



УДК 543+544

Особенности разделения минеральных солей методом фронтальной эксклюзионной хроматографии на нейтральном нанопористом сверхсшитом полистироле

Блинникова З.К., Маерле К.В, Цюрупа М.П., Даванков В.А.

*Учреждение Российской академии наук,
Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва*

Поступила в редакцию 19.05.2009 г.

Аннотация

Исследовано разделение солей щелочных и щелочноземельных металлов методом фронтальной эксклюзионной хроматографии на сверхсшитом нанопористом полистирольном сорбенте NanoNet 381. Установлено, что селективность разделения смеси CaCl_2 и KCl определяется степенью гидратации катионов кальция и калия, которая максимальна в разбавленных растворах. С ростом концентрации солей размеры гидратированных катионов уменьшаются, доля доступных им пор в сорбенте возрастает и, соответственно, уменьшается селективность разделения данной смеси. Это наблюдение полностью соответствует эксклюзионному механизму разделения электролитов. Этот механизм подтверждается также образованием двух новых солей MgSO_4 и KCl при хроматографировании водного раствора смеси MgCl_2 и K_2SO_4 на том же сорбенте

Ключевые слова: электролиты, фронтальная эксклюзионная хроматография, сверхсшитый полистирол.

The paper describes the separation of salts of alkali and alkali-earth metals by means of size exclusion chromatography on the neutral nanoporous polystyrene sorbents NanoNet 381. The selectivity of separating mixture of CaCl_2 - KCl was founded to be determined by the extent of hydration of calcium and potassium cations which achieves maximum in diluted solutions. With the solution concentration rising, the size of hydrated ions decreases, a fraction of pores accessible to these ions increases and, correspondingly, the selectivity of separation diminishes. This finding corresponds completely to exclusion mechanism of separating electrolytes. This mechanism is also confirmed by the formation of two novel salts, MgSO_4 and KCl , on percolating aqueous mixed solution of MgCl_2 and K_2SO_4 through the same sorbent.

Key words: electrolytes, frontal size exclusion chromatography, hypercrosslinked polystyrene

Введение

Эксклюзионная хроматография, известная также под названием ситовой или гель-проникающей хроматографии, разделяет молекулы низкомолекулярных соединений, макромолекулы или частицы в соответствии с их размером и

способностью проникать в поры используемых в колонке гранул сорбента. Крупные частицы, которым доступны только самые большие поры, большую часть времени проводят в межгранульном пространстве и потому быстро перемещаются по колонке потоком подвижной фазы. Более мелкие частицы проникают в застойные зоны как больших, так и малых пор и достигают выхода из колонки позже. Эксклюзионная хроматография широко применяется как высокоэффективный аналитический метод определения молекулярных размеров и молекулярно-веса распределения полимеров. В препаративном масштабе она также нашла применение как мягкий способ обессоливания растворов ферментов, белков, полинуклеотидов. Недавно было показано [1, 2], что методом эксклюзионной хроматографии можно разделять на индивидуальные компоненты даже смеси простейших минеральных электролитов, таких как две кислоты, кислота и ее соль или соль и основание. Успех таких разделений обусловлен использованием в качестве стационарной фазы нейтрального нанопористого сверхсшитого полистирола [3]. Этот материал получают, сшивая сольватированные цепи полистирола большим числом конформационно жестких мостиков такой же химической природы. Мостики удерживают полимерные цепи на определенном расстоянии друг от друга, способствуя тем самым образованию ажурной однофазной сетки, полностью доступной малым молекулам как в органической, так и в водной среде. В сверхсшитом полистироле размер межщепных полостей (“пор”) в максимуме кривых распределения объема пор по их диаметрам достигает 1,5-3 нм (в зависимости от способа получения сорбента), что вполне соизмеримо с размерами гидратированных ионов минеральных электролитов.

Основные закономерности фронтальной эксклюзионной хроматографии электролитов подробно изложены в [1, 2, 4]. В данной работе обсуждаются особенности разделения солей щелочных и щелочно-земельных металлов методом препаративной фронтальной эксклюзионной хроматографии на сверхсшитом полистирольном нанопористом сорбенте NanoNet-381 (NN-381), в настоящее время производимом в промышленном масштабе фирмой Purolite International Ltd. (Великобритания) специально для разделения концентрированных смесей электролитов.

Эксперимент

Материалы и реактивы. В работе использовали $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) с чистотой > 99 %; KCl и LiCl (АО «Мосреактив») квалификации «чда»; динатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (ACROS Organics), содержащую 99 % основного вещества, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (ХИММЕД), квалификации «чда» и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ХИММЕД) марки «ч».

Сверхсшитый полистирольный сорбент NN-381 был предоставлен фирмой-производителем “Purolite International Ltd” (Великобритания). В работе использовали фракцию сферических гранул диаметром 0,3-0,5 мм. Перед заполнением колонки сухой промышленный образец промывали ацетоном, который затем вытесняли из гранул промывкой избытком воды. Сильноосновный анионит PCA-433 был также производства фирмы Purolite.

Хроматографический эксперимент. Стеклообразную колонку объемом 26 мл заполняли водой и гранулами набухшего в воде сорбента. Затем через эту колонку потоком жидкости снизу вверх пропускали водный раствор смеси электролитов до тех пор, пока концентрация раствора на выходе из колонки не становилась равной

его концентрации на входе в колонку (прямой эксперимент). После уравнивания колонки с исходным раствором электролиты вытесняли потоком чистой воды (подвижной фазы) сверху вниз (обратный эксперимент). В обоих случаях элюат собирали фракциями по 1,2-1,5 мл, в которых определяли содержание электролитов титрованием аликвоты раствора. Во всех экспериментах скорость потока составляла 0,8-1,0 мл/мин.

Селективность разделения электролитов (Δ_1) рассчитывали из результатов прямого эксперимента как разность между объемами выхода середины фонов разделенных электролитов, отнесенную к объему колонки [2].

Анализ электролитов. Концентрацию ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} в каждой фракции элюата определяли титрованием аликвоты раствором ЭДТА, концентрацию ионов хлора – титрованием раствором азотной кислоты ртути(II), а концентрацию SO_4^{2-} – титрованием раствором нитрата свинца в водно-ацетоновой среде. Подробно методики анализа описаны в [4, 5]. При разделении смесей CaCl_2 - KCl концентрацию ионов калия рассчитывали по разнице концентраций ионов кальция и хлора, а в случае хроматографирования смеси MgCl_2 и K_2SO_4 – после пропускания аликвоты раствора через катионит Dowex 50 как разницу между концентрацией выделившейся кислоты и концентрацией ионов магния.

В эксперименте с разбавленным 0,01 N раствором смеси хлоридов щелочных и щелочно-земельных металлов определение концентрации катионов проводили с помощью электрофореза на установке “Капель” (Россия). Использовали кварцевую капиллярную колонку длиной 60 см и диаметром 75 мкм, заполненную водным раствором, содержащим 6 ммоль/л бензимидазола, 2,5 ммоль/л винной кислоты и 2,0 ммоль/л краун-эфира 18-краун-6. Приложенное напряжение составляло 200 кВ. Детектирование проводили при длине волны 254 нм [6].

Измерение набухания. Набухший в воде сорбент вместе с избытком воды переносили в специальную пробирку с пористым дном, межгранульную воду удаляли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 15 минут, и затем взвешенную навеску влажного полимера высушивали при 373 К до постоянного веса. Набухание рассчитывали как количество воды, поглощенное одним граммом сухого сорбента.

Обсуждение результатов

Разделение хлоридных солей щелочных и щелочно-земельных металлов

Согласно основному принципу фронтальной эксклюзионной хроматографии минеральных электролитов, селективность разделения в первую очередь должна определяться различиями в размерах самых больших гидратированных ионов, составляющих данную пару (смесь) электролитов, а именно, - в случае разделения хлоридных солей металлов первой и второй группы - размерами гидратированных катионов. Известно [7], что они уменьшаются в следующем порядке: $\text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Li}^+ > \text{K}^+$, (таблица 1). Именно в такой последовательности выходят эти катионы при хроматографировании 0,01 N водного раствора смеси солей MgCl_2 , CaCl_2 , LiCl и KCl на сверхсшитом нанопористом сорбенте NN-381 (рис.1). Интересно, что как в прямом, так и в обратном эксперименте селективность отделения катионов щелочноземельных металлов от катионов щелочных металлов достигает величины порядка 0,1, тогда как различие в объемах выхода Mg^{2+} и Ca^{2+} , а также Li^+ и K^+ минимально. Основываясь на данных таблицы 1, можно было бы ожидать более эффективного разделения и этих пар катионов, особенно, катионов лития и калия.

Важно, однако, что результаты эксперимента с разбавленным раствором солей позволяют надеяться на достаточно эффективное разделение концентрированных смесей CaCl_2 и KCl (для препаративных целей желательно, чтобы расстояние между фронтами разделенных компонентов составляло не менее трети объема колонки).

Таблица 1. Размеры некоторых анионов и катионов [7]

| Ион | Радиус гидратированного иона, Å | Кристаллический радиус иона, Å |
|--------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Mg^{2+} | 4,28 | 0,65 |
| Ca^{2+} | 4,12 | 0,94 |
| Li^+ | 3,82 | 0,68 |
| Na^+ | 3,58 | 0,98 |
| K^+ | 3,31 | 1,33 |
| NH_4^+ | 3,31 | 1,48 |
| Cl^- | 3,32 | 1,81 |
| SO_4^{2-} | 3,79 | 2,90 |

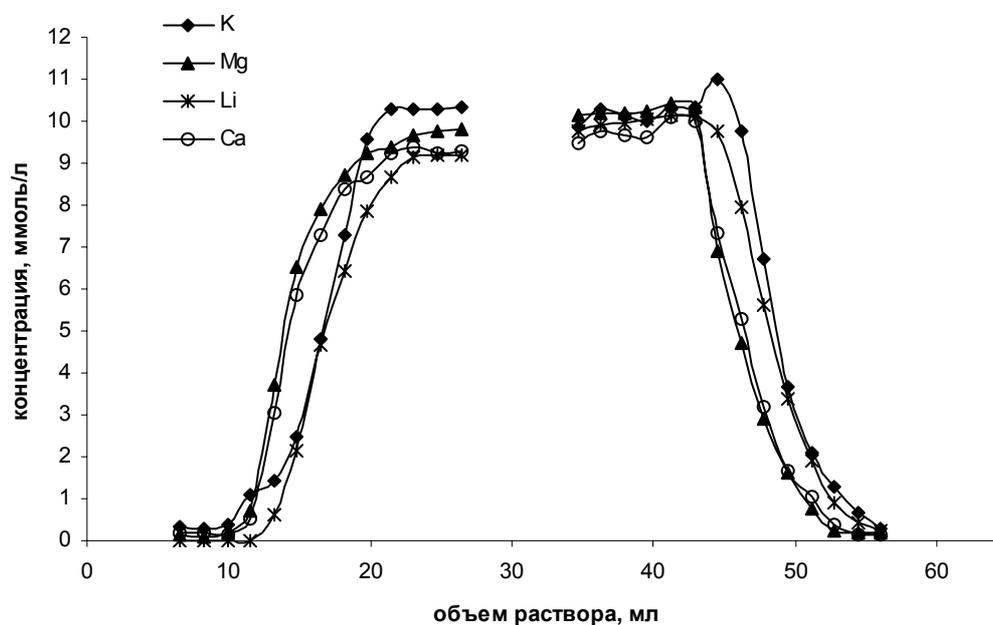


Рис.1. Хроматограмма смеси CaCl_2 , MgCl_2 , KCl и LiCl , полученная при пропускании водного 0,01N раствора солей через сорбент NN-381 и последующем вытеснении электролитов водой

Проведенные ранее исследования показали, что селективность разделения смесей электролитов возрастает с увеличением их концентрации в растворе [2]. Поэтому хроматографированию была подвергнута смесь 0,16 N CaCl_2 – 0,17 N KCl , в которой концентрация обеих солей была увеличена в 17 раз, однако селективность разделения осталась на прежнем уровне, $\Delta_1=0,12$ (таблица 2). Весьма неожиданным оказался тот факт, что с увеличением концентрации этих солей в 150 раз по сравнению с 0,01 N раствором объемы выхода обоих компонентов, определенные по середине фронтов, практически полностью совпали (таблица 2), а селективность разделения упала до нуля.

