

ВЛИЯНИЕ pH НА СОРБЦИЮ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА НА НЕИОНОГЕННОМ СОРБЕНТЕ «СТИРОСОРБ»

© 2013 Л. А. Синяева, А. А. Назарова, В. Ф. Селеменев

Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, 394006 Воронеж, Россия
e-mail: liliya.sinyaevavsu@mail.ru, common@chem.vsu.ru

Поступила в редакцию 24.05.2013 г.

Аннотация. В настоящей работе нами изучена сорбция фосфатидилхолина на неионогенном сорбенте «Стиросорб», а также показано, какое влияние на сорбцию оказывает изменение pH рабочих растворов. Изучены спектральные характеристики ФХ в УФ свете, доказано, что изменение pH не оказывает влияния на вид УФ-спектра и положение максимума поглощения. Получены изотермы сорбции ФХ на сорбенте «Стиросорб» в различных средах, для интерпретации данных в области низких концентраций фосфатидилхолина была использована модель сорбции Ленгмюра.

Ключевые слова: фосфатидилхолин, Стиросорб, сорбция БАВ.

ВВЕДЕНИЕ

Фосфатидилхолин (ФХ) является биологически активным соединением, играющим огромную роль в человеческом организме. ФХ — один из наиболее важных питательных веществ для поддержания активного состояния печени, основной фосфолипид, циркулирующий в крови, где он является интегральным компонентом липопротеинов. По химическому строению ФХ представляет собой сложный эфир глицерина, фосфорной кислоты, азотистого основания и двух остатков жирных кислот (рис. 1).

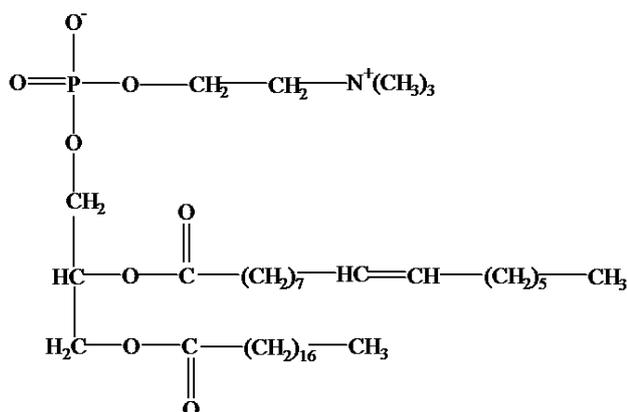


Рис. 1. Фосфатидилхолин (биполярная форма)

К одним из самых перспективных способов выделения биологически активных веществ стоит

отнести сорбционный метод, который позволяет не только выделять фосфолипидную фракцию, но и получать отдельные фосфолипиды из фосфолипидного комплекса с высокой степенью чистоты. Поэтому актуальным является разработка сорбционного способа выделения фосфолипидов из растительных объектов. В связи с нерастворимостью фосфолипидов в воде нами был выбран в качестве растворителя этиловый спирт, а в качестве сорбента — сверхсшитый неионогенный сорбент на основе стирола и дивинилбензола «Стиросорб» МХДЭ-400 ($S_{уд}=440 \text{ м}^2/\text{г}$).

В состав ФХ входят группы, способные к диссоциации: фосфорная кислота и фрагмент холина. Следовательно, ФХ может находиться в различных ионных формах, и pH рабочих растворов, вероятно, будет оказывать значимое влияние на сорбцию исследуемого вещества.

Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение влияния pH на сорбцию фосфатидилхолина неионогенным сорбентом «Стиросорб».

ЭКСПЕРИМЕНТ

Наличие в составе ФХ групп, способных к диссоциации, приводит к тому, что в зависимости от pH среды эти вещества будут находиться в различных ионных формах.

