

Институт по инженерна химия



Българска академия на науките



**Българска академия на науките
Институт по инженерна химия
Лаборатория – Биохимично инженерство**

**ИНОВАТИВНИ МЕТОДИ
ЗА РАЗДЕЛЯНЕ И ПРЕЧИСТВАНЕ НА
БИОАКТИВНИ ВЕЩЕСТВА**

Апостол Георгиев Апостолов

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационния труд
за придобиване на образователна и научна степен „доктор“
професионално направление 4.2. „Химически науки“
научна специалност – Процеси и апарати в химичната и
биохимичната технология**

**Научен ръководител:
проф. д-р Драгомир Янков**

София 2025

Дисертационният труд е изловен на 110 печатни страници. Съдържа 19 таблици и 37 фигури. Цитирани са 207 литературни източника

Дисертационният труд е изработен в лаборатория „Биохимично инженерство“ на Института по инженерна химия при Българската академия на науките.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на _____ от _____ часа в Института по инженерна химия при БАН, гр. София, ул. акад. Г. Бончев, бл. 103, вх. Б, ет. 2, конферентна зала.

Посвещавам тази работа на семейството и приятели си без чиято подкрепа и разбиране нямаше да я осъществя.

Благодаря на научния си ръководител – проф д-р Драгомир Янков за възможността да работя в ИИХ-БАН, откритостта, възможностите, спокойствието и градивната критиката към моята работа. Това помогна за формирането ми като изследовател.

Благодаря на колегите от ИИХ-БАН, които ме приеха в своя колектив, за разбирането, професионалната подкрепа и помощта при изготвянето на дисертацията ми.

С благодарност към всички учени по света, споделящи и споделили своя труд, защото благодарение на тях съществува настоящата дисертация.

Послание за всички бъдещи учени – дерзайте и работете заедно, само така ще пренесете пламъка на знанието и образованието и през най-тъмните времена.

Въведение

В настоящата дисертация са изследвани методи за извличане и разделяне на биоактивни вещества с цел разработване на екологични технологични подходи. Основният акцент в работата е поставен върху използването на дълбоко евтектични разтворители (ДЕР/НаДЕР) като екстрагенти за течна-течна екстракция; мембранни методи – нанофилтрация, обратна осмоза; пертракция с обемна течна мембрана.

Синтезирани са нови хидрофобни ДЕР, използващи ментол. Разтворителят съставен от ментол-амин е използван за извличане на L-млечна киселина от моделен воден разтвор. ДЕР ментол-салицилова киселина е използван за разделяне на цис-/транс- изомерите на бутендиовата киселина. Охарактеризирани са физикохимичните свойства на получените ДЕР (плътност, вискозитет, термостабилност). Показана е възможността за многократна употреба на разтворителите след регенерация.

Изучени са възможностите за деалкохолизация на червено вино „Мавруд“ с използване на мембранни методи за нанофилтрация и обратна осмоза при различни режими на работа. Също така е изучено влиянието на използваните методи и режимът на работа върху съдържанието на органични киселини и захари във виното. Получените данни са нови и показват приложението на мембранните методи за ефективен контрол на алкохолното съдържание във виното сорт „Мавруд“.

Изследвани са различни параметри за определянето на оптималните условия при разделянето на изомерите на бутендиовата киселина (малеинова и фумарова киселина). Апаратурата, използвана за процеса, е лабораторен апарат за пертракция (със свободна течна мембрана), разработен в Института по инженерна химия. Изследванията показват, че има зависимост между рН (на захранващия воден разтвор) и органичната фаза, използвана в качеството на мембрана.

Избраните подходи – пертракция с течна мембрана, нанофилтрация и течна-течна екстракция – представляват част от основните технологични операции прилагани в химичната и биотехнологичната индустрия за получаване на краен продукт. Могат да намерят своето приложение в безотпадните едноточкови биорафинерии. При правилен избор на параметри (тип мембрана, разтворител, рН, температура), тези методи осигуряват селективно пренасяне и пречистване на целеви съединения, като същевременно запазват тяхната структура, чистота и биологична активност.

Цели и задачи

Цели на изследването.

1. Изследване на екологично щадящи методи за извличане и разделяне на биогенни карбоксилни киселини с цел повишаване на ефективността и селективността на процесите.
2. Разработване и оптимизация на дълбоко евтектични разтворители (ДЕР) за екстракция на:
 - L-млечна киселина (ДЕР ментол–амин);
 - изомерите на бутендиовата киселина (НаДЕР ментол–салицилова киселина).
3. Проучване на мембранни подходи за разделяне, включително:
 - пертракция в ротационно-дисков пертрактор за разделяне на изомери на бутендиовата киселина;
 - нанофилтрация на червено вино „Мавруд“ за частична деалкохолизация и анализ на промените в органичните киселини и захарите.

Задачи на изследването.

1. Синтезиране и охарактеризиране на дълбоко евтектични разтвори:
 - ментол-амин за екстракция на а. L-млечна киселина (ДЕР : ментол–амин);
 - ментол–салицилова киселина за изомерите на бутендиовата киселина
2. Изследване на екстракционната способност на ДЕР:
 - Определяне на екстракционната способност на ДЕР (ментол-амин) за извличане L-млечна киселина.
 - оценка на селективността на ДЕР (ментол–салицилова киселина) към цис- и транс-изомерите на бутендиовата киселина.
3. Изучаване на разделянето чрез мембранни технологии:
 - изследване на кинетиката на разделяне на изомерите на бутендиовата киселина чрез пертракция в ротационно-дисков пертрактор;
 - прилагане на нанофилтрация за частична деалкохолизация на вино „Мавруд“ и анализ на промените в органичните киселини и захарите.

Съвременно състояние на тематиката

Анализът на литературните източници показва, че извличането на биоактивни вещества от природни суровини представляват динамично развиваща се област, която обединява принципите на химичната и биохимичната технология.

Класическите твърдо–течни методи (мацерация, перколация, екстракция по Сокслет и др.) остават основа на фитохимичните технологии, но се характеризират с висок разход на време, енергия и органични разтворители, както и с ограничена селективност при сложни природни матрици. Иновативните „зелени“ подходи – ултразвукова, микровълнова, свързхкритична екстракция и екстракция с дълбоко евтектични разтворители – осигуряват по-висока ефективност, съкратено време на процеса и екологична устойчивост, но тяхното промишлено приложение често е ограничено от високата цена и сложността на апаратурата.

В този контекст течно–течната екстракция и нейните модификации се очертават като гъвкав и селективен метод, подходящ за пречистване и концентриране на целеви съединения при щадящи физико-химични условия. Особено перспективни са мембранните процеси, които съчетават принципите на течно–течната екстракция с контролирано пренасяне през селективна бариера, като по този начин намаляват консумацията на разтворители, улесняват автоматизацията и позволяват интеграция в непрекъснати технологични схеми.

Въпреки значителния напредък в областта на мембранните технологии, влиянието на ключовите физико-химични параметри (рН, концентрация, време, състав и стабилност на мембраната) върху ефективността на масообмена и селективността на процеса остава недостатъчно изяснено. Това обуславя необходимостта от допълнителни експериментални изследвания, насочени към по-задълбочено разбиране на поведението на различни системи при течно–течна и мембранна екстракция.

От аналитична гледна точка, високоефективната течна хроматография (HPLC) се утвърждава като основен инструмент за оценка на екстракционните процеси, позволяващ прецизна идентификация и количествено определяне на биоактивните съединения. Комбинирането на HPLC анализа с вариране на екстракционните параметри предоставя възможност за оптимизация и моделиране на масообменните процеси.

На тази основа настоящата дисертационна работа е насочена към експериментално изследване и оптимизация на течно–течни и мембранни

процеси за извличане на биоактивни вещества, като HPLC анализът се използва като надежден критерий за оценка на ефективността и селективността. Крайната цел е разработване на екологично устойчиви и енергийно ефективни технологии, приложими при извличане и пречистване на биологично активни природни продукти.