Чтобы все-таки повысить производительность процесса разделения CaCl_2 и KCl , мы решили воспользоваться тем дополнительным принципом, который

(помимо различия в размерах гидратированных ионов) повышает селективность разделения электролитов и, в частности, позволил успешно отделять следы хлорида аммония от 40% раствора сульфата аммония [8]. В этой паре электролитов самым крупным ионом является сульфат-анион (таблица 1). Он может располагаться только в крупных порах сорбента и в межгранульном пространстве, удерживая в непосредственной близости эквивалентное количество катионов аммония. Напротив, в малые поры могут проникнуть только хлорид-ионы и соответствующее им небольшое число ионов NH_4^+ . Поэтому между большими и малыми порами возникает сильный градиент концентрации общего иона аммония. Этот градиент вынуждает ионы NH_4^+ дополнительно мигрировать в малые поры с одновременным перемещением туда и хлорид-анионов. В результате NH_4Cl сосредотачивается в малых порах, а сам сульфат дополнительно вытесняется в межгранульное пространство. Этот процесс продолжается до тех пор, пока концентрация ионов NH_4^+ не станет одинаковой во всей системе (можно также говорить о выравнивании в системе осмотического давления или ионной силы растворов). В результате, проскок хлорида аммония наблюдается только после пропускания 1,2 колоночных объемов исходного раствора, при этом в обратном эксперименте концентрация вытесненного водой хлорида аммония в максимуме концентрационной волны увеличивается в 4,2 раза (рис. 2).

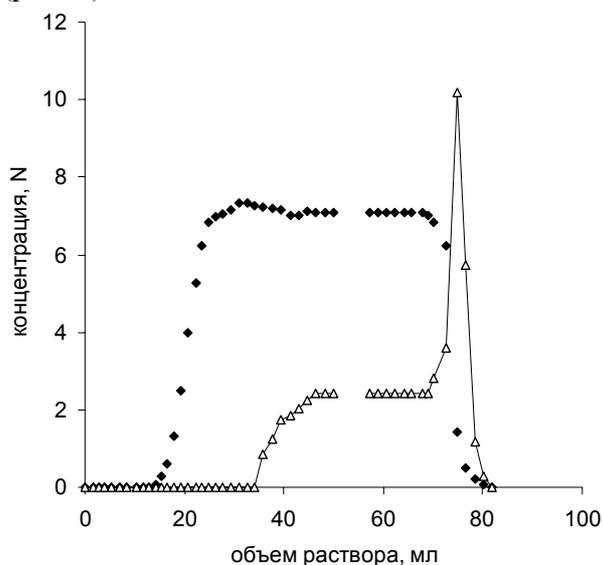


Рис. 2. Разделение (◆) 40% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и (Δ) 1% NH_4Cl . Для наглядности концентрация NH_4Cl на графике увеличена в 10 раз

Итак, стремление системы к выравниванию концентрации общего для пары электролитов иона может существенно увеличивать селективность процесса разделения. Однако в паре $\text{CaCl}_2\text{-KCl}$ градиент концентрации общего иона хлора, который должен бы возникать при разделении данной смеси, концентрированной по хлористому кальцию (6 г-экв/л) и разбавленной по хлористому калию (0,46 г-экв/л), судя по всему, не возникает, поскольку в данном случае обе соли выходят из колонки с одним и тем же объемом. Неудовлетворительно низкая селективность была достигнута и при делении таких смесей солей, как 1,5 N $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\text{-1,5 N KCl}$ ($\Delta_1=0,08$), 1,5 N $\text{MgCl}_2\text{-1,5 N KCl}$ ($\Delta_1=0$), 4 N $\text{CaCl}_2\text{-0,5 N NH}_4\text{Cl}$ ($\Delta_1=0,06$). Использование других сверхсшитых сорбентов MN-200 и лабораторного образца со степенью сшивания 100%, макропористого полистирольного сорбента Амберлит XAD-1600 с достаточно крупными порами или активированного угля D-4724,

полученного пиролизом сверхсшитого полистирола и имеющего преимущественно узкие поры, также не привели к желаемому результату. Всегда селективность деления солей в разбавленных растворах не превышала 0,1, а с увеличением их концентрации она уменьшалась практически до нуля. Более того, при хроматографировании смеси 5 N CaCl₂-0,5 N KCl на сильноосновном анионите PCA-433 (в хлор-форме) фронт хлористого калия двигался по колонке даже быстрее фронта хлорида кальция (рис.3), хотя на выходе из колонки ионы кальция все же появляются немного раньше ионов калия. Следовательно, не градиент концентрации солей, а совсем другие причины ответственны за хроматографическое поведение данной пары электролитов.

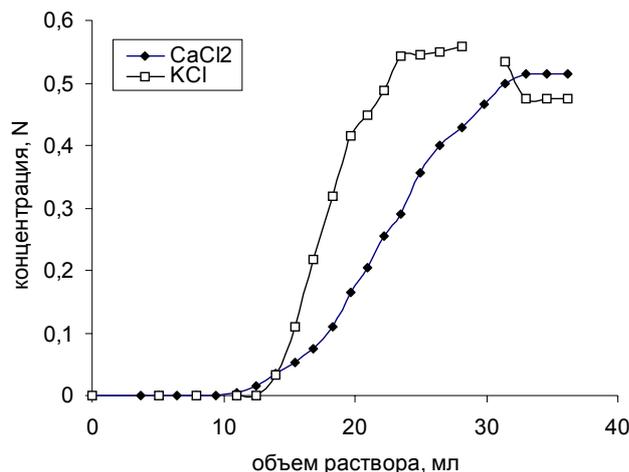


Рис. 3. Разделение смеси 5 N CaCl₂ и 0,5 N KCl на анионите PCA-433. Для наглядности концентрация хлористого кальция уменьшена в 10 раз

Для того, чтобы понять причину столь необычного поведения смеси CaCl₂ и KCl, мы рассчитали долю объема пор сорбента, доступную каждому из катионов (α) при разной концентрации солей в растворе:

$$\alpha = \frac{VtV_{0,5} - V_0}{V_1} \cdot 100\%$$

где $VtV_{0,5}$ обозначает объем выхода компонента, определенный по середине выходной кривой, V_0 - межгранульный объем, равный 40 % от объема колонки [9] и V_1 - заполненное водой поровое пространство в сорбенте, вычисленное как произведение веса сухого полимера в колонке (9,16 г) на его набухание в воде (1,23 мл/г). Рассчитанные таким образом величины α для ионов кальция и калия и селективность процесса разделения смесей разной концентрации приведены в таблице 2.

Ионный радиус самого катиона калия заметно больше ионных радиусов других катионов, использованных в данной работе (за исключением NH₄⁺), но в разбавленных водных растворах он гидратирован гораздо слабее других катионов, в частности, катиона кальция. Поэтому при хроматографировании достаточно разбавленной 0,17 N смеси CaCl₂ и KCl ионам калия оказываются доступными 64 % объема пор сорбента, а катионам кальция – только 35 % (таблица 2). С увеличением концентрации хлористого кальция доля доступных ему пор увеличивается, она достигает почти 90 %, когда концентрация этой соли возрастает до 5,5 г-экв/л в смеси с 1,2 N KCl. Здесь особо нужно подчеркнуть, что объем промышленного сорбента NN-381 в концентрированных смесях хлоридов кальция и калия остается неизменным (и даже в 40 % растворе сульфата аммония он уменьшается лишь на 1-

2% [10]). В таком случае увеличение доступности порового пространства сорбента для хлористого кальция можно объяснить только тем, что по мере увеличения его концентрации размеры гидратной оболочки ионов кальция заметно уменьшаются. Этот вывод хорошо согласуется с найденным ранее [11] увеличением коэффициента межфазного распределения хлористого кальция с ростом его концентрации в растворе. Напротив, размеры гидратной оболочки ионов калия минимальны и остаются практически неизменными в широком интервале концентраций обеих солей. И только в очень концентрированных растворах ионы калия начинают терять гидратную воду и приобретают способность диффундировать в меньшие поры.

Таблица 2. Объем пор сорбента, доступный ионам кальция и калия, в зависимости от исходной концентрации солей в растворе

| Соль | Концентрация соли, г-экв/л | Объем выхода компонента, мл | | | Доля доступного объема пор, α % | |
|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------|------------|--|-----|
| | | CaCl ₂ | KCl | Δ_1 | CaCl ₂ | KCl |
| CaCl ₂ KCl | 0,16 0,17 | 14,31 | 17,55 | 0,12 | 35 | 64 |
| CaCl ₂ KCl | 0,32 0,34 | 15,36 | 18,2 | 0,11 | 44 | 69 |
| CaCl ₂ KCl | 0,50 0,53 | 15,4 | 17,9 | 0,10 | 44 | 66 |
| CaCl ₂ KCl | 1,45 1,48 | 16,83 | 17,58 | 0,03 | 57 | 64 |
| CaCl ₂ KCl | 3,67 1,34 | 18,21 | 18,75 | 0,02 | 69 | 74 |
| CaCl ₂ KCl | 5,55 1,20 | 20,46 | 19,86 | 0,02 | 89 | 84 |

Из данных таблицы 2 видно, что в растворах с разной концентрацией размеры ионов кальция и калия уменьшаются по-разному. Поэтому вполне может сложиться ситуация, когда размеры гидратированных катионов калия и кальция становятся соизмеримыми или когда ионы калия оказываются даже больше ионов Ca²⁺. В таком случае мы либо не наблюдаем разделения солей, либо хлористый калий выходит из колонки впереди хлористого кальция. Можно предположить также, что даже в очень концентрированном растворе сульфат-анион остается гидратированным в большей мере, чем хлорид, что позволяет сульфату диффундировать только в самые крупные поры сверхсшитого сорбента. Именно с этим связано возникновение градиента концентраций общего иона аммония, концентрирование NH₄Cl в малых порах и, как следствие, эффективное хроматографическое разделение смеси 40% (NH₄)₂SO₄-1% NH₄Cl.