Из рис. 2 следует, что ФХ находится преимущественно в форме цвиттер-иона в широком интервале pH (включая также и физиологические значения

pH). В качестве метода определения фосфатидилхолина в растворах нами была выбрана спектроскопия в ультрафиолетовой области. Измерения проводили на приборе СФ-2000. Для установления максимума поглощения хромофорных групп на первом этапе нами были изучены спектры ФХ при различных значениях pH, которые выбирались таким образом, чтобы ФХ находился преимущественно в моноионных формах, то есть в виде цвиттер-иона, аниона (pH 12) и катиона (pH 2).

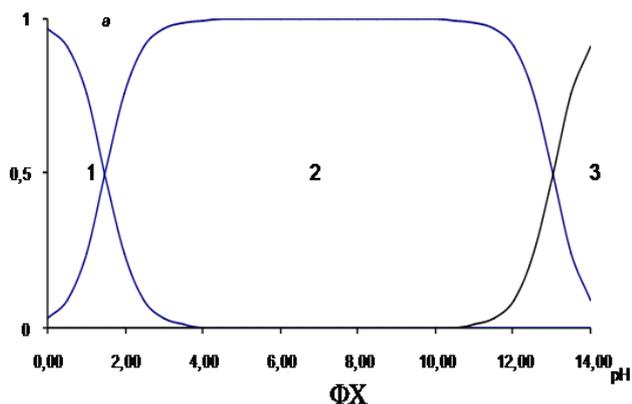


Рис. 2. Характеристика ионных форм ФХ при изменении величины pH: 1 — однозарядный катион; 2 — цвиттер-ион; 3 — однозарядный анион

Как видно из рис. 3, все спектры практически идентичны. Максимум поглощения при 235 нм, соответствующий поглощению групп фосфорной кислоты, не сдвигается при изменении pH, абсолютная величина оптической плотности также практически не меняется. Для количественного определения ФХ нами был выбран максимум при 235 нм [3].

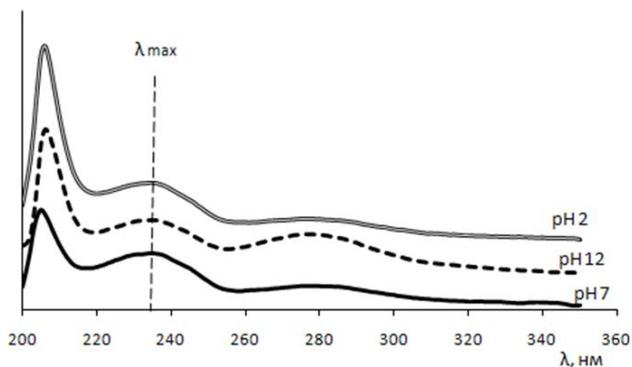


Рис. 3. Сравнительные спектры поглощения ФХ в нейтральной, кислой и щелочной средах

В дальнейшем нами были получены градуировочные графики, которые использовались при ко-

личественном определении концентрации растворов ФХ после сорбции на «Стиросорбе».

Из рис. 4 видно, что все графики линейны, тангенс угла наклона их приблизительно одинаков, следовательно, изменение pH среды не оказывает значимого влияния на оптическую плотность раствора.

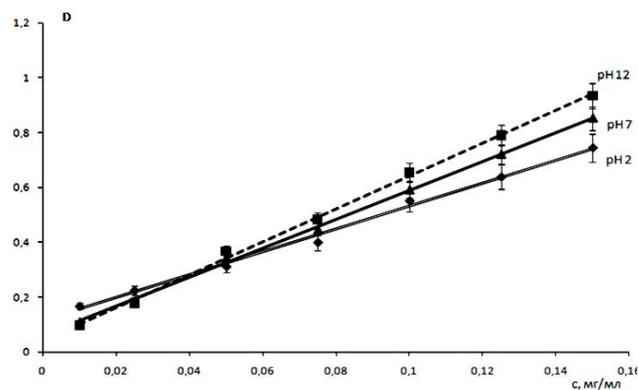


Рис. 4. Градуировочные графики для определения ФХ в щелочных, нейтральных и кислых растворах

Построение изотермы сорбции проводили методом переменных концентраций [4]. В результате исследования были получены изотермы сорбции ФХ неионогенным сорбентом «Стиросорб» при различных значениях pH среды: кислой (pH=2), щелочной (pH=12) и нейтральной (pH=7) (рис. 5).