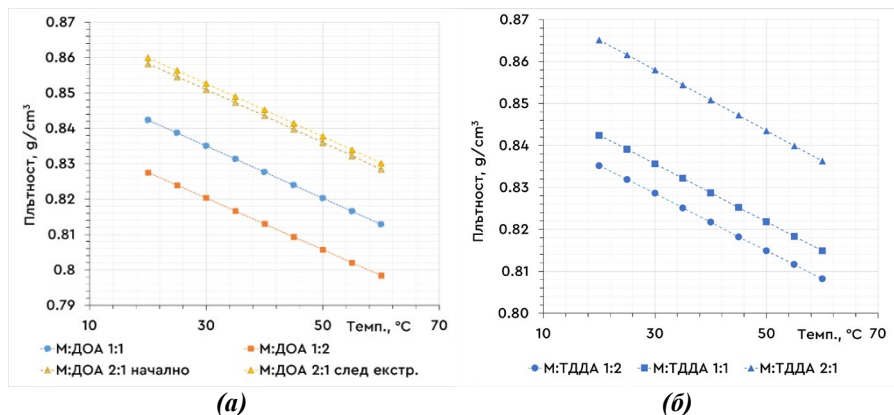
Извличане и разделяне на карбоксилни киселини

1. ДЕР като екстрагенти за карбоксилни киселини

1.1. Охарактеризиране на синтезираните ДЕР ментол-амин

Плътност

Промяната в плътността под влияние на температурата при ДЕР от системата ментол-вторичен/третичен амин не се различава от останалите течности. Вижда се отчетливо, че плътността на всички изследвани ДЕР намалява с увеличаване на температурата в диапазона от 20 до 60 °C.



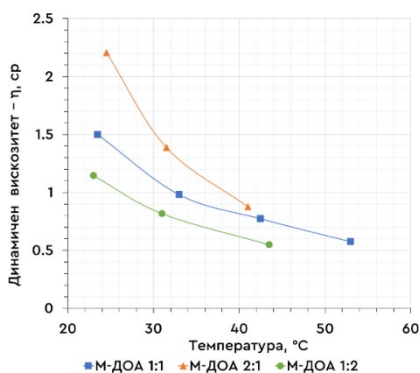
Фиг. 1. Зависимост на плътността от температурата на:
(а) ДЕР М-ДОА и (б) М-ТДДА.

Друга отчетлива зависимост в плътността е съотношението на компонентите в евтектичната система. Забелязва се, че по-високото съдържание на ментол в състава на ДЕР увеличава плътността, докато увеличението на амините води до намаляване на плътността. Примери за това са М/ДОА и М/ТДДА, фигура 1 (а) илюстрира промените в плътността в

зависимост от температурата и състава на ДЕР. Фигура 1 (б) представя промените в плътността в зависимост от температурата и съотношението на компонентите на ДЕР.

Вискозитет

Резултатите представени на фигура 2 разглеждат зависимостта на температурата от динамичния вискозитет спрямо съотношението на компонентите в ДЕР (за пример е взета системата ментол-диоктил амин). Получените криви потвърждават, че динамичният вискозитет на изследваните разтвори намалява с увеличаване на температурата.



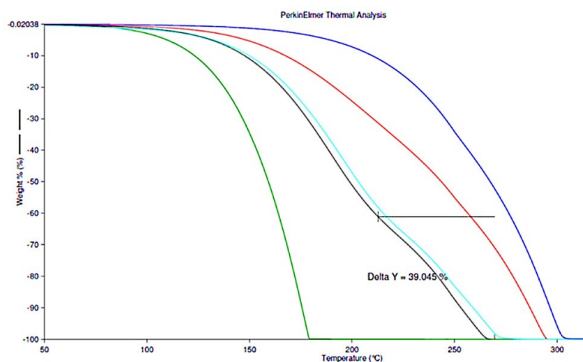
Фиг.2. Измерване на динамичния вискозитет (η) на ДЕР М-ДОА в зависимост от температурата

Анализът показва, че съществува зависимост между вискозитета и молното съотношение на компонентите в разглежданите ДЕР. Увеличеното съдържание на ментол в системата води до увеличаване на вискозитета. Динамичният вискозитет намалява при увеличаване на съдържанието на ДОА в системата на разтвора.

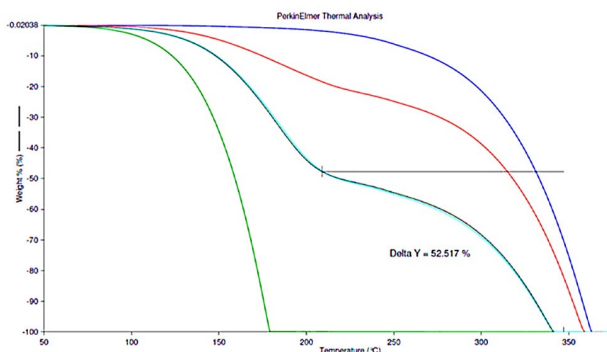
Термогравиметричен анализ

Фигура 3 представя профилите на термично разлагане, получени от ТГА анализа на две от използваните за екстракция ДЕР – ментол–диоктил амин (ДОА), които са в молно отношение (1:2); ментол – триоктил амин (ТОА) с молно отношение (1:2). Резултатите от проведения анализ позволяват оценка на стабилността на евтектичните системи при повишаване на температурата.

Промяната в масата на пробата с увеличението на температурата е показател за стабилността на връзките в евтектичната система. В изследването е включена и евтектична система, която е преминала и през рекстракция.



(a)



(б)

Фиг. 3. Криви на термичното разлагане на веществата от ТГА анализ на ДЕР - (а) ментол-ДОА 1:2 ; (б) ментол-ТОА . Цветова легенда – **зелено** – ментол; **синьо** – третичен амин; **червено** – евтектична смес; **ултрамарин** – след екстракция; **черно** – след рекстракция

Сравнението на кривата на ментола с кривите на ДЕР ясно сочи, че разлагането на евтектичната смес протича по-съвсем различен път от тази на простото вещество. Това означава, че е необходима повече енергия, за да се разруши евтектичният разтвор. Кривите показват, че разлагането на ментола започва още при около 100°C и завършва при около 170°C, разлагането на

амините започва при над 200°C и завършва поне при 300°C (ДОА) или при много по-високи температури (ТОА-300°C; ТХА и ТДДА - 460°C). Температурата на разлагане (T_{deg}) и степента на разлагане на евтектичните смеси са показани в таблица 1.

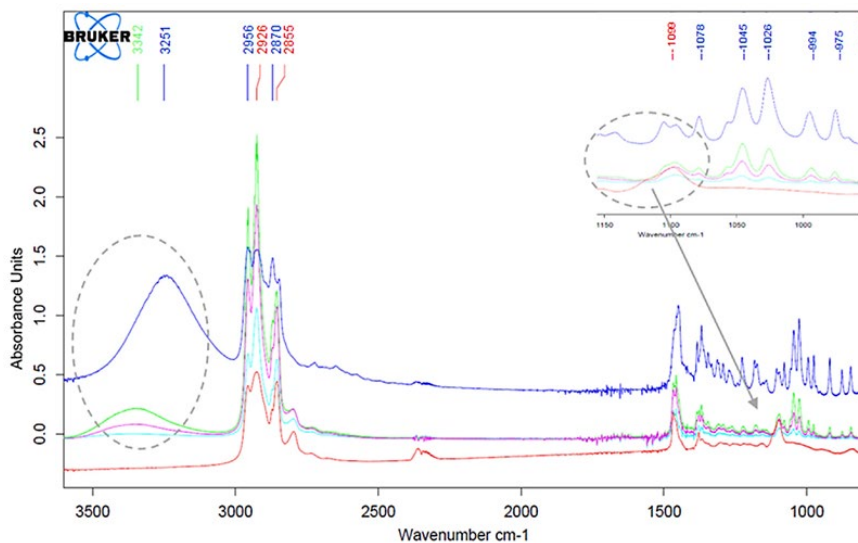
Таблица 1. Термични свойства на ментола и използваните амини и техните евтектични смеси.

Чисто вещество	T, °C	ДЕР	T_{deg} , °C	Първичен етап на разлагане, %
L-ментол	175	М/ДОА 1:1	280	
ДОА	305	М/ДОА 1:2	290	
ТОА	365	Д/ТОА 1:2	360	26,5
ТХА	465	М/ТХА 1:1	275	
ТДДА	470	М/ТХА 1:2	290	
		М/ТДДА 1:1	460	30
		М/ТДДА 1:2	460	18

Анализът на резултатите, получени от ТГА във формата на термични криви за евтектичните смеси ментол/амин показва, че процесът на тяхното разлагане протича при много по-високи температури в сравнение с разлагането на ментола, но при по-ниски от разлагането на съответния амин.

Кривата на термично разлагане на ДЕР ментол-ТОА показва допълнително явление – термичното разлагане се осъществява в два етапа. Това е следствие от физикохимичните свойства на ДЕР и предполага възникване на процес на частично разпадане на комплекса, образуван от двата му компонента. Комплексът се образува в резултат на водородни връзки между донора (амин) и акцептора (ментол) или трансформация на вида на комплексите.

