



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

225 971

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita  
(22) Přihlášeno 11 02 82  
(21) PV 906-82

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> C 08 B 15/00

(40) Zveřejněno 29 07 83  
(45) Vydáno 01 07 85

(75)

Autor vynálezu BENEŠ MILAN ing. CSc., ŠTAMBERG JIŘÍ ing. CSc., PRAHA

POMMERING KLAUS dr. dipl. chem., KÜHN MANFRED dr. dipl. chem., BERLÍN

(54) Způsob modifikace sférické celulózy reaktivními barvivy

Vynález se týká způsobu modifikace sférické celulózy reaktivními barvivy.

Při chromatografii na barevných afinantních sorbentech (dye -ligand chromatogryphy) je afinantem navázaným na nosiči chemickou vazbou barvivo. Z literatury je dnes už známa velká řada reaktivních barviv, která po navázání na polymerní, nejčastěji polysacharidový skelet dextranového, agarózového nebo celulózového typu, poskytují sorbenty s vysokou afinitou k bílkovinám a zvláště pak k některým enzymům. Barviva, na rozdíl od jiných afinantů, jako jsou substráty nebo koenzymy, běžně užívaných při přípravě afinantních sorbentů, jsou mnohem lépe dostupná. Prvním a stále dosud používaným barvivem je Cibacronová modř 3-GA. Účinné sorbenty poskytly ale také například Procionová barviva: červeně HE-3B a H-3B; modř MX-4GD, MX-3G; zeleň HE-4BD nebo Remazolová brilantní modř a žluť GGL. Reaktivní barviva byla původně vyvinuta pro barvení textilu. Obdobné postupy se většinou používají také při přípravě afinantních sorbentů s navázanými barvivy (například: Dean P.D.G., Watson D.H.: J.Chromatogr. 165,301 (1979)). Pracuje ve vodě, jako báze se bere hydroxid nebo uhličitán alkalického kovu a přidává se neutrální elektrolyt. Tanto postup byl také použit u sférické celulózy (čs. A.O. 206 346 (1980) autorů Mislavičová D., Gemeiner P., Kuniak L.). Ukázalo se však, že podstatně lepšího využití barviva se dosáhne při práci ve směsi organického rozpouštědla s vodou analogickým postupem, jako při přípravě jiných derivátů sférické celulózy (čs. autorské osvědčení č. 212 131 autorů Beneš M., Musil V., Tokar O.)

Předmětem vynálezu je způsob modifikace sférické celulózy reaktivními barvivy s chlortriazinovou nebo 2-sulfátoksyethylsulfonovou skupinou v přítomnosti zásady vyznačený tím, že se reakce

sférické celulózy nebo od ní odvozeného derivátu s reaktivním barvivem provádí v prostředí, kterým je homogenní směs inertního organického rozpouštědla s vodou, obsahující nejméně 30 % objemových rozpouštědla neomezeně mísitelného s vodou vybraného ze skupiny zahrnující aceton, methylethylketon, isopropylalkohol, tetrahydrofuran, 1,2-dimethoxyethan, 2,2'-dimethoxydiethylether. Hydroxyalkylderivátem se rozumí 2-hydroxyethyl nebo 2-hydroxypropylderivát.

Výhodou tohoto způsobu oproti postupům pracujícím ve vodě je, že se při něm dosahuje vyššího využití barviva. K dosažení žádané koncentrace barviva v sorbentu se tedy spotřebuje méně barviva. Kromě toho se usnadní zpracování odpadních promývacích vod s nenavázaným barvivem. Organické s vodou se mísící rozpouštědlo zvyšuje dávky koncentraci zásady v celulózové fázi a tím ji aktivuje pro reakci s barvivem. K stechiometrickému množství blízké dávky zásady pak omezují i nežádoucí vedlejší hydrolytické reakce barviva v kapalně fázi. Jako zásady se s výhodou používají alkalické hydroxidy nebo terciární aminy. Uhličitany, zejména uhličitán sodný, poskytují horší výsledky.

Výchozím materiálem pro modifikaci může být samotná sférická celulóza nebo od ní odvozený hydroxyalkylderivát. Hydroxylové skupiny hydroxyalkylderivátu jsou reaktivnější než u samotného polysacharidového řetězce a barvivo reaguje proto přednostně s nimi. Tím se, při dostatečně vysokém stupni substituce zvyšuje využití barviva. Vazbou barviva na skelet přes tento spacer se kromě toho také zlepšuje pohyblivost a tím i možnost interakce barviva s biopolymery.