Образование новых солей в процессе эксклюзионной хроматографии электролитов

Раствор двух солей, MgCl₂ и K₂SO₄, был пропущен через набухший в воде сорбент NN-381. Полученная хроматограмма приведена на рис. 4. Как видно, два самых больших иона – Mg²⁺ и SO₄²⁻ – выходят из колонки одним фронтом задолго до появления фронта двух других малых ионов K⁺ и Cl⁻. Фактически, две новые соли, MgSO₄ и KCl, образовались соответственно в первой и последней фракциях хроматографируемой смеси. Это со всей очевидностью подтверждает тот факт, что разделение электролитов на сверхсшитом сорбенте происходит в полном согласии с

принципом эксклюзионной хроматографии.

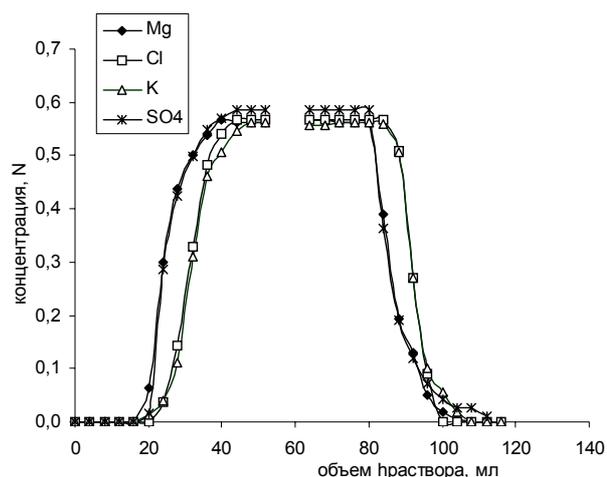


Рис. 4. Хроматограмма смеси хлористого магния и сульфата калия на сверхситом сорбенте NN-381

Заключение

Таким образом, проведенные исследования подтверждают, что разделение солей щелочных и щелочно-земельных металлов осуществляется в соответствии с размерами гидратированных катионов, подтверждая тем самым эксклюзионный механизм процесса. В то же время изменение времени выхода солей однозначно свидетельствует о существенной дегидратации катионов в высококонцентрированных растворах.

Список литературы

1. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Preparative frontal size exclusion chromatography of mineral ions on neutral hypercrosslinked polystyrene// J. Chromatogr. A. 2005. V.1087. № 1 P.3-12.
2. Tsyurupa M.P., Davankov V.A. Porous structure of hypercrosslinked polystyrene: State-of-the-art mini-review // React. Funct. Polymers. 2006. V.66. №7 P.768-779.
3. Даванков В.А., Рогожин С.В., Цюрупа М.П. Новый подход к синтезу макросетчатых изопористых полимеров стирола// Высокомолекул. Соедин., Б, 1973. Т.15Б. С.463-465
4. Davankov V.A., Tsyurupa M.P., Alexienko N.N. Selectivity in preparative separations of inorganic electrolytes by size exclusion chromatography on hypercrosslinked polystyrene and microporous carbons// J. Chromatogr. A. 2005. V.1100. №1 P.32-39.
5. Г. Шарло // Методы аналитической химии, Т.2 Москва «Химия», 1969.
6. Государственный комитет Российской Федерации по охране окружающей среды. Количественный химический анализ вод // Методика выполнения измерений массовых концентраций катионы калия, натрия, лития, магния, кальция, стронция, бария, аммония в пробах питьевых, природных, сточных вод методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «капель». Москва 2000.

7. Nightigale E.R. Phenomenological theory of ion solvation. Effective radii of hydrated ions// J. Phys. Chem. 1959 V.63 №5 P.1381-1387/

8. Tsyurupa M.P., Blinnikova Z.K., Pavlova L.A., Davankov V.A. Advances and Perspectives for ion size exclusion chromatography of mineral electrolytes// "Recent Advances in Ion Exchange/ Theory and Practice", Ed. M. Cox, SCI, Cambridge, 2008, P.77-83.

9. Риман В., Уолтон Г. // Ионообменная хроматография в аналитической химии, перевод с англ, М. Мир 1973 г, стр 177 .

10. Пастухов А.В., Даванков В.А., Цюрупа М.П., Блинникова З.К., Кавалерская Н.Е. Сжатие гранул нанопористых сверхсшитых полистирольных сорбентов как результат исключения крупных ионов минеральных электролитов из фазы полимера// Журнал физической химии. 2009. Т83. №3 С. 541- 549

11. Даванков В.А., Цюрупа М.П., Блинникова З.К., Разделение модельной смеси CaCl_2 – KCl на нейтральном нанопористом сверхсшитом полистироле в статических и динамических условиях// Журнал физической химии. 2008. Т.82, №3, С.519-524.

Блинникова Зинаида Константиновна – научный сотрудник лаборатории стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН, г.Щелково

Маерле Кирилл Владимирович – аспирант 2-го г.о.при лаб. стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН, Москва

Цюрупа Мария Петровна – д.х.н., ведущий научный сотрудник, лаборатории стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН, Москва, тел 8 (499) 135 79 25

Даванков Вадим Александрович – д.х.н., профессор, зав. лаб. стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН, Москва

Blinnikova Zinaida K. – research fellow, Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow, e-mail: blinnikovazk@mail.ru

Maerle Kirill V. – post-graduate (student), Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow

Tsyurupa Maria P. – Doctor of Science, leading research fellow Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow, e-mail: mts@ineos.ac.ru

Davankov Vadim A. – Dr., professor, head, Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow, e-mail: davank@ineos.ac.ru



УДК 543.544

Выделение некоторых кремнийорганических производных адамантана методом препаративной газовой хроматографии

Туркельтауб Г.Н., Федотов Н.С., Чернышев Е.А.

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
имени М.В. Ломоносова, Москва*

Поступила в редакцию 19.05.2009 г.

Аннотация

Исследованы условия выделения ряда кремнийорганических производных адамантана с температурами кипения до 400°C методом препаративной газовой хроматографии. Показаны пути преодоления методических трудностей, возникающих при выделении подобных веществ.

Ключевые слова: препаративная газовая хроматография, кремнийорганические соединения.

The preparative gas chromatography method has been used for isolation of organosilicon derivatives of adamantane boiling up to 400°C. The ways are shown for solution of problems which arise in the course of isolation of such high boiling substances.

Key words: preparative gas chromatography, organosilicon derivatives of adamantane

Введение

Все возрастающие требования к современным материалам инициировали разработки метода получения кремнийорганических мономеров с ароматическими, гетероциклическими и непредельными заместителями. Уникальные свойства кремнийорганических производных адамантана открывают широкие возможности для получения термостойких органосилоксановых жидкостей, каучуков и смол [1]. Однако эти соединения имеют высокую температуру кипения и легко гидролизуются. Кроме того, трудность разделения представленных смесей заключается в близких значениях упругостей пара выделяемых компонентов. Анализ этих смесей и препаративное выделение индивидуальных соединений требуют колонок с большим числом теоретических тарелок.

Целью данной работы является разработка условий выделения ряда кремнийорганических производных адамантана методом препаративной газовой хроматографии.

Эксперимент

Анализ исходной смеси и определение чистоты выделенного соединения проводили на колонке диаметром 4 мм, длиной от 1 до 12 м газового хроматографа ЛХМ-72. Выделение проводили на препаративном газовом хроматографе Фрактовап Р фирмы "Carlo Erba". Использовались колонки диаметром 26 мм, длиной от 1 до 8 м. Колонки были заполнены хроматоном N AW с 5 % SE-30.

Особое внимание уделяли коэффициенту улавливания выделяемых веществ. Нами было установлено, что оптимальная температура конденсации составляет около -20°C . В качестве охлаждающей смеси использовался ацетон с сухим льдом.

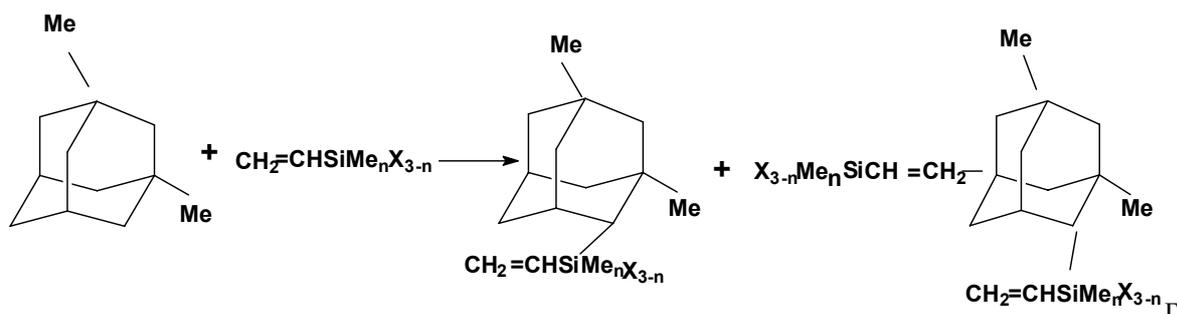
Высокая температура кипения некоторых из этих соединений приводит к образованию устойчивого аэрозоля [2], когда большая часть чистого вещества уносится из ловушки. Для разрушения аэрозоля было использовано электроосаждение. Стеклоянную ловушку обертывали медной фольгой. На ловушку подавали напряжение от высоковольтного индуктора ИВ 100. Величина объемной скорости газа-носителя была ограничена степенью улавливания собираемого соединения. Значение наибольшей объемной скорости устанавливалось отдельно для каждой смеси и менялось от 0,1 до 1 л/мин. Этот диапазон скоростей не позволил использовать колонки диаметром более 26 мм.

Колонки были заполнены готовым сорбентом. Для получения необходимой эффективности колонки мы выбирали отдельные порции купленного сорбента. Мы принимали, что необходимая эффективность метровой секции колонки диаметром 26 мм должна составлять от 700 до 900 теоретических тарелок. При этом эффективность определялась при 70°C для предельных углеводородов (н-октан, н-нонан, н-декан, н-эйкозан) при трех значениях скорости газа-носителя. Давление на входе в колонку длиной 1 метр при скорости газа-носителя 1 л/мин не должна превышать 0,4-0,5 бара. На основе значений эффективности каждой метровой секции составлялась рабочая колонка. Предварительно определялась эффективность каждой банки купленного готового сорбента. Для этого использовались метровые секции колонки диаметром 4 мм. Если эффективность была ниже 800 - 1000 т.т., то сорбент порциями по 15 – 20 г осторожно просеивали. В большинстве случаев эффективность повышалась. Если эффективность оставалась недостаточной, то в данной работе этот сорбент не использовался.

Выделенные вещества обладают чрезвычайно высокой реакционной способностью по отношению к влаге в воздухе и в газе-носителе. Нами использовалась осушительная колонна диаметром 100 мм и длиной 2 м, заполненная ангидроном. На ночь выходы хроматографа закрывали небольшими колонками с молекулярными ситами. Чистое вещество, полученное методом препаративной газовой хроматографии, помещалось в ампулу, которую сразу запаивали.