Изследване на ДЕР ментол-амин с инфрачервена спектроскопия с преобразуване на Фурие



Фиг. 4. Пропускащата способност в зависимост вълновото число за ментола (синьо), ТОА (червено) и евтектичните смеси М/ТОА при молно съотношение 2:1 (зелено), 1:1 (пурпурно) и 1:2 (циан). Вмъкването показва в увеличен мащаб областта под 1150 cm⁻¹.

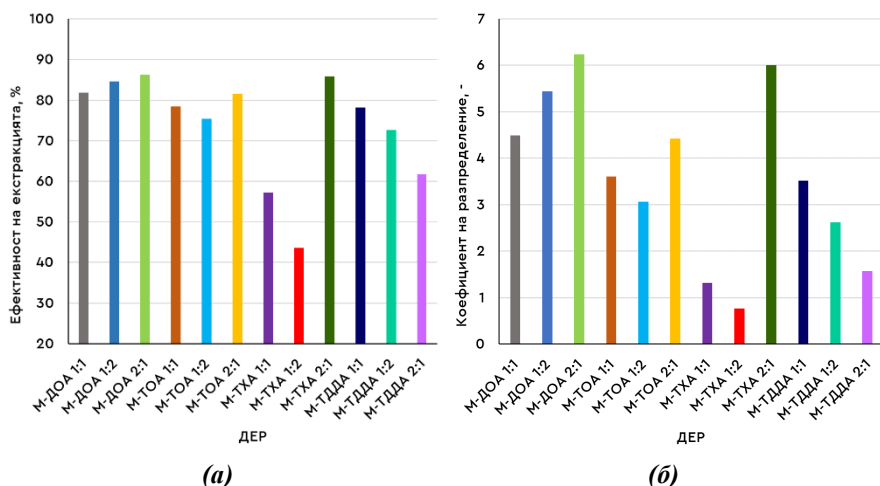
Фигура 4 показва, че инфрачервените спектри на евтектичния разтвор от ментол и триоктил амин в различни молни съотношения, не се различават значително.

В ИЧ спектъра на ментола (синята линия) се наблюдава характеристичният диапазон вълнов диапазон около 3250 cm⁻¹, съответстващ на хидроксилна група. В областта от 2800 cm⁻¹ до около 2990 cm⁻¹ са разположени диапазоните, съответстващи на C-H групите, а под 1500 cm⁻¹ се намират диапазоните на валентните колебания за C-H групите. В спектъра на ТОА (червено) при 1470 cm⁻¹ са разположени валентните колебания за CH₂ и при 1380 cm⁻¹ за CH₃. При 1099 cm⁻¹ може да се наблюдава диапазона на валентните колебания за C-N група. Спектрите на евтектичните смеси ментол/амин от диапазона на валентни колебания за групата O-H е изместен значително към 3340 cm⁻¹, което може да се отдаде на образуването на водородна връзка между хидроксилната група на ментола и електронната

двойка от аминокислотната група на ТОО, действаща като донор на водородна връзка. Подобен ефект се наблюдава и тук, като се съди по малкото, но забележимо изместване на диапазона – от 1450 cm^{-1} до 1465 cm^{-1} . Освен това диапазона на валентните колебания за С-Н при 1099 cm^{-1} леко се измества до 1078 cm^{-1} и интензитетът ѝ става по-слаб в ИЧ спектрите на евтектичните смеси, което също подкрепя предположението за образуване на комплексни съединения на ментол и амин, поради формирана Н-връзка между функционалните им групи.

1.2. ДЕР ментол-амин като екстрагент за L-млечна киселина

Ефективността на екстракцията (фигура 5 (а)) и коефициента на разпределение (фигура 11 (б)) между фазите бяха изчислени за всички 12 ДЕР.



Фиг. 5. Екстракция на L-млечна киселина с ДЕР:

(а) ефективност на екстракцията; (б) коефициент на разпределение

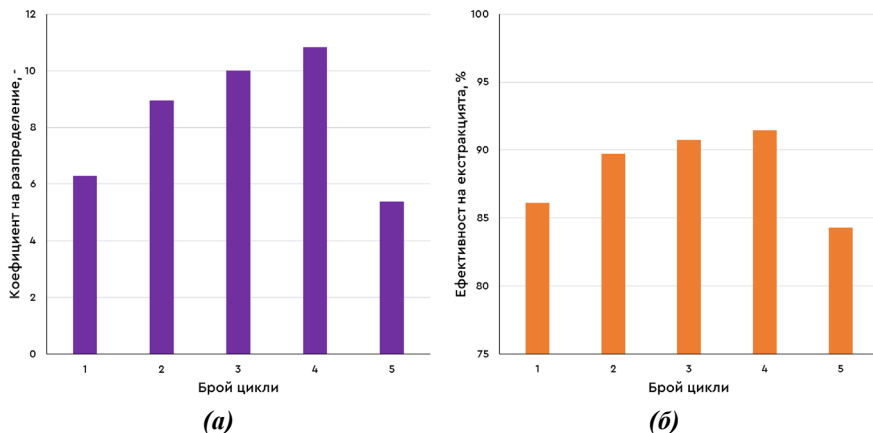
Наблюдава се вариране в ефективността на екстракцията (фигура 5 (а)) от 43% (за М-ТХА 1:2) до 86% (за М-ДОО 1:2). Най-добри резултати са постигнати с ДЕР, образуван от ДОО и ментол – от 82 до 86 %. Най-добри стойности за K_D (около шест) постигна ДЕР – М-ДОО 2:1 и М-ТХА 2:1. Повечето стойности на K_D са между 1,5 и 4,5.

Реекстракцията на ДЕР-екстрагента се извършва с NaOH. Ефективността на реекстракцията е между 70 и 95%. Втората реекстракция може да отдели допълнително само около 1–2%. Данните за първата и втората реекстракция са най-ефективните ДЕР са представени в Таблица 2.

Таблица 2. Реекстракция на млечната киселина от най-ефективните ДЕР.

ДЕР	Съотношение на компонентите	Първа реекстракция, %	Първа и втора реекстракция, %
М-ДОА	2:1	95	97
М-ТХА	1:2	86	86
М-ТХА	2:1	94	95

С цел изучаване на стабилността при многократно използване на ДЕР в качеството на екстрагенти, бяха проведени пет последователни цикъла на екстракция и реекстракция с ДЕР М-ДОА 2:1. Същата част от ДЕР беше използвана за екстракция след реекстракция и измиване. Резултатите са представени на фигура 6. Илюстрираните на фигурата резултати показват, че ДЕР е стабилен, а коефициентът на разпределение се увеличава от първия до четвъртия цикъл. Това може да се обясни с допълнителни места за осъществяване на връзки от молекулата на LA с тези на вече извлечената киселина.



Фиг. 6. Последователна екстракция с ДЕР М-ДОА на L-млечна киселина 1:2: (а) коефициент на разпределение; (б) ефективност на екстракцията.

Представените до тук резултати показват, че синтезираните и охарактеризирани дванадесет ДЕР от системата ментол-амин успешно бяха използвани за екстракция на L-млечна киселина от неин воден разтвор.

Най-добри резултати бяха получени с ДЕР ментол-диокил амин 2:1, който показва K_D 6,2 и извлича 86 % от началното количество вещество. Натовареният с МлК-на ДЕР може успешно да бъде регенериран с NaOH. Евтектичната система е стабилна и може да се използва в поне пет последователни цикъла на екстракция и реекстракция без промени в ефективността. Тези резултати могат да служат за по-нататъшно проучване в използването на ДЕР при извличането на млечна киселина от реален ферментационен бульон.

1.3. ДЕР ментол-салицилова киселина като екстрагент за разделяне на изомерите на бутендиовата киселина

Резултатите получени при извличането на L-млечна киселина послужиха за импулс към изучаването на нови ДЕР за екстракция на карбоксилни киселини.