Množství barviva navázaného v sorbentu se dá v širokém rozmezí - až do 150 / $\mu$ mol/g suchého produktu - měnit pomocí molárního poměru anhydroglukozová jednotka: reaktivní barvivo = 15 - 500 při molárním poměru báze: reaktivní skupině barviva = 1, 05 - 3. Využití barviva pro navázání dosahuje až 82 % použitého barviva.

Deriváty perlové celulózy s vybranými navázanými barvivem se uplatňují v již známých aplikacích jako jsou izolace a čištění nukleotid dependentních enzymů. (Dye -Ligand Chromatography, Amicon, Lexington 1981).

Dostupnost sférické celulózy i jejího hydroxyalkylderivátu, snadná proveditelnost modifikace a zejména výborné hydrodynamické vlastnosti produktů při práci v koloně umožňují použití ve větším měřítku než laboratorním.

Způsob výroby barevných derivátů sférické celulózy je v dalším ilustrován, ne však omezen, následujícími příklady.

#### Příklad 1

Do 138 objemových dílů acetonu se za míchání přidá 100 dílů odsáté sférické celulózy (obsah vody 83 %) a při teplotě 20 - 25 °C se míchá 30 minut. Pak se míchání přeruší, celulóza se nechá sednout a od hladiny se odtáhne 50 objemových dílů vodného acetonu. Přidá se 50 objemových dílů acetonu a opět se míchá 30 minut. Přeruší se míchání, celulóza se nechá sednout a od hladiny se odtáhne 50 objemových dílů vodného acetonu. Po rozmíchání se přidá 2,8 objemových dílů 10 % vodného roztoku hydroxidu sodného a míchá se 30 minut. Pak se přidá roztok 2,0 dílů Cibacronové modři 3-GA v osmi objemových dílech vody, reakční směs se vyhřeje na 55 °C a při této teplotě se míchá 5 hodin. Směs se ochladí na 25 °C, produkt se oddělí od kapalně fáze a promývá se vodou až je eluát bezbarvý. Na celulóze se naváže 40 % použitého barviva (vypočteno z rozdílu množství barviva použitého pro modifikaci a nenavázaného barviva v promývací vodě stanoveného spektrofotometricky).

## Příklad 2

Postup stejný jako v příkladu 1, jen místo celulózy se použilo 100 dílů sférické hydroxyethylcelulózy (obsah vody 81,7 %). Navázalo se 68,8 % barviva.

## Příklad 3

Postup stejný jako v příkladu 1, jen místo Cibacronové modři se použilo 2,03 dílu Procionové červeně HE-3B v 8 objemových dílů vody. Navázalo se 82 % použitého barviva.

## Příklad 4

Postup stejný jako v příkladu 1, jen místo Cibacronové modři se použilo 1,6 dílu Ostazinové brilantní modři H-BR v 4 objemových dílech vody. Naváže se 70 % barviva.

## Příklad 5

Postup jako v příkladu 1, jen místo celulózy se použilo 100 dílů sférické hydroxyethylcelulózy (obsah vody 80,5 %) a místo Cibacronové modře 2,8 dílu Ostazinové brilantní modře. Navázalo se 76 % barviva.

## Příklad 6

Všechno stejné jako v příkladu 1, jen místo Cibacronové modře se bere 2 díly Remazolové brilantní zeleně 6B ve 4 dílech vody. Navázalo se 28 % barviva.

## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob modifikace sférické celulózy reaktivními barvivy s chlortriazinovou nebo 2-sulfátoksyethylsulfonovou vazebnou skupinou v přítomnosti zásady vyznačený tím, že se reakce sférické celulózy nebo od ní odvozeného hydroxyalkylderivátu s reaktivním barvivem provádí v prostředí, kterým je homogenní směs inertního organického rozpouštědla s vodou, obsahující nejméně 30 % objemových rozpouštědla neomezeně mísitelného s vodou vybraného ze skupiny zahrnující aceton, methylethylketon, isopropylalkohol, tetrahydrofuran, 1, 2-dimethoxyethan, 2,2'-dimethoxydiethylether.

2. Způsob výroby podle bodu 1, kde hydroxyalkylderivátem se rozumí 2-hydroxyethyl nebo 2-hydroxypropylderivát.