Обсуждение результатов

1,3 - Диметиладамантан вступает в реакцию кремнийалкилирования с винилхлор- и винилэтоксисиланами (1,3-диметиладамантан: винилхлорсилан : перекись трет-бутила:1:1:0,1) в присутствии перекиси трет-бутила $[(\text{CH}_3)_3\text{CO-}]_2$ [3].



де X = Cl; X = OEt

Хроматограмма продуктов реакции 1,3 - диметиладамантана с винилтрихлорсиланом представлена на рис.1. Из хроматограммы найдены значения фактора разделения α , которые приведены в таблице.

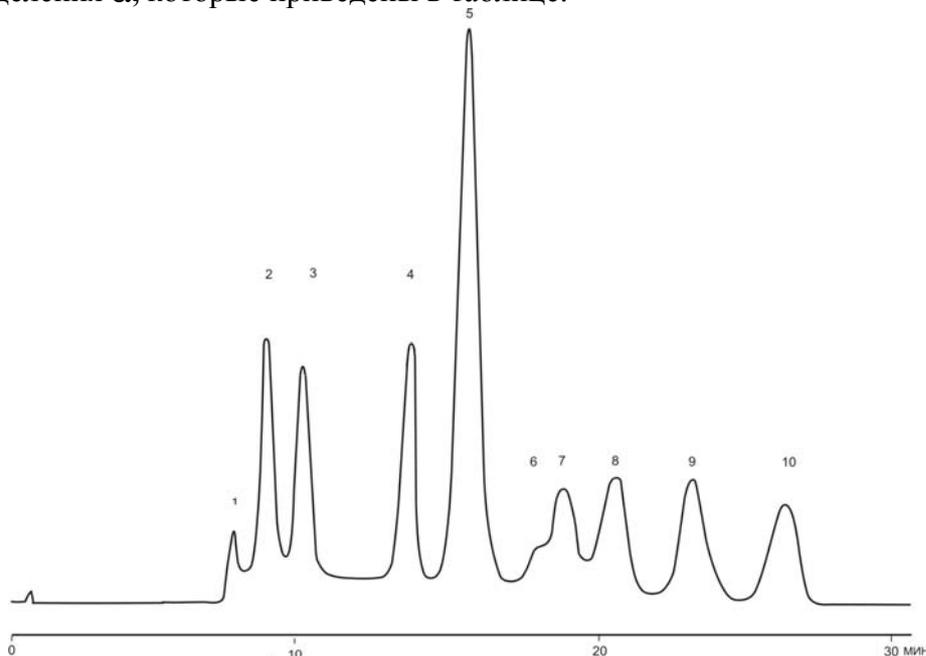


Рис.1. Аналитическая хроматограмма продуктов синтеза 1,3- диметил-5-[2-(трихлорсил)этил]адамантана (пик №5) на колонке длиной 8 м и диаметром 4мм. Сорбент: 5% SE-30 на хроматоне N AW. Температура колонки 215°. 1 – x₁; 2– x₂; 3 – x₃; 4 – x₄; 5 - 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH₂)₂SiCl₃; 6 – x₅; 7 – x₆; 8 – x₇; 9 - 1,3-(CH₃)₂-5,7-[(CH₂)₂SiCl₃]₂Ad; 10 – x₈. (x₁, x₂ и т.д. обозначают соединения, которые не были идентифицированы).

Примем, что выделение соединений с чистотой 99% достигается при разрешении пиков $R_s = 1$. Чтобы обеспечить такое разрешение пиков следует рассчитать необходимое число теоретических тарелок (n), используя найденное значение фактора разделения α . При этом примем фактор удерживания $k = 10$.

$$R_s = 0,25 \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k}{k + 1} \sqrt{n}$$

Эффективность колонки в препаративной газовой хроматографии резко падает с увеличением удельной нагрузки (величины пробы) [4,5], поэтому эффективность препаративной колонки должна быть не ниже аналитической.

Однако основным критерием препаративной хроматографии является производительность. Производительность (Π) зависит [6] от объема пробы (V),

начальной концентрации компонента в смеси (C_0), времени цикла (τ), то есть отрезка времени, через который проба повторно вводится в хроматограф, коэффициента отбора (K_0) и коэффициента улавливания (K_y).

Оценка качества подобранных условий для каждой смеси может быть проведена на основе значений этих величин, которые приведены в таблице.

Хроматограмма этой же смеси, полученная на препаративном хроматографе, показана на рис. 2. Из этой хроматограммы видно, что время элюирования последнего пика составляет 30 минут, что выделяемые соединения находятся в смеси в малых концентрациях, что даже при величине пробы 0,4 мл разделение ухудшается. Очевидно, что сокращение времени выделения не может быть осуществлено повышением температуры колонки, поэтому исходная смесь была разогнана на 10 фракций, что позволило увеличить концентрацию выделяемых компонентов в смеси (C_0) и уменьшить время цикла (τ).

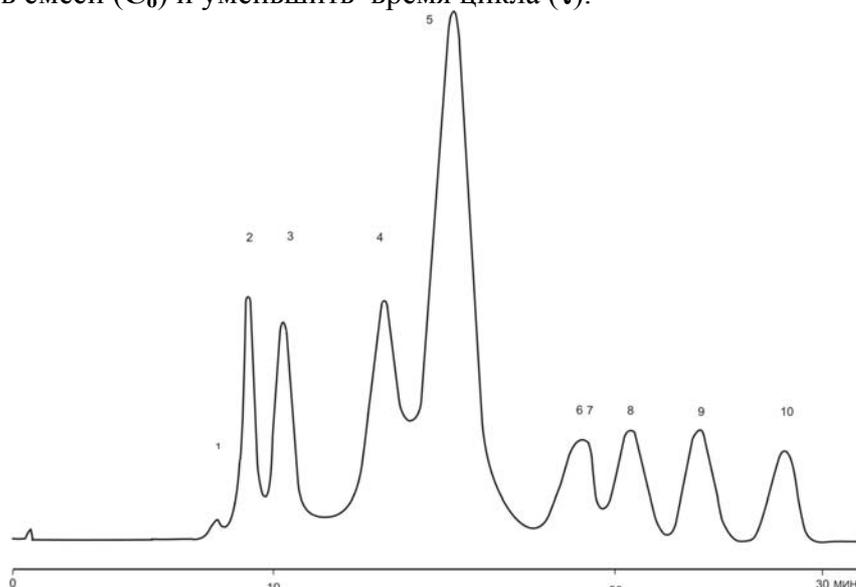


Рис.2. Хроматограмма продуктов синтеза

1,3- диметил-5-[2-(трихлорсиллил)этил]адамантана (пик №5) на препаративной колонке длиной 8 м и диаметром 26 мм. Сорбент: 5% SE-30 на хроматоне N AW. Температура колонки 245°.

Хроматограмма одной из фракций представлена на рис.3. Из хроматограммы на рис.3 видно, что полученная фракция состоит из четырех компонентов. Уменьшение числа пиков позволяет сократить время цикла до 12 минут. Тем не менее, как видно из таблицы, производительность по этим компонентам не очень высока. Повышение производительности путем увеличения величины пробы приводит к резкому ухудшению качества разделения.

При выделении продуктов реакции 1,3 - диметиладамантана с винилметилдихлорсиланом полученная смесь также была разогнана на ряд фракций.

Из данных, приведенных в таблице для соединений под номерами 3, 4 и 5, видно, что значения производительности, коэффициентов отбора и улавливания мало отличаются от подобных соединений (№1 и №2). Большая производительность, полученная для соединений №1 и №2, связана с более коротким временем цикла при выделении этих веществ.

Таблица. Выделение некоторых адамантилсодержащих соединений кремния методом препаративной газовой хроматографии.

| № соединения | Соединение | Объем пробы, V, мл | Производительность, П, мл/час | Коэфф. отбора, K_0 | Коэф. улавливания, K_y | Время цикла τ , мин | Конц. вещества в смеси, C_0 | Конц. полученного вещества I, % | Фактор разделения α |
|--------------|--|--------------------|-------------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 1 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH ₂) ₂ SiCl ₃ | 0,50 | 0,74 | 0,75 | 0,90 | 12 | 0,44 | 99,0 | 1,09 |
| 2 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5,7-[(CH ₂) ₂ SiCl ₃] ₂ Ad | 0,50 | 0,59 | 0,75 | 0,90 | 12 | 0,35 | 99,0 | 1,10 |
| 3 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH ₂) ₂ SiCl ₂ CH ₃ | 0,50 | 0,45 | 0,70 | 0,80 | 15 | 0,40 | 99,2 | 1,10 |
| 4 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH)CH ₃ SiCl ₂ CH ₃ | 0,50 | 0,35 | 0,70 | 0,80 | 15 | 0,31 | 99,0 | 1,10 |
| 5 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5,7-[(CH ₂) ₂ SiCl ₂ CH ₃] ₂ Ad | 0,50 | 0,41 | 0,75 | 0,80 | 15 | 0,34 | 99,0 | 1,09 |
| 6 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH)CH ₃ SiCl(CH ₃) ₂ | 0,50 | 0,37 | 0,70 | 0,80 | 16 | 0,35 | 99,0 | 1,17 |
| 7 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH ₂) ₂ SiCl(CH ₃) ₂ | 0,50 | 0,51 | 0,75 | 0,80 | 16 | 0,48 | 99,0 | 1,17 |
| 8 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5-Ad-(CH ₂) ₂ Si(OC ₂ H ₅) ₃ | 0,40 | 0,45 | 0,80 | 0,70 | 15 | 0,50 | 99,5 | 1,17 |
| 9 | 1,3-(CH ₃) ₂ -5,7-[(CH ₂) ₂ Si(OC ₂ H ₅) ₃] ₂ Ad | 0,40 | 0,18 | 0,70 | 0,70 | 15 | 0,23 | 99,0 | 1,10 |

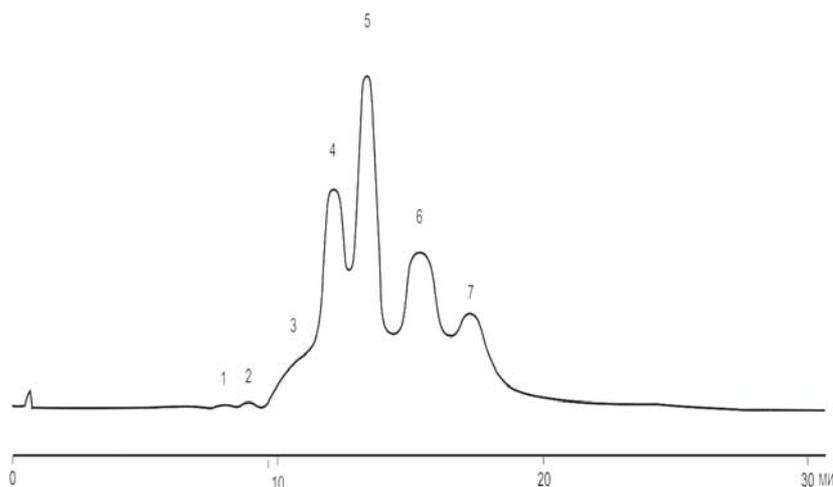


Рис.3. Хроматограмма фракции продуктов синтеза 1,3- диметил-5-[2-(трихлорсил)этил]адамантана на препаративной колонке длиной 8 м и диаметром 26 мм. Сорбент: 5% SE-30 на хроматоне N AW. Температура колонки 255°.