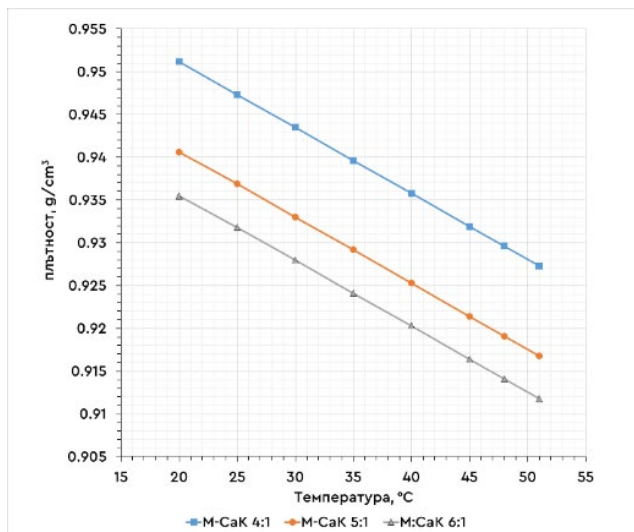
Литературната справка показва, че съществува хДЕР на основата на ментол и салициловата киселина в молно отношение 4:1. Представеният ДЕР е използван като екстрагент за тежки метали в различни случаи, описани в четири различни научни публикации. Получените стабилни ДЕР ментол-салицилова киселина в съотношения 4:1, 5:1, 6:1 са показани на фигура 7.



Фиг. 7. Снимка на синтезираните и изследвани ДЕР, съставени от ментол и салицилова киселина.

Плътност

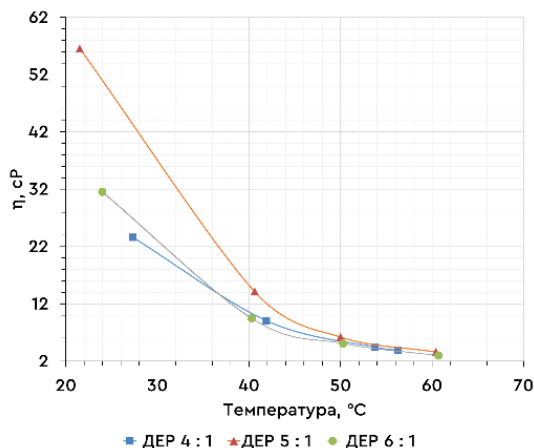
Изследванията на плътността при системата ДЕР ментол-салицилова киселина (М-СаК) под влияние на температурата показаха, че тя се променя линейно както и при другите познати течности. Наблюдава се отчетливо, че плътността намалява с увеличаване на температурата в диапазона от 20 до 50°C при изследваните ДЕР. Получените линейни зависимости са представени на фигура 8.



Фиг. 8. Анализ на плътността в ДЕР от системата М-СаК.

Плътността на синтезираната ДЕР ментол-салицилова киселина (4:1), според литературата е 0.9511 g/cm^3 при температура 25°C. Плътността на синтезираната за целите на настоящата работа ДЕР М-СаК 4:1 при температура 25°C е 0.9473 g/cm^3 . Съпоставяйки получените данни, разликата между тях е малка – 0,4%. Това допълнително потвърждава достоверността на получените и представени тук данни за ДЕР М-СаК 4:1.

Динамичен вискозитет



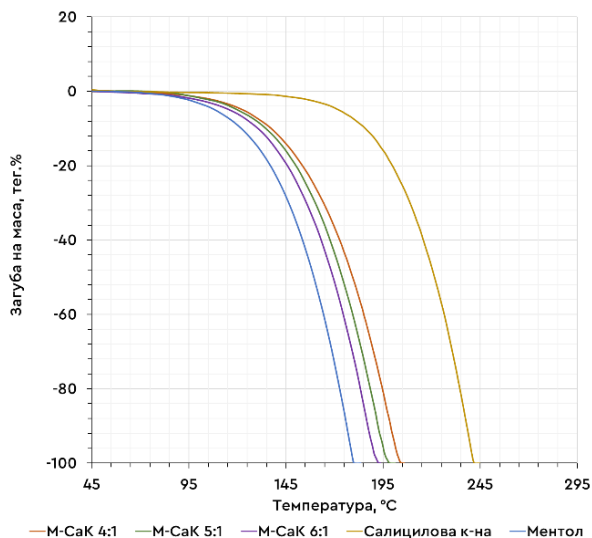
Фиг. 9. Измерване на динамичния вискозитет (η) на ДЕР М-СаК в зависимост от температурата

Кривите на динамичния вискозитет (фигура 9) от получените евтектичните смеси са с необичайно разпределение. Най-висок показател на вискозитета има системата 5:1, който с увеличаване на температурата се приближава силно към останалите две евтектични системи. Показанията за динамичния вискозитет в системите 4:1 и 6:1 са изключително близки – най-висок вискозитет притежава евтектичната смес с молно отношение 5:1. Под нея се разполага ДЕР 4:1, а най-нисък вискозитет има системата 6:1. Въпреки това не може да се намери закономерност, според която кривата за системата 5:1 както е показано на фигура 9. Увеличението в съдържанието на ментол в системата води до увеличаване на вискозитета.

Информацията за вискозитета на ментола дава възможност за формиране на хипотеза, с която може да обясни рязката промяна в показанията на динамичния вискозитет за системата 6:1: поради несъвършенството в терморегулиращата система на използваният реометър, е възможно образуването на твърда фаза, която би повишала вискозитета в диапазона от температури 20-25°C.

Термогравиметричен анализ на ДЕР М-СаК.

Процесът на термичното разлагане на индивидуалните вещества и трите ДЕР – 4:1, 5:1, 6:1, са изследвани с термогравиметричен анализ (ТГА). Получените резултати са илюстрирани на фигура 10. Получените резултати представят зависимостта между загубата на маса (в тегловни %) с увеличаването на температурата с постоянна скорост.



Фиг. 10. Криви на термичното разлагане от ТГА анализ на индивидуалните вещества и получените ДЕР.

Кривите на термично разлагане на индивидуалните вещества показват, че разлагането на ментола и салициловата киселина се различава значително. Пълното разлагане на ментола е достигнато при 180°C, а салициловата киселина е разложена напълно при 242°C. При евтектичните системи ясно се забелязва изместването в температурата на разлагане в зависимост от количеството на ментола в разтвора. Повишаването на количеството ментол в разтвора приближава температурата на разлагане поблизо до тази на същото индивидуално вещество.

Фигура 10 показва, че разлагането на ментола започва още при около 100°C и завършва при около 180°C, разлагането на салициловата киселина

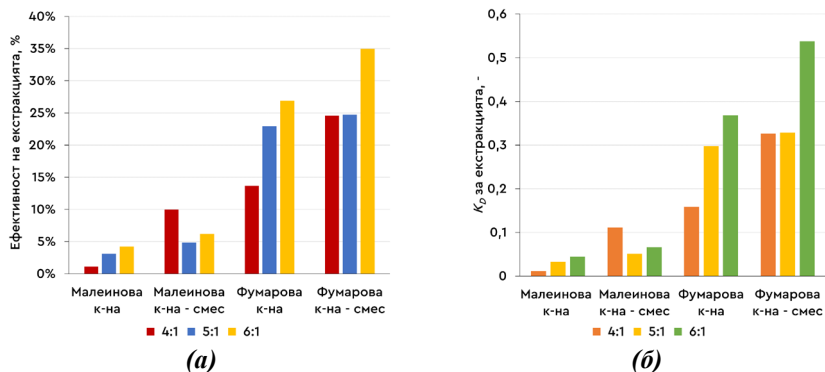
започва при над 145°C и завършва при 240°C. Температурата на разлагане (T_{deg}) и степента на разлагане на евтектичните смеси са показани в таблица 3.

Таблица 3. Термични свойства на индивидуалните вещества и техните евтектични смеси.

Чисто вещество	T, °C	ДЕР	T_{deg} , °C	Първичен етап на разлагане, %
L-ментол	180	M/CaK 4:1	204,5	
Салицилова киселина	242	M/CaK 5:1	198	Не се наблюдава
		M/CaK 6:1	193	

Анализът на термичните криви от евтектичните смеси ментол/салицилова киселина разкрива, че процесът на разлагане протича при много по-високи температури в сравнение с разлагането на ментола, но при по-ниски от разлагането на салициловата киселина. Изложеното до тук е в подкрепа на хипотезата за образуване на евтектичната разтвор между ментола и салициловата киселина.

1.4. Разделяне на изомерите на бутендиовата киселина с ДЕР М-СаК.



