг/м}^3$.

Считается, что для того, чтобы не наблюдалось превышения указанной ПДК, остаточное содержание акриламида в полиакриламиде, используемом для водоподготовки, не должно составлять более $0,05 \%$. Концентрация акриламида в воздухе рабочих зон не должна превышать $0,1 \text{ мг/м}^3$. Специальные индивидуальные и коллективные защитные средства должны использоваться для предотвращения попадания в организм работающих с акриамидом его количеств, превышающих $0,012 \text{ мг}$ на 1 кг массы тела. [15].

В литературе описаны различные инструментальные методы обнаружения следовых количеств акриловых мономеров в сшитых полимерах на их основе.

Методом прямоточной полярографии остаточный акриламид в полиакриламиде определяли при пределе обнаружения до 100 мг/кг [16]. Потенциал полуволны акриламида составлял $1,97 \text{ В}$.

Несколько большая чувствительность (до 5 мг/кг) наблюдалась при спектрофотометрическом определении акриламида в полиакриламиде при длине волны 240 нм [16]. Сообщается, что указанный метод проще и чувствительнее, чем полярографический, однако, гораздо менее специфичен, что усложняет интерпретацию результатов в случае наличия примесей неизвестного характера.

В случае использования дифференциальной импульсной полярографии мономер может быть определен с минимальным детектируемым уровнем около 1 мг/кг [17].

В питьевой воде акриламид определяли также фотоколориметрическим методом [18]. Минимальная детектируемая концентрация при этом составляла $0,2 \text{ мг/л}$.

Наиболее широко для определения остаточных количеств акриламида в полиакриламидных полимерах и гелях использовались хроматографические методы.

Так, при применении метода ВЭЖХ: колонка с обращенной фазой Partisil-10 ODS-2; детектирование при длине волны 208 нм , экстрагирование смесью метанол — вода ($80 - 20$), элюирование при помощи воды — достигалась чувствительность определения акриламида около $0,1 \text{ ppm}$ [19].

Описано применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием колонки C18 и ион-обменной колонки для определения мономерных акриламида и акриловой кислоты в сшитых акриловых (со)полимерах [20]. Предел обнаружения для каждого из мономеров составлял части на миллиард.

Акриламид может быть подвергнут бромированию до 2,3-дибромпропионамида, и тогда предел его обнаружения методом газовой

хроматографии с использованием электронно-захватного детектора понижается до 0,1 мкг/л [21]. Примерно такой же предел обнаружения достигается применительно к акрилонитрилу при применении метода газовой хроматографии (методика ЕРА 8030) и ГХ-МС (методика ЕРА 8260).

Метод ЕРА 8316 может использоваться для совместного определения акриламида, акрилонитрила и акролеина в водных вытяжках посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. При этом используется обращенно-фазовая колонка C18, вода в качестве элюента и УФ-детектирование при длине волны 195 нм. Чувствительность указанного метода довольно высока, однако его определению могут мешать органические соединения с поглощением в области 195–200 нм. Время удерживания для акриламида составляло 3,5 мин, для акрилонитрила — 8,9 мин, а для акролеина — 10,1 мин. Минимальная детектируемая концентрация — 10; 20 и 30 мкг/л соответственно [22].

Экспериментальная часть

Разработка методов контроля остаточного акриламида в гидрогеле и оптимизация путей минимизации его содержания в конечном продукте была проведена применительно к редкосшитому полиакриламидному гелю с содержанием твердой фазы около 3 %, который хорошо себя зарекомендовал в медицинской практике — в частности, для получения противоожоговых мазеообразных покрытий и для эндопротезирования мягких тканей. Синтез гидрогелей детально описывался нами ранее [23]. После синтеза гидрогели извлекались из пресс-форм, в которых осуществлялась полимеризация, и подвергались отмывке от остаточных количеств непрореагировавших мономеров. Отмывка гидрогелей от непрореагировавших мономеров осуществлялась посредством экстрагирования водой при температуре 45 °С. Смена промывной воды производилась раз в сутки, а соотношение между массой геля и массой воды составляло 1:4. Затем гидрогели подвергались стерилизации и контролю остаточного содержания мономеров. Пробоподготовку осуществляли следующим образом. Навеску гидрогеля массой около 0,5 г взвешивали на аналитических весах с точностью до четвертого знака после запятой, прибавляли 15 мл дистиллированной воды и перемешивали при помощи магнитной мешалки в закрытой конической колбе на протяжении 4 ч. Затем гидрогель отделяли от экстракта центрифугированием, и анализировали остаточное содержание акриламида в надосадочной жидкости.