1 – x₁; 2 – x₂; 3 – x₃; 4 – x₄; 5 – 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH₂)₂SiCl₃; 6 – x₅; 7 — x₅.

При выделении продуктов реакции 1,3 - диметиладамантана с винилдиметилхлорсиланом полученная смесь снова была разогнана на ряд фракций.

При выделении (рис.4) соединений 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH₂)₂SiCl(CH₃)₂ и 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH)CH₃SiCl(CH₃)₂ мы попытались подобрать более селективную неподвижную фазу. Эта попытка окончилась неудачей. Нам удалось увеличить фактор разделения α с 1,12 до 1,24 при понижении температуры колонки с 250 до

220°. Однако это не позволило увеличить величину пробы из-за большего размывания, вызванного нелинейностью изотермы распределения.

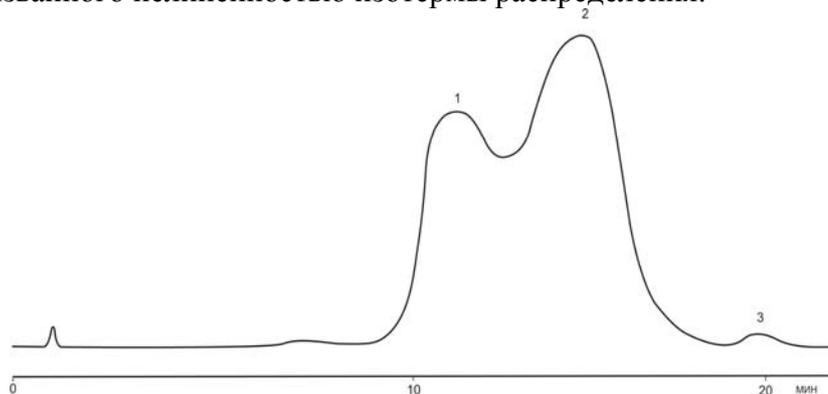


Рис.4. Хроматограмма продуктов синтез

1,3- диметил-5-[2-(трихлорсилил)этил]адамантана на препаративной колонке длиной 8 м и диаметром 26 мм. Сорбент: 5% SE-30 на хроматоне N AW. Температура колонки 220°. 1 – 1,3-(CH₃)₂-5-[(CH)CH₃SiCl(CH₃)₂]₂Ad; 2 – 1,3-(CH₃)₂-5-[(CH₂)₂SiCl(CH₃)₂]₂Ad; 3 – x₁.

На рис.5 представлена хроматограмма продуктов реакции 1,3 - диметиладамантана с винилтриэтоксисиланом на колонке длиной 12 м, диаметром 4мм, заполненной тем же сорбентом.

Полученная смесь была разогнана на ряд фракций. Выделение соединений 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH₂)₂Si(OC₂H₅)₃ и 1,3-(CH₃)₂-5,7-[(CH₂)₂Si(OC₂H₅)₃]₂Ad (пики №3 и №7 рис.5) проводилось из узких фракций на колонке длиной 12 м, диаметром 26 мм при температуре 285°.

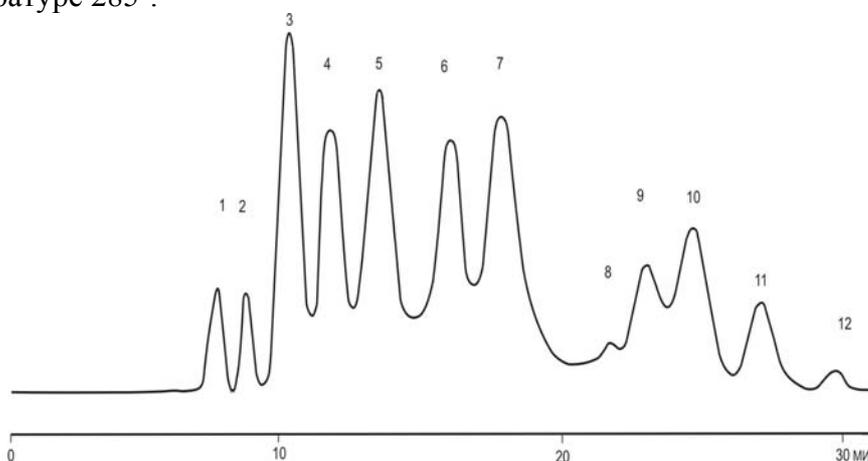


Рис.5. Аналитическая хроматограмма продуктов синтеза 1,3- диметил-5-[2-(триэтоксисилил)этил]адамантана (пик №6) на колонке длиной 12 м, диаметром 4 мм. Сорбент: 5% SE-30 на хроматоне N AW. Температура колонки 255°. 1 – x₁; 2 – x₂; 3 – 1,3-(CH₃)₂-5-Ad-(CH₂)₂Si(OC₂H₅)₃; 4 – x₃; 5 – x₄; 6 – x₅; 7 – 1,3-(CH₃)₂-5,7-[(CH₂)₂Si(OC₂H₅)₃]₂Ad; 8 – x₆; 9 – x₇; 10 – x₈; 11 – x₉

При выделении этих соединений наблюдается образование устойчивого аэрозоля. При этом коэффициент улавливания упал до 30-40%. Для разрушения аэрозоля было использовано электроосаждение, что позволило поднять значения коэффициента улавливания до 70%.

Чистота (концентрация) выделенных веществ составляла 99%. Более низкое значение (98%) соединения №3 в таблице обусловлено малой величиной исходной концентрации.

Из данных, представленных в таблице, легко проследить связь между производительностью выделения, фактором разделения α , исходной концентрацией и коэффициентом улавливания.

Методом газовой хроматографии подобраны условия анализа и препаративного выделения ряда высококипящих адамантилсодержащих мономеров кремния.

Список литературы

1. Соболевский М.В., Скороходов И.И., Гриневиц К.П.. Олигоорганосилоксаны. Свойства, получение, применение. М.: Химия, 1985, с. 1-264.
2. Туркельтауб Г.Н., Бочкарев В.Н., Бубенчикова З.И. Особенности конденсации высококипящих соединений в условиях препаративной газовой хроматографии. // Ж. физ. химии, 1989, т.68, №5, с.1418-1419.
3. Федотов Н.С., Гришина Е.В., Шелудяков В.Д., Кузнецова М.Г., Туркельтауб Г.Н., Никольский А.А., Слюсаренко Т.Ф. Кремнийалкилирование 1,3-ди-метиладамантиана винилхлор- и винилэтоксисиланами в присутствии перекиси трет-бутила. // Ж. общ. Химии. 1986. Т. 56, №7. С. 1544-1547.
4. Glueckauf E. Theory of Chromatography. Part 13. Behavior of wide bands in a chromatographic column. // Trans. Faraday Soc. 1964. V. 60. P. 729-737.
5. Conder J.R., Purnell J.H. Separation and throughput in production and preparative chromatography. // Chemical Engineering Science. 1970. V.25. P.353-364.
6. Сакодынский К.И., Волков С.А. Препаративная газовая хроматография. М.: Химия, 1972, с.1-208.

Туркельтауб Георгий Николаевич – д.х.н., доцент, Московская Государственная Академия Тонкой Химической Технологии им. М.В.Ломоносова, Москва, тел./факс: 936-88-94

Чернышев Евгений Андреевич – д.х.н., чл.-корр. РАН, проф., Московская Государственная Академия Тонкой Химической Технологии им. М.В. Ломоносова, Москва, тел./факс: 4-499 - 255-76-36

Федотов Николай Семенович – д.х.н.

Turkeltaub Georgii N. – Doctor in Chemistry, docent, M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology (MITChT), Moscow, e-mail: turkeltaub_gn@mail.ru

Chernyshev Evgenii A. – professor, corresponding member RAS, Doctor in Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology (MITChT), e-mail: Va5galina@gmail.ru

Fedotov Nikolay S. – Doctor in Chemistry



УДК 543.544:577.122

Динамические характеристики сорбции иминокислот и фенилаланина из бинарных растворов н-сульфокатионообменником КУ-2х8

Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Воробьева Е.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Давыдова Е.Г.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

Исследована динамика индивидуальной сорбции пролина и гидроксипролина и в присутствии ароматической аминокислоты - фенилаланина на Н-сульфокатионообменнике КУ-2х8. Установлено взаимовлияние аминокислот на динамические характеристики сорбции, проявляющееся в изменении вида выходной кривой и снижении рабочей обменной емкости. Показано, что в процессе сорбции аминокислот из бинарных растворов имеет место как конкурентный, так синергетический механизм сорбции.

Ключевые слова: динамика, сорбция, аминокислота, аминокислота

The Dynamics of individual Sorption of Proline and Hydroxyproline and in the presence of aromatic amino acid - Phenylalanine on KU-2x8 Sulfocation Exchanger in the H-Form is investigated. Interference of amino acids on dynamic characteristics of sorption showing in change of a kind of a target curve and decrease of working exchange capacity is established. It is shown that as competitive so synergetic mechanisms of sorption take place in process of sorption of amino acids from binary solutions.

Key words: the dynamic, the Sorption, the amino acid, the amino acid

Введение

При рассмотрении закономерностей сорбции биологически активных соединений на полимерных ионообменниках необходимо учитывать взаимовлияние компонентов, присутствующих в исходном растворе [1]. В работах [1,2] показано, что при многокомпонентной сорбции органических соединений наблюдается как конкурентный, так и синергический механизмы сорбции. Для практических целей наибольший интерес представляет рассмотрение динамики сорбции аминокислот из растворов, содержащих не только индивидуальные компоненты, но и представляющих их смесь. В данной работе приведены результаты изучения динамики индивидуальной сорбции иминокислот и фенилаланина и их смесей и на Н-сульфокатионообменнике КУ-2х8. Выбор ароматической аминокислоты

обусловлен известными литературными данными о высокой селективности катионообменника к фенилаланину [3].

Эксперимент

Изучение динамики сорбции пролина, гидроксипролина и фенилаланина на Н-сульфокатионообменником КУ-2х8 проводили на колонке диаметром 0,75 см с неподвижным слоем сорбента (раствор пропусклся сверху вниз), при скорости пропускания $1,5 \text{ см}^3/\text{мин}$ [4]. Объем слоя ионообменника составлял $5,0 \text{ см}^3$, диаметр зерен $0,50 - 0,63 \text{ мм}$. Обменная емкость катионообменника, определенная по ионам натрия, равна $4,95 \text{ ммоль/г}$. Сорбцию цвиттерлитов проводили при температуре 295 К и pH исследуемых водных растворов пролина (Pro) - $6,40$, гидроксипролина (Нурго) - $5,90$ и фенилаланина (Phe) - $5,70$, что отвечает области их существования в водном растворе преимущественно в виде биполярных ионов. Объем пропущенного раствора - 500 см^3 .