Фиг. 11. Екстракция на малеинова и фумарова киселина: (а) ефективност на екстракцията; (б) коефициент на разпределение

Екстракцията и реекстракцията на изомерите на бутендиовата киселина – малеинова и фумарова киселина не е с толкова висока ефективност както при ДЕР ментол-амин. Въпреки това от представеното на фигура 11 (а) се вижда,

че ефективността на екстракцията варира от 1% до 35%. Най-висока ефективност се постига от ДЕР 6:1 при извличане на фумаровата киселина от общия разтвор с малеиновата. Резултатите показват, че другите две евтектични системи (4:1 и 5:1) в същия случай имат изключително близки стойности: за 4:1 – 24,6%; за 5:1 – 24,73%.

Ефективността при извличане на фумаровата киселина от индивидуалния ѝ разтвор е по-ниска, в сравнение с извличането ѝ от общия разтвор на двете киселини. Наблюдава се увеличение на ефективността на екстракцията, при увеличаване на дяла ментол в евтектичната смес. Тук, отново, ДЕР 6:1 показва най-висока ефективност (26,9%) при извличане (фиг. 16 (а)).

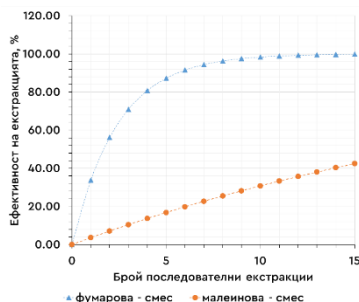
Малеиновата киселина в индивидуалния си разтвор се извлича най-слабо с ДЕР от системата ментол-салицилова (1-4%). Наблюдава се тенденцията за ръст на извличането с увеличаване на дяла ментол в евтектичната смес, което ясно се вижда от фигура 13 (а). Малеиновата киселина, която се намира в общ разтвор с фумаровата, има по-странно поведение. Резултатите показват, че извличането на малеинова киселина от ДЕР 4:1 е 9,97%, при ДЕР 5:1 пада до 4,85%, а при 6:1 пак нараства до 6,2%. Варирането на този показател за малеиновата киселина от смесения разтвор към момента няма подходящо обяснение.

Коефициента на разпределение (K_D) варира от 0,01 до 0,5 в зависимост от съотношението на компонентите в евтектичния разтвор (фиг. 16 (б)). Най-добри стойности (около шест) за извличането на фумаровата киселина от смесения разтвор постигна ДЕР – 6:1. Отново най-висок е показателят на K_D за извличането на фумаровата киселина от смесения разтвор при ДЕР 5:1 и 4:1. Стойностите на K_D в случая са между много близки: за 5:1 – 0,328; за 4:1 – 0,326. При K_D на фумаровата киселина от индивидуален разтвор се вижда, че разпределението ѝ между фазите расте с увеличаване на дяла на ментола в евтектичната система: от 0,158 за 4:1, през 0,297 за 5:1 и 0,367 за 6:1.

Разпределението между фазите на малеиновата киселина от смесения разтвор, изразено чрез K_D , показва същата тенденция, както и в случая с ефективността на процеса. Най-висок е K_D в системата 4:1 (0,11), след това пада в системата 5:1 (0,051) и отново се повишава в системата 6:1 (0,066). Докато пък в индивидуалния разтвор на малеиновата киселина се наблюдава тенденция за повишаване на K_D при увеличаване на молното отношение на ментола в евтектичната система.

При еднократна екстракция на разтвора на бутендиовата киселина, с $pH = 1.8$, коефициентът на екстракция D за:

- $D_{\text{(фумарова к-на)}} = 0,51, K_D = 0,54$
- $D_{\text{(малеинова к-на)}} = 0,038, K_D = 0,066$

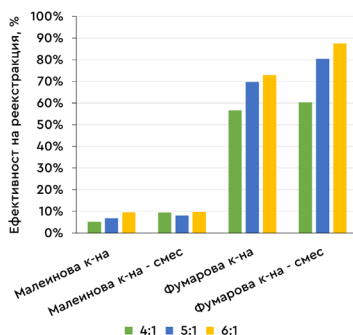


Фиг. 12. Ефективност за екстракцията на бутендиовата киселина в органичната фаза според броя последователни екстракции.

Получените стойности за D са близки до тези, получени от експерименталните данни.

Фигура 12 представя броя теоретични екстракции и ефективността ѝ според органичната фаза със системата ДЕР 6:1. При 11 последователни екстракции фумаровата киселина би преминала напълно в органичната фаза, а малеиновата – 33,32%.

Ефективността на реекстракцията е представена на фигура 13 и в таблица 7. Наблюдава се значително по-голяма ефективност в процеса на реекстракция, спрямо екстракцията. Отново фумаровата киселина показва по-добри резултати при извличането ѝ от екстрагента. При извличането на индивидуалния разтвор на фумаровата киселина от ДЕР ефективността е между 56-72%, показателят се увеличава с увеличаването на дяла ментол в евтектичната смес.



Фиг. 13. Ефективност при реекстракция на малеиновата и фумаровта от изследваните ДЕР М-СаК

Извличането на фумаровата киселина от смесения разтвор има висока ефективност (60-87%) и отново се повишава с увеличаването на количеството ментол в ДЕР. При малеиновата киселина ефективността на извличане от индивидуалния ѝ разтвор варира от 5-9%, а от смесения се колебае в диапазона 8-9,8%. При извличането на малеиновата киселина се забелязва, че способността за извличане от индивидуалния разтвор расте заедно с нарастването на дяла ментола в ДЕР, докато способността за извличане на малеиновата киселина от смесния разтвор видимо слабо се влияе от количеството ментол в ДЕР.

Таблица 4. Реекстракция на изомерите на бутендиовата киселина в изследваните ДЕР.

ДЕР	М : СаК	Реекстракция на индивидуалните киселини, %	Реекстракция от сместа, %
М-СаК	4:1	Малеинова к-на – 5,17	9,45
		Фумарова к-на – 56,61	60,34
	5:1	Малеинова к-на – 6,74	8,11
		Фумарова к-на – 69,74	80,42
	6:1	Малеинова к-на – 9,55	9,85
		Фумарова к-на – 72,9	87,5

Описани са физичните свойства на получените ДЕР ментол-салицилова киселина. Резултатите от екстракцията доказват способността на ДЕР 4:1, 5:1, 6:1 да извличат изомерите на бутендиовата киселина. Най-добра екстракционна способност към фумаровата киселина има ДЕР 6:1. Особено отличително е извличането на фумаровата киселина от общия разтвор на изомерите на бутендиовата киселина с ДЕР 6:1, с ефективност 35%. Също така, ДЕР 6:1 показва и най-високи стоности на $K_D = 0,5$. Малеиновата киселина се извлича слабо от всички ДЕР – под 5%. Изключение прави ДЕР 4:1, който извлича малеиновата киселина от общия разтвор с ефективност 10%. Всички ДЕР успешно се регенерират с NaOH. Въпреки това най-добре се реекстрахира ДЕР 6:1, с което отдава най-голям дял от приетата фумарова киселина. При реекстракцията явно се наблюдава тенденцията, че с намаляване на молния дял ментол, намалява и ефективността на екстрахираните киселини.

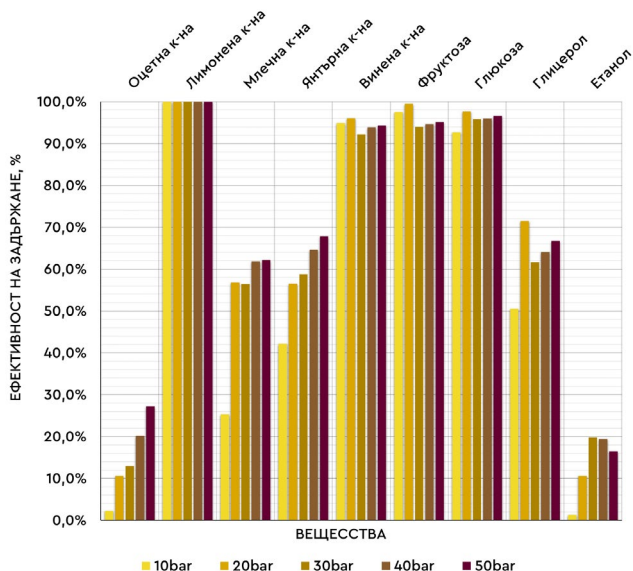
Тези резултати са обнадеждаващи за възможностите от бъдещото приложение и практическото значение на ДЕР ментол-салицилова киселина при извличането на тежки метали. Към вече публикуваните резултати могат да бъдат добавени и възможностите за разделяне на изомерите на бутендиовата киселина. Основавайки се на полученото, трябва да се продължи изучаването на приложните аспекти на системата ДЕР ментол-СаК в качеството на екстрагенти или мембранна фаза.