Хроматографическое определение проводили с использованием жидкостного хроматографа производства фирмы "Waters",

оснащенного диодно-матричным спектрофотометрическим детектором и колонкой с Nucleosil C 18 (25 см x 4 мм). В качестве элюента использовали смесь метанола с водой при их соотношении 1:9. Скорость подачи растворителя — 1 мл/мин, температура 20 °С. Время выхода пика мономерного акриламида составляло 2,35 мин. Концентрации акриламида определялись на основании градуировочного графика. Для его построения готовили стандартные рабочие растворы акриламида в водно-метанольной смеси путем разведения исходного стандартного раствора с концентрацией 200 мкг/мл. Диапазон измеряемых концентраций составлял 0,1 — 50 мкг/мл. Измерение концентрации проводили при $\lambda = 205$ нм.

Расчет результатов проводили по формуле:

$$C = (C_{\text{эксп}} \times V) / a,$$

где C — концентрация мономера в полимерном материале, мкг/г,
 $C_{\text{эксп}}$ — концентрация мономера, найденная экспериментально, в экстракте, мкг/г,
 V — масса смеси полимера и экстракта, г,
 a — навеска геля, взятая для анализа.

Результаты и их обсуждение

Влияние продолжительности отмывки гидрогелевых образцов на содержание остаточного акриламида было нами исследовано методом ВЭЖХ. Сразу после завершения процесса полимеризации содержание непрореагировавшего мономера очень велико — около 2000 мкг/г, что хорошо коррелирует с уже упоминавшимися нами ранее литературными данными. Детектируемое содержание непрореагировавших примесей монотонно уменьшается по мере увеличения продолжительности отмывки вплоть до истечения 4 суток (рис. 1). Дальнейшее увеличение продолжительности отмывки не оказывает существенного влияния на чистоту полимерного продукта.

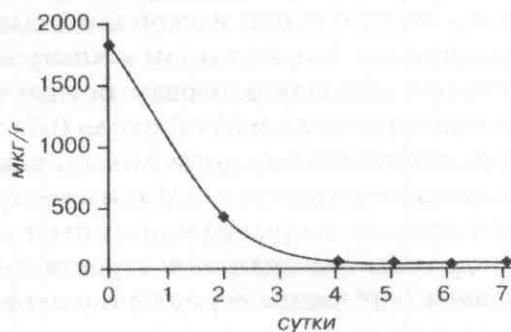


Рис. 1. Влияние продолжительности отмывки на остаточное содержание акриламида по данным ВЭЖХ

Наряду с пиком акриламида, в некоторых случаях наблюдался выход пиков с временем удерживания, превышающим время выхода акриламида (3,80 и 4,11 мин). Не исключено, что это димеры или другие олигомеры акриламида.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что экстракция водой является эффективным методом снижения остаточного содержания непрореагировавшего мономера в полиакриламидном геле. Отмывка должна проводиться не менее 4-х суток, что позволяет практически полностью очистить конечный продукт от токсичного мономера.