Через колонку пропускали растворы пролина и оксипролина с концентрацией соответственно $10,0 \text{ ммоль/дм}^3$ и $3,0 \text{ ммоль/дм}^3$ и растворы аминокислот с той же концентрацией с добавлением фенилаланина до концентрации его в исходном растворе $1,0 \text{ ммоль/дм}^3$. Процесс продолжали до тех пор, пока концентрация цвиттерлитов в фильтрате не оставалась постоянной. Спектрофотометрическое определение пролина, гидроксипролина и фенилаланина в растворе проводили на спектрофотометре СФ - 56 при аналитической длине волны $\lambda_{\text{Pro}} = 191 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{Нурго}} = 193 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{Phe}} = 257 \text{ нм}$ ($S_{\text{Phe}} = 4 \times 10^{-5}$; $S_{\text{Pro}} = 3 \times 10^{-6}$ и $S_{\text{Нурго}} = 1,2 \times 10^{-5}$) [5,6].

Ввиду невозможности спектрофотометрического определения исследуемых аминокислот в смеси с фенилаланином (интенсивность поглощения смеси при $191 - 193 \text{ нм}$ не является аддитивной суммой интенсивностей максимумов аминокислот, составляющих смесь), определение содержания пролина (гидроксипролина) осуществляли фотометрически в виде комплексов с медью при 670 нм на КФК-2 [7]. Выходные кривые строили, используя средние концентрации аминокислот, рассчитанные из трех параллельных измерений.

Обсуждение результатов

Полученные выходные кривые сорбции индивидуальных пролина и гидроксипролина представлены на рис.1. Сорбционный фронт ионов аминокислот представляет собой традиционную форму «волны». Наблюдаемый вид выходных кривых при 295 К для обеих аминокислот характеризуется резким ростом c/c_0 на начальном участке и замедлением по мере заполнения ионообменника аминокислотой.

Обострение фронта сорбции на начальном участке кривой может быть связано с механизмом взаимодействия аминокислоты с катионообменником, реализующимся как за счет электростатических сил, так и образования водородных связей, дисперсионных и гидрофобных взаимодействий [1,8]. Размывание конечного участка сорбционного фронта, вероятно, обусловлено замедлением диффузии аминокислоты внутри зерна ионообменника в результате образования ассоциатов и уменьшения объема гранул сорбента при увеличении количества сорбата в ионообменнике [3,9].

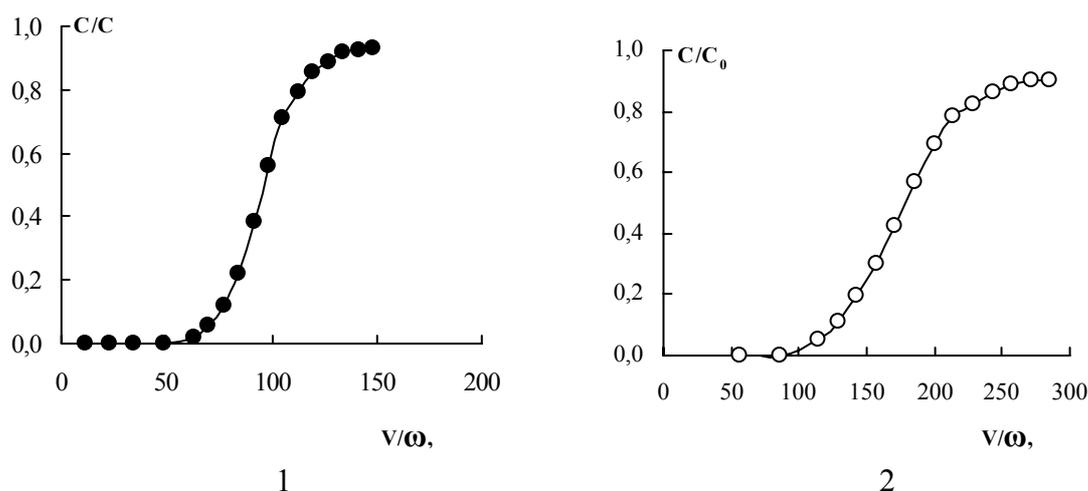


Рис. 1. Выходные кривые сорбции аминокислот при $T = 295$ К: пролина (1) и гидроксипролина (2) из растворов с $C_{\text{Pro}} = 10,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, pH=6,4; $C_{\text{Нурго}} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, pH=5,9

Все нестационарные кинетические процессы при приближении к равновесию постепенно замедляются, предельная величина замечаемой скорости определяется чувствительностью эксперимента и его возможной длительностью [2,10,11]. Поэтому приближение концентрации аминокислот на выходе из колонки к концентрации раствора, поступающего в колонку, не означает полного насыщения ионообменника аминокислотой. Установлено, что динамическая обменная емкость «до проскока» для пролина и гидроксипролина составляет соответственно - 1,70 и 1,12 ммоль/г, полная обменная емкость – 3,37 и 2,14 ммоль/г. При этом степень использования ионообменника для Pro = 62,80 %, Нурго - 60,10 %.

Величина коэффициента диффузии (\bar{D}) составляет $1,18 \cdot 10^{-7}$ и $9,89 \cdot 10^{-8}$ см²/с для пролина и гидроксипролина соответственно [12]. Большая гидрофильность гидроксипролина [13] способствует увеличению количества молекул воды в координационной сфере, а также, большей вероятности образования ассоциатов аминокислоты, что обуславливает меньшую подвижность по сравнению с пролином.

Получены выходные кривые сорбции пролина и оксипролина из раствора, содержащего фенилаланин (рис.3). Установлено, что эффективность процесса поглощения ионообменником индивидуальной ароматической аминокислоты составляет 71,20%. По данным, представленным в работе [3], коэффициент диффузии фенилаланина равен $\bar{D}_{\text{Phe}}^{295} = 4,78 \cdot 10^{-8}$ см²/с.

Присутствие в растворе пролина и оксипролина существенно изменяет ход процесса сорбции фенилаланина, что проявляется в некотором обострении фронта сорбции в начальный период процесса и размывании среднего и конечного участков. При $c/c_0=0,7$ (сорбция из смеси с пролином) и при $c/c_0=0,5$ (сорбция из смеси с гидроксипролином) на выходной кривой наблюдается плато, указывающее на видимое завершение процесса. Однако при дальнейшей сорбции происходит увеличение концентрационного отношения ($c/c_0 \rightarrow 1$).

Необычная форма выходной кривой фенилаланина может быть обусловлена изменением кинетических характеристик в процессе сорбции, в результате образования в катионообменнике ассоциатов ароматической аминокислоты [3]. Наблюдается уменьшение емкости по Phe до “проскока” в 3,0 и 2,5 раза при сорбции из смеси с пролином и гидроксипролином соответственно.

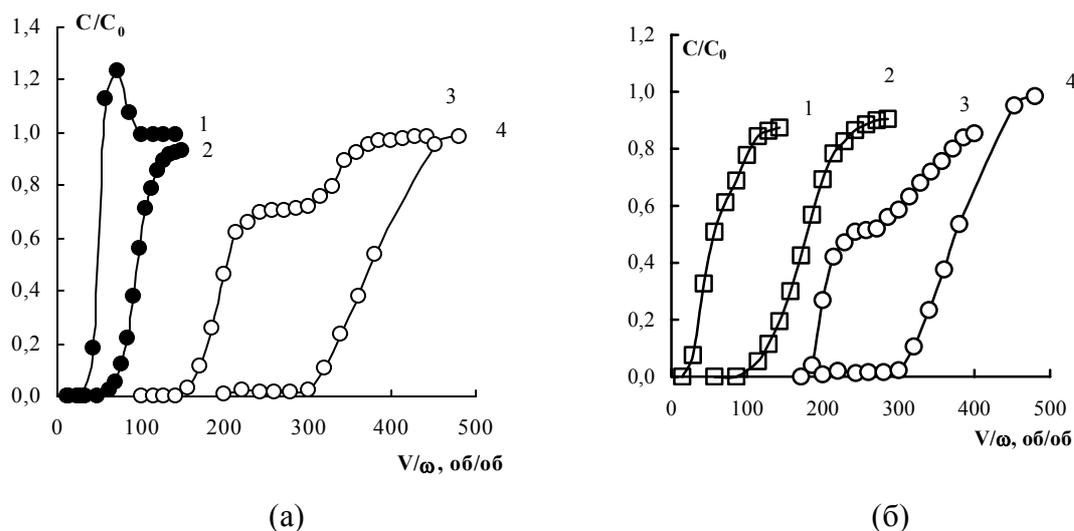


Рис. 3. Выходные кривые сорбции пролина и фенилаланина (а) гидроксипролина и фенилаланина (б) на сульфокатионообменнике КУ-2х8: 1 – пролина и оксипролина из бинарного раствора аминокислота + Phe^\pm ; 2 – пролина и оксипролина из раствора индивидуальной аминокислоты с $C_{\text{Pro}}=10,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³, $C_{\text{Нурго}}=3,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³; 3 – фенилаланина из бинарного раствора аминокислота + Phe^\pm ; 4 – фенилаланина из раствора индивидуальной аминокислоты с $C_{\text{Phe}}=1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³

Наличие в растворе ароматической аминокислоты проявляется (рис.3) в обострении фронта сорбции аминокислот на начальном и конечном участках выходных кривых, снижении динамической обменной емкости до проскока соответственно для Pro и Нурго в 1,7 и 3,0 раза. Следует отметить некоторое размывание конечного участка кривой для гидроксипролина, обусловленное, вероятно, более низкими коэффициентами диффузии по сравнению с пролином. Согласно экспериментальным данным, “проскок” фенилаланина наблюдается раньше, когда концентрация аминокислот в фильтрате практически не изменяется и приближается к концентрации исходного раствора. Таким образом, проведение процесса сорбции в данных условиях позволил получить раствор аминокислоты, не содержащий ароматическую аминокислоту.

Полученные закономерности сорбции цвиттерлитов из бинарных растворов могут быть обусловлены большим сродством сульфокатионообменника к ароматической аминокислоте [3]. По мере прохождения раствора через слой сорбента фенилаланин постепенно вытесняет аминокислоту в раствор. Можно предположить, что в начале процесса многокомпонентной сорбции реализуется конкурентный механизм сорбции, что позволяет выделить аминокислоту из смеси [14,15].

Появление в фильтрате пролина в концентрации, превышающей его содержание в исходном растворе в 1,2 раза, является результатом дополнительной сорбция аминокислоты за счет образования в ионообменнике ассоциатов Phe-Pro (рис.4). По мере прохождения раствора по колонке с сорбентом фенилаланин вытесняет пролин из ионообменника, так как селективность последнего к ароматической аминокислоте значительно выше [3]. Наблюдается концентрирование Pro в катионообменнике за счет образования ассоциатов, и затем, проскок его в фильтрат с концентрацией, превышающей исходную. Возможность взаимодействий аминокислот друг с другом, как в растворе, так и в ионообменнике вызывает

синергизм сорбции цвиттерлитов из бинарных растворов и проявляется в увеличении суммарной сорбционной емкости катионообменника в 1,3 раза, по сравнению с сорбцией индивидуальных компонентов (рис.5) [16].