2. Промени в съдържанието на карбоксилни киселини и захари при наномембранна филтрация за деалкохолизация на червено вино от сорта „Мавруд“

2.1. Режим на концентриране

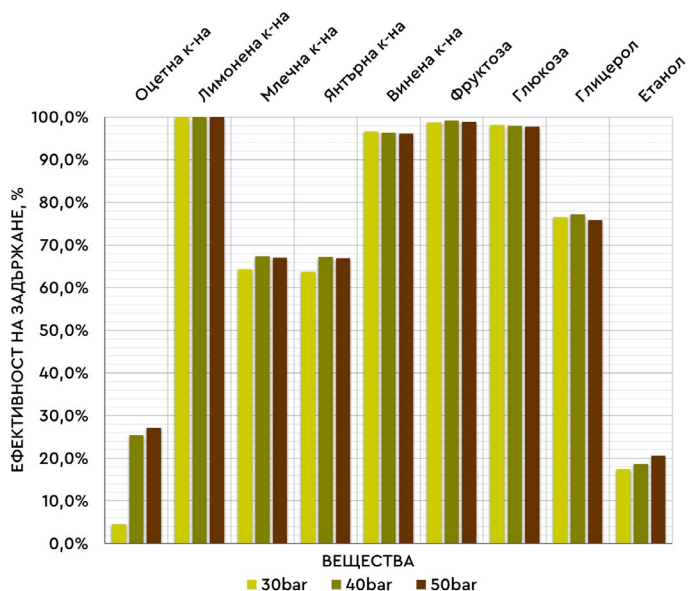
Ефективността на процеса по време на експерименталната работа бе оценена чрез анализ на количеството задържани от мембраната вещества. Следователно е възможно да бъде описано влиянието на налягането и прилагания режим на работа по време на процеса върху промяната в състава на Маврудовото вино - за разпознатите карбоксилни киселини и захари.

Задържането на различните групи съединения във виното от сорта Мавруд за всяка от използваните марки мембрани е представено на фигури 14 (Alfa Laval NF99HF); фигура 15 (Nadir NP030P); фигура 16 (Alfa Laval RO99).



Фиг. 14. Задържане (в %) на карбоксилни киселини и захари от червено вино Мавруд, при процеса нанофилтрация в режим на концентрация в зависимост от трансмембранното налягане. Мембрана Alfa Laval NF99HF

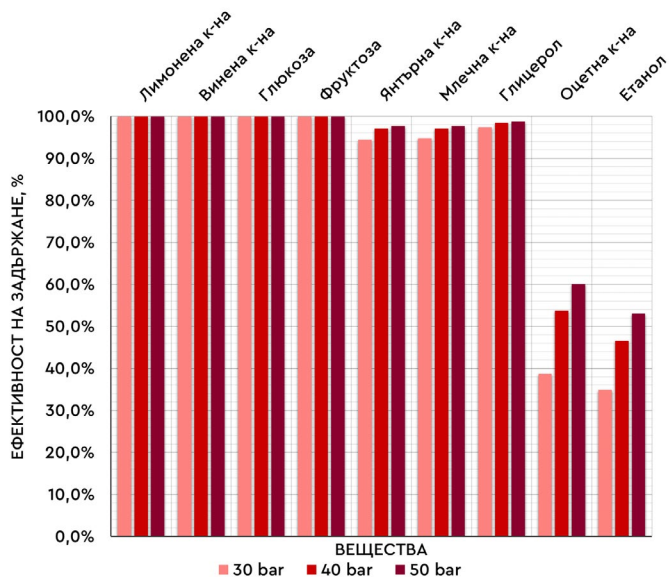
Както се вижда от фигура 14, диапазонът на трансмембранното налягане (ТМН) прилагано върху мембраната Alfa Laval NF99HF започва от 10 bar, което е обуславя от морфологичната структура на мембраната. Мембраните NP030P и RO99 също са изпитани с налягания от 10 и 20 bar, но не е наблюдаван поток от пермеат. Този факт предполага липсата на аналогични резултати за тези мембрани. Независимо от това, на фиг. 20 са представени резултатите от задържането на мембраната NF99HF, започвайки с 10 bar ТМН.



Фиг. 15. Задържане (в %) на карбоксилни киселини и захари от червено вино Мавруд, при процеса нанофилтрация в режим на концентрация в зависимост от трансмембранното налягане. Мембрана: Nadir NP030P

Както се вижда от фигура 15 прилаганото ТМН върху мембраната Nadir NP030P започва от 30 bar. Мембраните NP030P и RO99 също са изпитани с налягания от 10 и 20 bar, но не е наблюдаван поток от пермеат.

Хистограмите на фигури 15 и 16 показват, че при нанофилтрационните мембрани (НФМ) най-високите наблюдавани стойности на задържане (над 90%) са за следните вещества: лимонена киселина, винена киселина, глюкозата и фруктозата, като приблизително 60% от останалите нискомолекулни съединения са отхвърлени от мембраната. Оцетната киселина и етанола показват по-ниско задържане при нанофилтрационните мембрани.



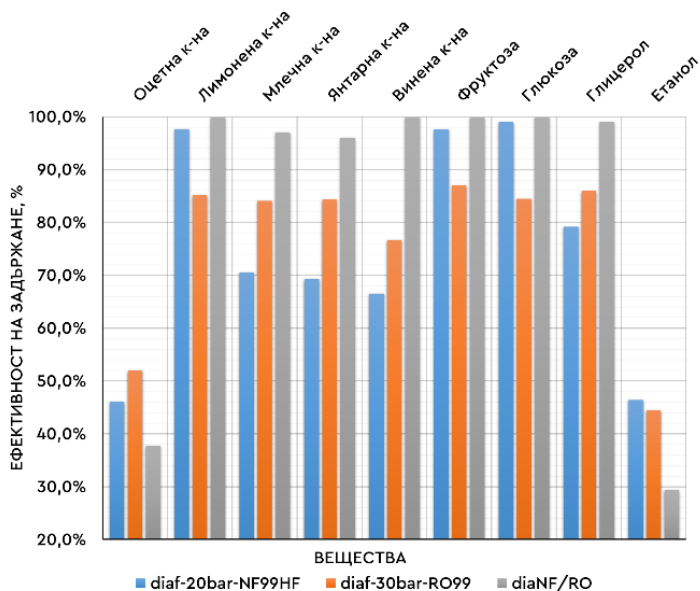
Фиг. 16. *Задържане (в %) на карбоксилни киселини и захари от червено вино Мавруд, при обратна осмоза в режим на концентрация в зависимост от трансмембранното налягане. Мембрана – Alfa Laval RO99*

Мембраната за обратна осмоза Alfa Laval RO99 (фигура 16) показва по-високо задържане, надхвърлящо 80% за всички съединения, с изключение на етанола и оцетната киселина, което определено се дължи на големината на порите в структурата на мембраната. Мембраната за обратна осмоза притежава най-малките пори сред използваните, което позволява по-добро задържане на повечето вещества, съдържащи се във виното.

2.2. Режим на диафилтрация с постоянен обем с последваща обратна осмоза.

Изследвания проведени със същото Маврудово вино показват, че задържането на етанола и високомолекулните биоактивни съединения във виното се запазват при диафилтрацията по-добре, в сравнение с режима на концентрация. Представените резултати (фигура 17) потвърждават и допълват посоченото от тези изследвания. Наблюдаваните коефициенти на задържане за органичните киселини и захари, присъстващи в изследваното вино от сорта Мавруд са значително по-високи при използване на едностъпален

диафилтрационен режим или двустъпален режим (диафилтрация с последваща обратна осмоза (ОО)).



Фиг. 17. Сравнение в задържането (в %) на вещества в Маврудовото вино след диаНФ – диананофилтрация (с мембрани NF99HF и RO99) и диаНФ/ОО – последователна диафилтрация и обратна осмоза

Хистограмите (фигура 17) ясно указват, че при карбоксилните киселини и захарите се наблюдава висока степен на отхвърляне ($Re_j > 80\%$), изключение са етанола и оцетната киселина. Подобни резултати се срещат при филтрацията на бяло вино. От гледна точка на високия поток на пермеата и подходящото задържане, мембраната NF99HF е най-удачна за целите на деалкохолизацията на вино в режим на диафилтрация.