Литература

1. *Wichterle O., Lim D.* Nature. — 1960. — 185, № 1. — P. 117—119.
2. *Самченко Ю. М., Ульберг З. Р.* Специфические взаимодействия полиэлектролитных гидрогелей с антиглаукомными лекарственными средствами. // Коллоидн. журн. — 1996. — Т. 58, № 2. — С. 240—243.
3. *Samchenko Yu., Ulberg Z., Pertsov N.* Hydrogel medicinal systems of prolonged action. // Progress in Colloid and Polymer Science. — 1996. — V. 102. — 12 P. 118—122.
4. *Kickhofen B., Wokalek H., Scheel D., Ruh H.* Chemical and physical properties of a hydrogel wound dressing // Biomaterials. — 1986. — Vol. 7, № 1. — P. 67—72.
5. *Вилесова М. С., Айзенштадт Н. И., Босенко М. С.* Разработка микрокапсулированных и гелеобразных продуктов и материалов для различных отраслей промышленности // Российский хим. журнал. — 2001. — Т. 45, № 5—6. — С. 125—134.
6. *Земсков В. С., Коломацкая Л. Б.* Сравнительная оценка эндопротезирования молочных желез силиконовыми и гидрогелевыми эндопротезами // Матер. I Междунар. конф. "Разработка и внедрение новых полимерных имплантатов для пластической хирургии". — Киев. — 1995. — С. 19—21.
7. *Soppimath K. S., Aminabhavi T. M., Kumbar S. G., Rudzinski W. E.* // Drug Dev. Ind. Pharm. — 28, № 8, — 2002. — P. 957—974.
8. *Самченко Ю. М., Ульберг З. Р., Комарский С. А.* pH-чувствительные гидрогели и взаимопроникающие сетки на основе акриловых мономеров. // Коллоидн. журн. — 1998. — Т. 60, № 6. — С. 821—825.
9. *Ishihara K., Kobaya S., Shionohara G.* Control of insulin permeation through a polymer membrane with responsive function for glucose // Macromol. Chem. Rapid Commun. — 1983. — № 5. — P. 327—331.
10. The Merck Index. Merck&Co., Inc. Rahway, N.J., USA.
11. EP 0 329 325 A2.
12. International Agency for Research on Cancer. Summaries and Evaluations. (<http://www.inchem.org/pages/iarc.html>).
13. International Food Safety Authorities Network Information Note № 2/2005 — Acrylamide (http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/acrylamide_june2002/en).
14. Mendel Friedman Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Re-view J. Agric. Food Chem., 51 (16), 4504—4526, 2003
15. www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc49.htm.
16. *McWilliams D., Kaufman D., Walding B.* Polarographic and spectrophotometric determination of acrylamide in acrylamide polymers and copolymers. // Anal. Chem. — 1965. — 37, № 12. — P. 1546—1552.

17. **Betso S., McLean J.** Determination of acrylamide monomer by differential pulse polarography. // Anal. Chem. — 1976. — 48, № 4. — P. 766–770.
18. ГОСТ 19355-74.
19. **Skelly E., Husser R.** Determination of Acrylamide Monomer in Polyacrylamide and in Environmental Samples by High Performance Liquid Chromatography // Anal. Chem. — 1978. — 50, № 14. — P. 1959–1962.
20. **Leonard M.** Ver Vers Determination of Acrylamide Monomer in Polyacrylamide Degradation Studies by High-Performance Liquid Chromatography. // Journal of Chromatographic Science. — 1999. — V. 37, № 12. — P. 486–494.
21. **Brown L., Rhead M.** Liquid chromatographic determination of acrylamide monomer in natural and polluted aqueous environments. // Analyst. — 1979. — 104. — P.391–399.
22. www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8316.pdf.
23. **Самченко Ю. М.** Физико-химические свойства редкосшитых сополимерных гидрогелей. // Коллоидн.журн. — 2000. — Т.62, № 1. — С. 117–120.

Институт биокolloидной химии им. Ф. Д. Овчаренко НАУ,
03132, Киев, бульв. Вернадского, 42, yu1sam@yahoo.com
Институт экогигиены и токсикологии им. Л. И. Медведя,
03680, Киев, ул. Героев Обороны, 6

Поступила в редакцию 02.03.2006