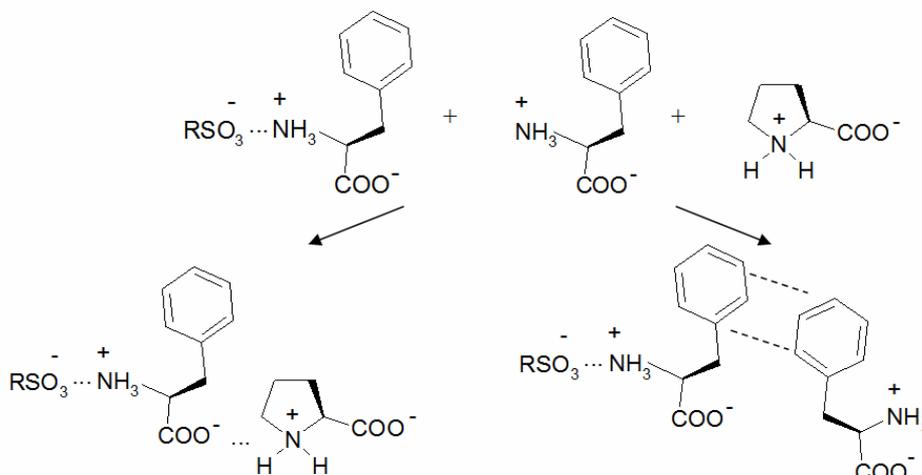


Рис.4. Схема синергетического механизма сорбции на примере системы катионообменник – Pro[±] – Phe[±]

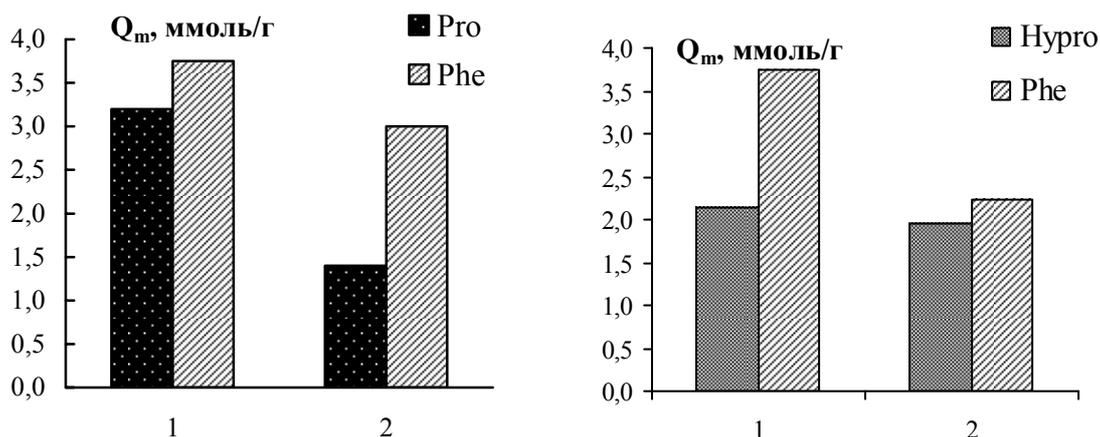


Рис. 5. Количество поглощенной аминокислоты при сорбции из индивидуальных растворов (1) и бинарных смесей (2)

Список литературы

1. Самсонов Г.В., Меленевский А.Т. Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии. – Л.: Наука, 1986. – 225 с.
2. Демин А.А., Могилевская А.Д., Самсонов Г.В. Изменения избирательности в процессе многокомпонентной сорбции белков // Журн. прикл. химии. – 1996. – Т.69. – Вып. 1. – С.31.
3. Котова Д.Л. Структурно-обусловленные межчастичные взаимодействия при сорбции аминокислот на сшитом катионообменнике : автореф. дисс. ... д-ра хим. наук / Д.Л. Котова. – Воронеж, 2004. – 40 с.
4. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. – М.: Химия, 1976. – 208 с.

5. Бернштейн Н.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в физической химии. - Л.: Химия, 1986. - 186 с.
6. Давыдова Е.Г., Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Селеменев В.Ф. // Журн. анал. химии. – 2005. –Т.60, №8. – С.802.
7. Определение аминокислот в виде комплексов с медью / Е.Р. Рошаль [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 1980. – Т. 2, № 1. – С. 110-114.
8. Котова Д.Л., Рожнова О.И., Селеменев В.Ф., Бейлина Д.С. // Журн. физ. химии. - 2001. Т.75. №7. С.1292.
9. Гельферих Ф. Иониты. Основы ионного обмена. – М.: Изд-во Иностран. лит., 1962. - 490 с.
10. Самсонов Г.В. Термодинамические, кинетические и динамические особенности ионного обмена с участием ионов органических веществ / Ионный обмен. – М., 1981. - С. 126-137.
11. Самуэльсон О. Ионообменные разделения в аналитической химии. – М. : Химия, 1966. – 416 с.
12. Котова Д.Л., Давыдова Е.Г., Крысанова Т.А. Влияние температуры на динамические характеристики сорбции пролина и гидроксипролина Н-сульфокатионообменником КУ-2х8 // Сорбционные и хроматографические процессы. Т.9. Вып.2. 2009. С.241-246.
13. Головина Е.А., Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Давыдова Е.Г., Селеменев В.Ф. // Журн. физ. химии. – 2005. – Т.79, №2. – С.258.
14. Katti A.M., Huang J.X., G. Guiochon Prediction of the elution bands of proteins in preparative liquid chromatography // Biotechnol. Bioeng. – 1990. – V. 36. – P. 288-292.
15. Demin A.A., Melenevsky A.T., Papukova K.P. The effect of the concentration of ionogenic groups in the sorbent on the separation of protein mixtures // J. Chromatogr. – 2003. – V. 1006. – P.185-193.
16. Демин А.А. Влияние синергетических эффектов на процессы разделения белков в ионообменной хроматографии // Журн. приклад. химии. – 2001. – Т.74. – Вып. 4. – С.625-629.

Котова Диана Липатьевна – проф. кафедры аналитической химии, д.х.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)208-932

Давыдова Екатерина Геннадьевна – ассистент кафедры неорганической химии, к.х.н., Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж,

Крысанова Татьяна Анатольевна – доцент кафедры аналитической химии, к.х.н., Воронежский государственный университет, г. Воронеж,

Воробьева Елена Алексеевна – магистрант кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, г. Воронеж,

Kotova Diana L. – the professor of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh, e-mail: kris_SL_TN@mail.ru

Davydova Ekaterina G. – the assistant of department of inorganic chemistry, The Voronezh State Technological Academy, Voronezh,

Krysanova Tatyana A. – the lecturer of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh,

Vorob'eva Elena A. - the student of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh,



УДК 542.816:543.453:544.725.2

Колебательная неустойчивость концентрационного поля в сопряженных секциях концентрирования и обессоливания при интенсивных режимах электродиализа

Козадерова О.А., Шапошник В.А., Шапошник Д.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

Методом лазерной интерферометрии исследованы процессы, протекающие в секциях концентрирования и обессоливания при электродиализе с ионообменными мембранами в области плотностей тока, превышающих предельные диффузионные. Показано, что причиной колебательной неустойчивости концентрационного поля является неравномерное распределение тепловых источников.

Ключевые слова: колебательная неустойчивость, электродиализ, предельный ток, межфазная граница, лазерная интерферометрия.

The processes proceeding in the interfaced concentrating and desalination sections at an electro dialysis with ion-exchange membranes under the current densities exceeding limiting diffusion ones are investigated with the laser interferometric method. It is shown that the reason of the oscillatory instability of a concentration field is non-uniform distribution of heat sources.

Key words: oscillatory instability, electro dialysis, limiting current, interphase border membrane/solution, laser interferometry.

Введение

В настоящее время возникновение сверхпредельного массопереноса при электродиализе связывают с появлением вблизи межфазной границы мембрана-раствор ряда эффектов: диссоциации воды, экзальтации предельного тока, гравитационной конвекции и электроконвекции. Этот вопрос является дискуссионным и активно обсуждается в электрохимической литературе [1-4]. В настоящей работе для визуализации процессов, протекающих в секциях электродиализного аппарата, применялся метод лазерной интерферометрии [5]. Задачей данной работы являлось исследование концентрационного поля в растворах секций концентрирования и обессоливания при электродиализе в широком интервале плотностей тока.

Методика эксперимента

Эксперимент проводили в семисекционной электродиализной ячейке с платиновыми катодом и анодом. Корпус ячейки был изготовлен из плексигласа, центральные секции – имели вставки из оптического стекла. В качестве катионообменных мембран использовали МК-41, анионообменных – МА-41. Межмембранное расстояние в исследуемых секциях обессоливания и концентрирования составляло 0,1 см, во всех остальных секциях – 1,0 см. Высота рабочей части мембран – 4,0 см; толщина секции по направлению пропускания лазерного луча (l) равнялась 1,76 см. В секции концентрирования и обессоливания снизу вверх со скоростью 0,13 см/с подавался 0,01 моль/л раствор хлорида натрия. Электродиализ проводили в гальваностатическом режиме, используя источник питания постоянного тока Б5-50. Заданный постоянный ток фиксировался комбинированным цифровым универсальным прибором Щ43-13. Разность потенциалов на клеммах электродиализатора измерялась вольтметром В7-26.

Для визуализации процессов, протекающих при электродиализе вблизи поверхности мембран мы применяли интерферометр типа Маха-Цендера [6], в качестве источника света – гелий-неоновый лазер с длиной волны $\lambda = 632,8$ нм.

Интерференцией в оптике называют явления, которые наблюдаются при соединении двух или нескольких световых пучков, исходящих из одного источника света и прошедших пути разной длины [6]. При совместном действии этих пучков, в зависимости от разности длин путей, пройденных различными пучками, получается либо их взаимное усиление, либо ослабление.

Схема интерферометра представлена на рис.1. Луч от гелий-неонового лазера (1) делится полупроницаемым зеркалом (2) на два луча. Первый – измерительный – проходит через оптическую кювету (3) с изучаемым объектом, отражается от зеркала (4) и сходится на полупрозрачном зеркале (6) с отраженным на зеркале (5) лучом сравнения. На экране (7) мы видим интерференционную картину, которую регистрируем цифровым фотоаппаратом (8) в режиме фотокадров или видеофрагментов.

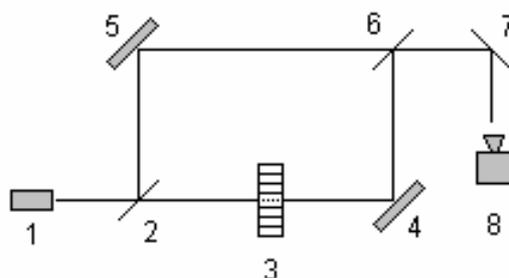


Рис. 1. Схема интерферометра Маха-Цендера для одночастотной лазерной интерферометрии

Без наложения электрического тока интерференционная картина представляет собой чередование темных и светлых прямых полос, перпендикулярных поверхности мембран. При прохождении электрического тока происходит смещение и искривление интерференционных полос у поверхности мембраны, поскольку изменяется коэффициент преломления. Каждая интерференционная полоса представляет собой реальный концентрационный профиль в определенном масштабе.