Сравнението на отделните мембрани показва увеличение в коефициентите на задържане в посока на НФ и ОО (при едностъпална диафилтрация с постоянен обем) и последователна НФ/ОО, при същите работни условия. В последния случай първият етап (NF99HF при 20 bar) работи в режим на диафилтрация, а вторият етап (RO99 при 30 bar) обработва пермеатния поток след нанопилтрацията, за да отдели етанола. При втория

етап на филтриране съставът и концентрациите на входящия поток се различават значително от тези на виното. Наблюдава се добро задържане ($Re_j > 80 \%$) на млечната, янтарната и винената киселина, както и на фруктозата и глюкозата, които имат $Re_j > 90 \%$. Оцетната и лимонената киселина имат пониско задържане $Re_j < 50 \%$. Изчислени като цяло в схемата на двустъпална филтрация (крайните продукти са ретентат от първия етап и пермеат от втория етап), наблюдаваните коефициенти на отхвърляне са в диапазона 90-100 % за всички съединения, с изключение на оцетната киселина и етанола.

Видът на нанофилтрационната мембрана има пряко значение за степента на задържане на органичните киселини и захари, съдържащи се във виното. Нанофилтрационните мембрани NP030P и NF99HF показват задържане от 90 % на лимонена киселина, винена киселина, глюкозата и фруктозата. Останалите изследвани компоненти от виното: млечна киселина, янтарна киселина, глицерол се задържат от мембранта $\geq 60 \%$. Мембраната NF99HF на производителя Alfal Laval задържа най-висок процент глюкоза, фруктоза, лимонена киселина и винена киселина, които са съществени за вкусовите показатели на виното.

Мембраната за обратна осмоза RO99, произведена също от Alfal Laval, за всички съединения показва по-високи нива на задържане над 80%. Изключение се наблюдава при задържането на етанола и оцетната киселина. Тъй като задържането на етанол е важно за целите на деалкохолизацията, нашите резултати показват най-ниски стойности на задържане за мембраната NF99HF, следвана от мембраните NP030P и RO99. Последното означава, че основната разлика между коефициентите на задържане на етанола и другите съединения, наблюдавани във виното с мембраната NF99HF, е благоприятно условие за провеждане на диафилтрация, насочена към отделяне на етанола.

Двустепенната диафилтрация на виното се основава на резултатите, получени в режими на концентрация и диафилтрация с изследваните мембрани, като се избират условия, които свеждат до минимум запушването на мембранта и дават добър, като цяло сравним дебит за пермеата в двата етапа. Такава конфигурация на филтриране позволява да се наблюдават най-високите коефициенти на задържане на органичните киселини и захарите, съдържащи се във виното, в сравнение с крайния пермеат. Получените резултати могат да имат практическа стойност при производството на Маврудово вино с контролирано съдържание на алкохол. Процесът на мембранна нанофилтрация позволява да се запази уникалното съдържание на танини, антоциани и полифеноли.

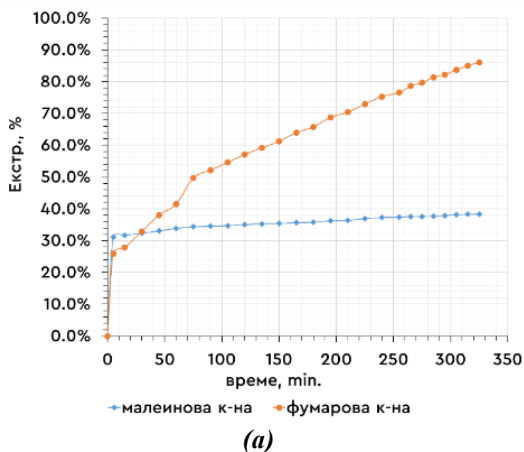
В рамките на изследваните диапазони при експерименталните условия с технологията на наномембранна филтрация в режим на концентриране и диафилтрация, не се установи да се наблюдават значителни разлики в коефициентите на задържане на мембраните. Освен, че запазва стойностите на задържане в двата режима на филтрация, трансмембранното налягане влияе върху коефициентите на отхвърляне. В повечето случаи на филтриране на вино, увеличаването на налягането води до съответно увеличаване на коефициентите на отхвърляне, както и до увеличаване на запушването на порите, както това е подчертано в експерименталната част.

3. Разделяне на изомерите на бутендиовата киселина с пертракция в ротационно-дисков пертрактор

Пертракцията на изомерите на бутендиовата киселина

Представените диаграми на фигура 18 разкриват резултатите от три различни експеримента свързани с разделянето на изомерите на бутендиовата киселина с пертракция. Условията на експериментите бяха както следва:

- течна мембрана 1-деканол, захранващият разтвор има $\text{pH}=1.8$ (фигура 18 (а)). За краткост – **експеримент I**;
- течна мембрана додекан, захранващият разтвор е с $\text{pH}=1.8$ – фигура 18 (б), кривите са оцветени в сиво и зелено. За краткост – **експеримент II**;

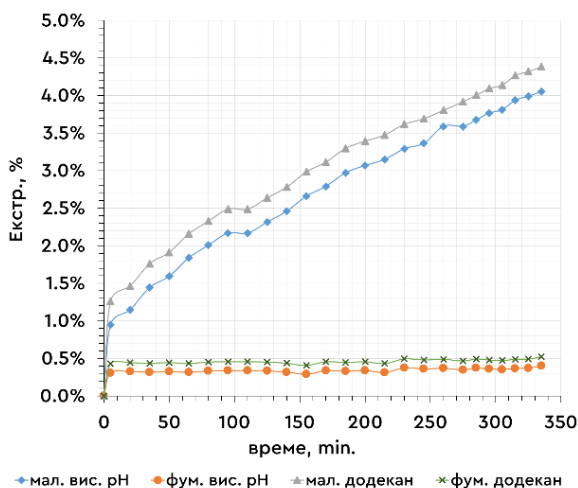


Фиг. 18. (а). Кинетика в процеса на разделяне на изомерите на бутендиовата киселина (експеримент I).

- течна мембрана 1-деканол, хранващият разтвор има $pH=10.65$ (фигура 18 (б)) – кривите са оцветени в синьо и оранжево. За краткост – **експеримент III**.

Сравнявайки резултатите за екстракцията се забелязва, че при **експеримент I** преимуществено се извлича фумаровата киселина (над 80 %). Малеиновата киселина също се извлича от хранващата фаза – започва от 30 % и до края на експеримента не достига 40%.

Степента на електролитна дисоциация при фумаровата киселина при $pH=1.8$ е $\alpha_{\text{фум}} < 0,05$, което означава, че по-голямата част от молекулите ѝ не са дисоциирани. Това предполага създаване на повече водородни връзки със слабо полярния 1-деканол. При $pH=1.8$, малеиновата киселина има $\alpha_{\text{мал}} > 0,4$, което означава, че има повече дисоциирани молекули, което ограничава нейния пренос през мембраната.



(б)

Фиг. 18 (б). Кинетика в процеса на разделяне на изомерите на бутендиовата киселина, сравнение между **експерименти II и III**

Приемащият разтвор от своя страна способства извличането от мембраната, тъй като се формира по-силна връзка (йонна) между алкалния разтвор и фумаровата киселина, която се е натрупала в мембранната фаза.

Допълнителна информация за стойностите на началната и крайната концентрация в процеса е представена в таблица 5.

Таблица 5. Концентрациите на изомерите на бутендиовата киселина според фазата в началото и края на процеса в **експеримент I**.

Разтвор	Вещество	Начална конц. – g/L	Крайна конц. – g/L	Е (%)
Захранващ	Малеинова киселина	5,0086	4,6093	-
	Фумарова киселина	4,6964	0,8095	
Приемащ	Малеинова киселина	0	1,9196	38,33%
	Фумарова киселина	0	4,038	85,98%

Резултатите от **експерименти II и III** са изключително близки (както се вижда от кривите на фигура 18-б) – и при двата експеримента преимуществено се извлича малеиновата киселина . Въпреки различните мембрани и рН на захранващия разтвор кривите, които се наблюдават, са много близки.

Кинетичната крива за **експеримент II** (фигура 18 (б), сиво и зелено) показва, че използването на неполярната мембрана от додекан не води до процес на екстракция с висока ефективност. Въпреки това, трябва да се отбележи, че преимуществено се извлича малеиновата киселина (в сиво на фигура 18-б). Таблица 6 представя повече информация за концентрациите на веществата в началния и крайния момент на процеса, а също така за екстракцията на веществата в приемащия разтвор.

Таблица 6. Концентрациите на изомерите на бутендиовата киселина при експеримент с мембрана додекан в **експеримент II**.