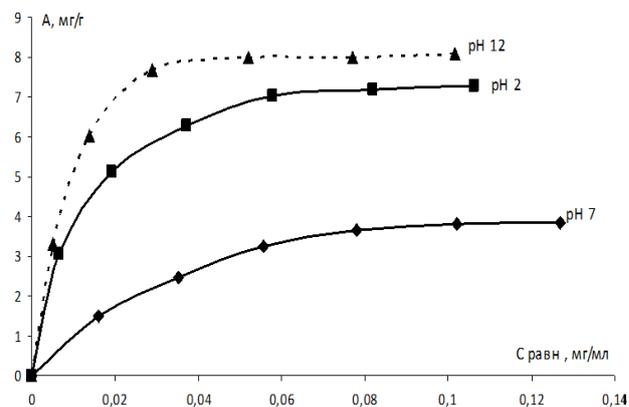


Рис. 5. Изотермы сорбции ФХ в различных средах

Все три кривые имеют аналогичный вид и выходят на плато, свидетельствующий о том, что механизм сорбции исследуемого вещества имеет идентичный характер, разница наблюдается только в величине поглощения. Наиболее сильная сорбция наблюдается в случае щелочного раствора, наименее сильная — в нейтральной среде.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Форма изотерм в области низких концентраций ФХ свидетельствует о мономолекулярном механизме сорбции, описанном Ленгмюром, следовательно, дальнейшая обработка данных была проведена в соответствии с этим механизмом. Экспериментальные результаты по определению изотермы адсорбции обычно обрабатывают с помощью уравнения, записанного в линейной форме [5]:

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_{\infty}} + \frac{1}{A_{\infty}K} \cdot \frac{1}{c}, \text{ т. е. уравнение типа } y = b + ax,$$

где A — величина адсорбции; A_{∞} — емкость адсорбционного монослоя или число адсорбционных центров, приходящихся на единицу поверхности или единицу массы адсорбента; K — константа равновесия процесса, характеризующая энергию взаимодействия адсорбента с адсорбатом.

Такая линейная зависимость позволяет графически определить A_{∞} и K .

В данном случае изотерма адсорбции в координатах $c/A = f(c)$ будет представлять собой прямую линию с угловым коэффициентом, равным $1/A_{\infty}$.

Построенные таким образом изотермы представлены на рис. 6.

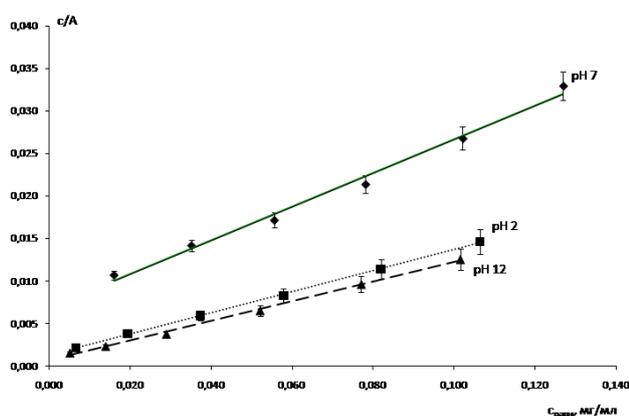


Рис. 6. Изотермы сорбции ФХ в различных средах (линейный вид)

Из рис. 6. видно, что изотерма, соответствующая нейтральной среде и цвиттер-ионной форме ФХ, значительно отличается от двух других, соответствующих кислой и щелочной среде и катионной и анионной форме ФХ соответственно.

Зная A_{∞} и удельную поверхность адсорбента (поверхность единицы массы адсорбента), можно по

приведенному ниже выражению определить площадь, занимаемую одной молекулой адсорбата [6]:

$$S_{yo} = A_{\infty} N_A \omega_0,$$

где A_{∞} — предельная адсорбция, выражаемая числом молей адсорбата на единицу массы адсорбента; N_A — число Авогадро; ω_0 — площадь, занимаемая одной молекулой адсорбата.