Фаза	Вещество	Начална конц. – g/L	Крайна конц. – g/L	Е (%)
Захранваща	Малеинова киселина	5,1292	5,1292	-
	Фумарова киселина	3,9638	3,9499	
Приемаща	Малеинова киселина	0	0,2249	4,38%
	Фумарова киселина	0	0,0207	0,52%

При алкално рН двата изомера са почти изцяло дисоциирани и преминават в мембранната фаза в минимални количества. Екстракционната ефективност е ниска, а селективност практически отсъства.

Кинетични криви напълно съвпадат с тези от експеримент II, въпреки че мембраните са различни за **експеримент III** (фигура 18 (б), синьо и оранжево). Това съвпадение ясно демонстрира, че степента на дисоциация е доминиращият фактор:

- при ниско рН селективността се определя от молекулната геометрия
- при високо рН дисоциацията е почти пълна, следователно масопреносът на йони през хидрофобната фаза е силно потиснат.

Стойностите на началната и крайната концентрация при процеса на пертракция в **експеримент III** са представени в Таблица 7.

Таблица 7. Концентрацията на изомерите на бутендиовата киселина в **експеримент III**.

Фаза	Вещество	Начална конц. – g/L	Крайна конц. – g/L	Е (%)
Захранваща	Малеинова киселина	5,3161	5,0531	-
	Фумарова киселина	4,7952	4,5587	
Приемаща	Малеинова киселина	0	0,2135	4,05%
	Фумарова киселина	0	0,01922	0,40%

Във всички експерименти скоростта на въртене на контактните устройства (дискете) бе постоянна и не бе променяна. Скоростта на въртене на дискете е избрана за 10 min^{-1} , Увеличаването на ъгловата скорост води до разкъсване на филма от водна фаза, който се образува върху хидрофилния диск. Нарушаването на този филм при по-високата скорост води до образуване на емулсия, с което се нарушава стационарното състояние на процеса и промяна в работния режим на апарата.

При пертракцията на изомерите на бутендиовата киселина най-голямо значение имат два фактора: използваната мембрана и рН на хранящия разтвор. Слабополярната мембрана от 1-деканол и ниският показател на $\text{pH}=1.8$ показват най-добри резултати при разделянето на малеиновата от фумаровата киселина. В края на процеса са извлечени над 80% от началното количество фумарова киселина. Извличането на малеиновата киселина слабо расте до средата на времевия интервал, а след това приема стационарен характер.

Изводи

Въз основа на проведените експериментални изследвания, анализа на получените резултати и обобщаването на влиянието на различните фактори върху екстракционните и мембранните процеси, могат да бъдат формулирани следните основни изводи:

1. Бяха установени основни зависимости между молните съотношения в дълбоко евтектични разтвори (ДЕР) на основата на ментол и техните физични и термични свойства, отразяващи формирането на стабилни асоциативни структури.

2. Беше доказано, че ДЕР ментол–амин проявяват висока екстракционна способност към L-млечна киселина, като най-ефективни се оказват разтворителите с диоктил амин (ДОА) и трихексил амин (ТХА).

3. Беше установена ясна селективност на ДЕР ментол–салицилова киселина към фумаровата киселина (транс-), докато геометричният ѝ изомер малеинова (цис-) киселина се извлича в ограничена степен.

4. Беше показано, че при пертракция селективността към фумаровата киселина се запазва само при кисели условия, докато при алкални условия дисоциацията напълно ограничава масопреноса.

5. Беше определено влиянието на различни мембранни режими върху задържането на органични киселини, захари и алкохоли във вино „Мавруд“, като най-висока селективност се наблюдава при комбинираната схема от диафилтрация и обратна осмоза (диа-НФ/ОО).

Приноси

Настоящата дисертация допринася към развитието на екстракционните и мембранните технологии чрез изследвания върху нови хидрофобни дълбоко евтектични разтвори, тяхната екстракционна способност и приложимостта на мембранни процеси за селективно разделяне и деалкохолизация. Основните научни приноси могат да бъдат обобщени, както следва:

1. Синтезирани и физикохимично охарактеризирани бяха хидрофобни дълбоко евтектични разтворители (ДЕР) на основата на ментол с органични амини и със салицилова киселина.

2. Определени бяха техните термични, реологични и структурни характеристики, релевантни за приложението им като екстрагенти.

3. Изследвана беше екстракционната способност на синтезираните ДЕР ментол–амин спрямо L-млечна киселина.

4. Установени бяха закономерности между вида на амина, молните съотношения в ДЕР и екстракционната ефективност/коефициента на разпределение.

5. Определена беше реекстракционната способност на най-ефективните ДЕР ментол–амин.

6. Показано беше, че системите М–ДОА и М–ТХА позволяват висока степен на десорбция и поддържат стабилни параметри при многократно използване.

7. Разработен и приложен беше теоретичен модел на последователна екстракция, базиран на експериментално определените стойности за K_D , който прогнозира поведението на системите при многократни цикли.

8. Изследвана беше екстрахиращата способност на ДЕР ментол–салицилова киселина (М–СаК) спрямо геометричните изомери на бутендиовата киселина — малсинова и фумарова. Установена беше отчетлива селективност към транс-изомера (фумарова киселина) и зависимост от молните съотношения в ДЕР.

9. Потвърден беше различният механизъм на разпределение на двата изомера, свързан с геометрията на молекулите, възможностите за водородно свързване и хидрофобното взаимодействие с органичната фаза.

10. Показано беше, че ДЕР ментол–салицилова киселина може да бъде използван като селективен екстрагент за разделяне на геометрични изомери, като резултатите разширяват приложното поле на тази система отвъд описаната в литературата екстракция на йони на тежките метали.

11. Оценена беше ефективността на пертракционния процес за разделяне на изомерите на бутендиовата киселина при различни мембранни фази (1-деканол, додекан) и различни рН на хранващата фаза. Установено беше, че 1-деканол при рН 1.8 осигурява най-висока селективност към фумаровата киселина, което е в съответствие с резултатите от течно-течната екстракция.

12. Показано беше, че в алкална среда (рН 10.65) процесът на пертракция е силно потиснат, поради почти пълната дисоциация на двете киселини и ограниченото разпределение в хидрофобната мембрана.

13. Проучено беше кинетичното поведение на процеса пертракция, като беше установено влиянието на структурата на мембранната фаза и степента на дисоциация върху масопреноса.

14. Оценено беше поведението на промишлени нанофилтрационни и обратносмотични мембрани (NF99HF, NP030P, RO99) при филтрация на вино „Мавруд“ в режим на концентриране. Определени бяха коефициентите на задържане на основни органични киселини, захари, етанол и глицерол.

15. Установени бяха закономерности в селективността на мембраните, включително ясно разграничение между високомолекулни и нискомолекулни компоненти, което е важен параметър за процеса на деалкохолизация.

16. Показано беше поведението на мембраните в режим на диалез/ОО. Доказано беше, че този процес води до значително намаляване на алкохола при минимални загуби на органични киселини и захари.

17. Определено беше влиянието на трансмембранното налягане върху задържането и масовия баланс при различни мембранни конфигурации в богата на компоненти матрица като червено вино от сорта „Мавруд“.

18. Предложени бяха практически насоки за приложение на мембранни процеси при частична деалкохолизация на червени вина, основани на експерименталните данни за селективност, поток и стабилност на мембраните.

Списък на научните публикации, част от дисертационния труд

1. Ivanova, D.; Apostolov, A.; Tuleshkov, P.; Novakov, C.; Yankov, D. Menthol-Based Hydrophobic Deep Eutectic Solvents as a Tool for Lactic Acid Extraction, *New Appl. Sci.* **2025**, *15*, 3564. <https://doi.org/10.3390/app15073564>
Q2. Цитирана от: 10.1016/j.jece.2025.120147.
2. Apostolov, A.G.; Tsibranska, I.; Yankov, D.; Dencheva-Zarkova, M.; Genova, J. Bulgarian Mavrud Wine Under Nanofiltration and Reverse Osmosis: Evaluating the Composition After the Process. *Chemistry* **2025**, *7*, 134. <https://doi.org/10.3390/chemistry7040134>, **Q2**
3. Kostanyan, A.E., Milevskii, N.A., Klychevskikh, Y.A. *et al.* On the Operation of a Cascade of Mixing and Settling Extractors in the Modes of Chromatography and in Free Liquid Membranes. *Theor Found Chem Eng* **57**, 764–769 (2023). <https://doi.org/10.1134/S004057952304019X>, **Q4**