Данные по значению предельной адсорбции и константы, пропорциональной энергии взаимодействия молекул ФХ с адсорбентом, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Данные по значению предельной адсорбции

pH	A_{∞} , ммоль/г	k	$\omega_0 \cdot 10^{-20}$, м ²
7	6.4	28.71	11.42
2	10.2	95.32	7.17
12	11.5	165.35	6.36

Из данных табл. 1. видно, что значения предельной адсорбции для нейтральной и кислой/щелочной сред значительно отличаются между собой, хотя и являются величинами одного порядка. Следовательно, в щелочной и кислой средах на единицу массы сорбента приходится большее число молекул сорбированного вещества [6].

Этот вывод подтверждается данными по определению площади, занимаемой одной молекулой. Так, сорбированные в щелочной и кислой средах частицы имеют меньшую площадь по сравнению с площадью, занимаемой молекулой ФХ в нейтральной среде. Возможно, это связано с уменьшением размера сорбированных частиц в ионизированной форме и их внутренней координацией по сравнению с биполярным ионом.

В описанных ранее работах [7] показано, что сорбция фосфолипидов на Стиросорбе происходит за счет гидрофобных взаимодействий неполярных остатков двух жирных кислот и матрицы сорбента, что доказывают приведенные в указанной работе ИК-спектры. Следовательно, молекулы ФХ ориентированы неполярными «хвостами» к поверхности сорбента, тогда как полярные «головы» находятся в растворе. Изменение pH не оказывает значимого воздействия на остатки жирных кислот, а влияет лишь на фосфорную кислоту и соединенный с ней фрагмент холина. Можно предположить, что пло-

щадь, занимаемая одной молекулой ФХ, определяется размерами полярных фрагментов, а не жирных кислот, так как эта площадь изменяется с изменением pH растворов и уменьшается в случае ионизированных фрагментов. Это связано с упорядочиванием полярных частей и их координированием в фазе сорбента.

Для подтверждения сделанных ранее выводов были получены ИК-спектры ФХ, сорбированного на «Стиросорбе» при различных значениях pH рабочих растворов. На рис. 7 представлены ИК-спектры чистого ФХ и ФХ, сорбированного на Стиросорбе в нейтральной среде.

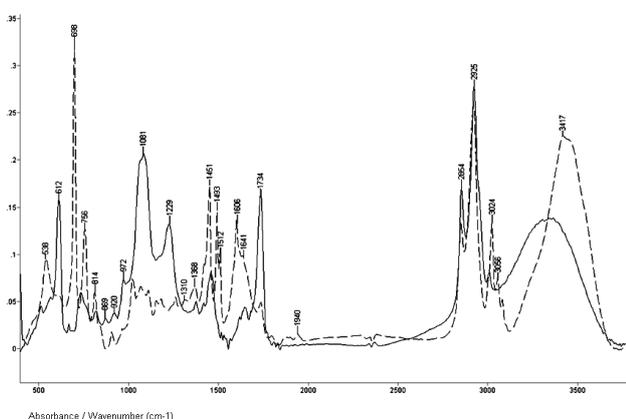


Рис. 7. ИК-спектры чистого ФХ и ФХ, сорбированного на неионогенном сорбенте «Стиросорб» (---- ФХ_{сорб}; — ФХ_{чист}); pH 7)

Присутствие в составе фосфолипидов связей $-CH_2$, $-C=C-$, $-P-O^-$, $-P=O$, $-C=O$, $-N-H$, приводит к появлению соответствующих полос поглощения на ИК-спектрах. Для ФХ характеристической является полоса поглощения при 972 см^{-1} , которая соответствует валентным колебаниям группы $-N^+(CH_3)_3$.

Из рис. 7 видно, что на спектре ФХ, сорбированного на «Стиросорбе», появляются дополнительные максимумы при 1107 см^{-1} , что соответствует поглощению группы фосфорной кислоты $-P-O^-$, а также при 1181 см^{-1} — поглощение группы $-P-O-C$. Все эти группы присутствуют в структуре ФХ в полярной части. Также наблюдаются новые максимумы, соответствующие карбонильной группе (1709 см^{-1}) и холиновой группировке (1419 см^{-1}). Однако вышеприведенные данные свидетельствуют лишь о наличии в образце молекул ФХ. Механизм сорбции за счет взаимодействия гидрофобных участков в структуре ФХ с сеткой сорбента можно подтвердить по смещению полос поглощения ме-

тильных и метиленовых фрагментов (2922 — 2854 ; 3021 — 3005 ; 3420 — 3311 см^{-1}). Сдвиг этих полос в спектре сорбированного ФХ может говорить о возникновении новых дополнительных взаимодействий, хотя малая величина сдвига характеризует его слабое влияние. Из сравнения ИК-спектров чистого ФХ и ФХ, сорбированного на «Стиросорбе» в различных средах, видно, что величина сдвига остается неизменной при изменении pH среды. Следовательно, pH рабочих растворов не оказывает влияния на механизм сорбции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены спектральные характеристики ФХ в УФ свете, доказано, что изменение pH не оказывает влияния на вид УФ-спектра и положение максимума поглощения. Построены градуировочные графики ФХ в нейтральной, кислой и щелочной средах, показано, что графики имеют практически одинаковый угол наклона, следовательно, pH среды незначительно влияет на определение ФХ.

Получены изотермы сорбции ФХ на сорбенте «Стиросорб» МХДЭ-400 при различных значениях pH, для интерпретации данных в области низких концентраций фосфатидилхолина была использована модель сорбции Ленгмюра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Преображенский Н. А., Евстигнеева Р. П. Химия биологически активных природных соединений. М., 1976. С. 320—334
2. Филиппович Ю. Б. Основы биохимии: Учебник для студ. хим. и биол. специальностей пед. ин-тов. М.: Высшая школа, 1985. 502 с.
3. Арутюнян Н. С., Корнена Е. П. Фосфолипиды растительных масел. М.: Агропромиздат, 1986. С. 3—105.
4. Самсонов Г. В., Тростянская Е. Б., Елькин Г. Э. Ионный обмен. Сорбция органических веществ. Л., 1969. С. 264—265.
5. Синяева Л. А., Назарова А. А., Селеменев В. Ф. Изучение влияния pH на сорбцию фосфатидилхолина на неионогенном сорбенте «Стиросорб». // Материалы IV Международной конференции «Сорбенты как фактор качества жизни и здоровья». Белгород, 2012 г.
6. Синяева Л. А., Назарова А. А., Селеменев В. Ф. Изучение влияния pH на сорбцию фосфатидилхолина на неионогенном сорбенте «Стиросорб». // Сборник материалов XIII Международной конференции «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов» (ИОНИТЫ-2011). Воронеж, 2011 г.
7. Сафонова Е. Ф. Выделение и изучение фосфолипидов масла семян амаранта. // Дис. ... на соиск. уч. степ. канд. хим. наук. М., 2004 г.

Синяева Лилия Александровна — аспирант кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, тел.: (4732) 208932, e-mail: liliya.sinyaevavsu@mail.ru

Назарова Александра Александровна — ассистент кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, тел. (4732) 208932, e-mail: march_rabbit@list.ru

Селеменев Владимир Федорович — д. х. н., профессор, заведующий кафедрой аналитической химии, Воронежский государственный университет; e-mail: common@chem.vsu.ru

Sinyaeva Liliia A. — postgraduate of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: liliya.sinyaevavsu@mail.ru

Nazarova Aleksandra A. — Assistant of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, tel.: (4732) 208932, e-mail: march_rabbit@list.ru

Selemenov Vladimir F. — Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: common@chem.vsu.ru