Изменение концентрации вещества ΔC , связанное с изменением показателя преломления Δn , выражается через относительное смещение интерференционных полос S [7]:

$$S = \frac{\Delta n \cdot l}{\lambda} = \gamma \cdot \Delta C \cdot l \quad (1)$$

$$S = \frac{\Delta y}{b} \quad (2)$$

Для хлорида натрия при длине волны монохроматического источника света 632,8 нм парциальная чувствительность отклика имеет значение

$$\gamma = \frac{\partial S}{\partial C} = 312 \pm 11 \quad (3)$$

Методика расшифровки интерферограмм состоит в следующем [7]. В произвольной точке $P(x,y)$ (рис.2) относительное смещение интерференционной полосы $S(x,y)$ определяется величиной ее отклонения от первоначального положения Δy и расстоянием между центрами интерференционных полос, определенным за пределами диффузионного пограничного слоя. Координаты точек находят, предварительно проведя фотографирование эталона длины (например, оптическую щель известной ширины). Локальные концентрации находят по формуле

$$c(x,y) = C^0 - \frac{S(x,y)}{\gamma} \quad (4)$$

где C^0 – концентрация за пределами диффузионного пограничного слоя.

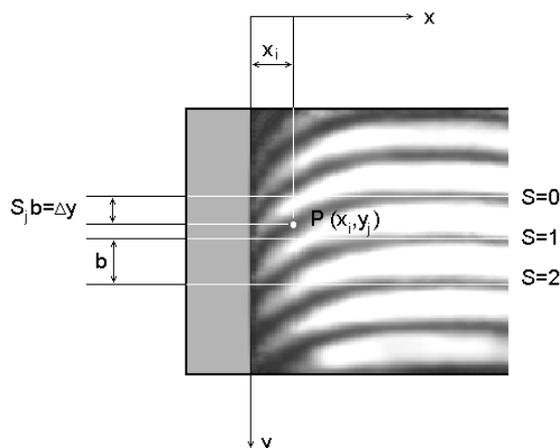


Рис. 2. Схема расшифровки интерферограммы

Результаты и обсуждение

На рис.3 показаны интерферограммы, позволяющие проследить изменения, происходящие в секциях концентрирования и обессоливания электродиализатора по мере роста плотности тока при электродиализе хлорида натрия. Без наложения электрического поля (рис. 3.а) интерференционная картина, как в секции обессоливания, так и в секции концентрирования представляет собой прямые эквидистантные полосы, перпендикулярные поверхности мембран, что характеризует равномерное распределение концентраций в секциях до начала электродиализа. По мере роста плотности тока наблюдается постепенное смещение интерференционных полос в диффузионном пограничном слое.

Интерферограммы, полученные для секций обессоливания и концентрирования при значениях токов, не превышающих предельные диффузионные показаны на (рис. 3.б). В этом случае можно сказать, что концентрационный профиль раствора секции концентрирования получается вращением вокруг оси симметрии второго порядка концентрационного профиля раствора секции обессоливания. Большую величину градиентов концентраций на границе раствора с катионообменной мембраной в сравнении с анионообменной можно объяснить различием чисел переноса ионов натрия и хлорида в растворе ($t_+ = 0.4$, $t_- = 0.6$), а также влиянием температуры на положение интерференционной полосы.

$$\text{grad } C_i = \frac{(\bar{t}_i - t_i) i}{z_i D_i F}, \quad (5)$$

здесь D_i – коэффициент диффузии, F – число Фарадея, z_i – зарядовое число иона, \bar{t}_i и t_i – число переноса иона в мембране и растворе, i – плотность тока.

Подробно процессы, протекающие в секции обессоливания на разных стадиях поляризации электромембранной системы, исследованные с помощью метода лазерной интерферометрии, изложены в работах [8,9].

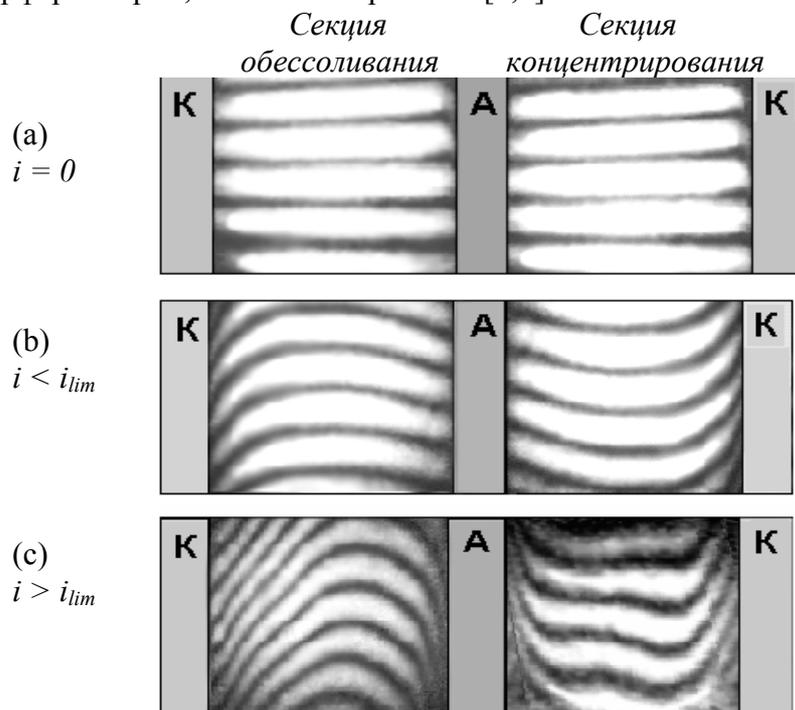


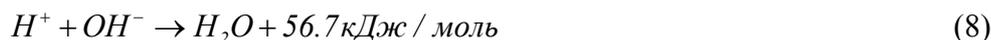
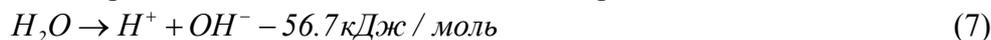
Рис. 3. Концентрационные профили растворов секций обессоливания и концентрирования на разных стадиях поляризации системы, К- катионообменная мембрана, А- анионообменная мембрана

Интерферограмма, представленная на (рис.3.с), получена при восьмикратном превышении предельного тока, и показывает значительные качественные различия между секциями обессоливания и концентрирования. В секции обессоливания колебания локализованы вблизи катионообменной мембраны, а в секции концентрирования эпицентр колебаний расположен в середине канала. Основной причиной такого различия является неравномерность распределения внутренних источников тепла в секциях обессоливания и концентрирования.

В секции обессоливания (рис.4.а) у межфазных границ особенно интенсивно выделяется джоулево тепло:

$$Q = i^2 \rho \quad (6)$$

где ρ - удельное электросопротивление раствора, на границе раствора и мембраны протекает эндотермическая реакция диссоциации молекул воды (7), в объеме секции – экзотермическая реакции рекомбинации ионов среды (8), образовавшихся на границах разных мембран. Зона этой реакции смещена к катионообменной мембране по причине большей подвижности водородных ионов.



Таким образом, в секции имеются положительные и отрицательные источники тепла в ограниченной области пространства, которые приводят к неравномерному разогреву раствора с максимальным градиентом температур вблизи катионообменной мембраны.

В растворе секции концентрирования колебания локализованы в середине канала, что вызвано выделением теплоты при реакции рекомбинации водородных и гидроксильных ионов (8), которая протекает в объеме секции (рис.4.б).

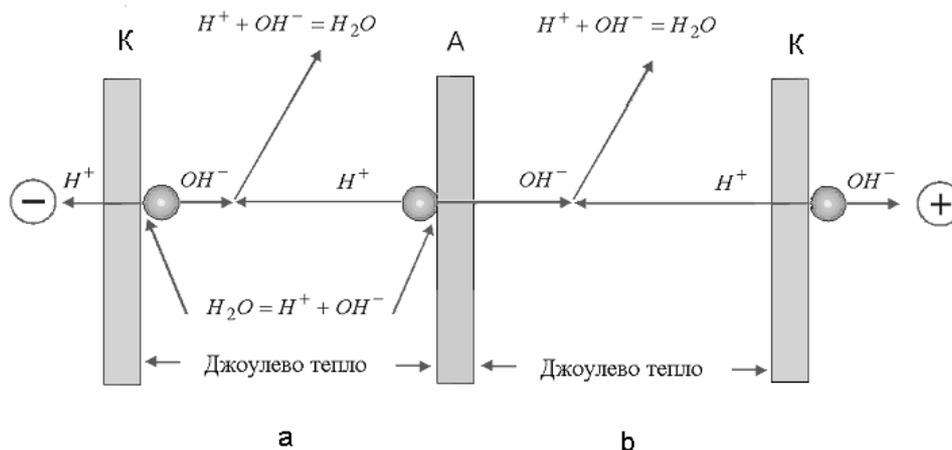


Рис. 4. Источники тепла в секциях обессоливания (а) и концентрирования (б) при электродиализе

Изменение температуры раствора на выходе из секций концентрирования и обессоливания при электродиализе как функция безразмерной плотности тока (i^*), которая получена нормированием плотности тока на предельную диффузионную величину ($i^* = i/i_{lim}$) показано на (рис.5). Сравнение изменения температуры растворов на выходе из секции обессоливания и концентрирования при одинаковых условиях проведения эксперимента показывает, что при $i^* > 2$ в растворах секции концентрирования температура становится выше, чем в растворах секции обессоливания. Аналогичная зависимость была получена в [10]. Причина этого в том, что в растворе секции концентрирования не только не протекают эндотермические реакции диссоциации воды, но и выделяется теплота рекомбинации. Экзотермический эффект реакции рекомбинации ионов среды в секции обессоливания проявляется не столь значительно как эндотермический эффект разложения молекул воды в этой секции, поскольку диссоциация воды протекает вблизи двух плоскостей пространства (вблизи поверхностей катионо- и анионообменных мембран), а рекомбинация ионов водорода и гидроксила – в одной

(вблизи катионообменной мембраны). Поэтому можно сказать, что теплота разложения воды в этой секции вдвое превышает теплоту нейтрализации.

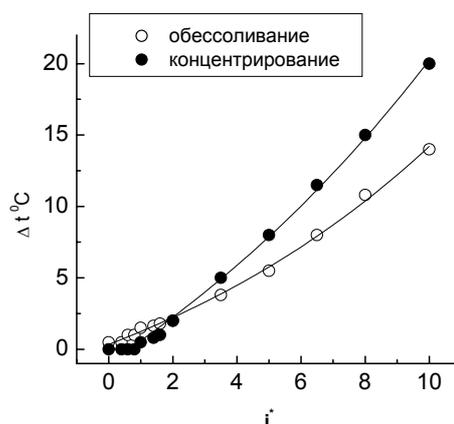


Рис.5. Изменение температуры раствора на выходе из секций концентрирования и обессоливания

На рис.6. показана концентрация раствора хлорида натрия на границе с МК-41 для секций обессоливания и концентрирования как функция безразмерной плотности тока. В секции обессоливания на межфазной границе происходит уменьшение концентрации по сравнению с начальной, а на противоположной стороне мембраны – в секции концентрирования – увеличение. При обессоливании нулевые значения концентрации на межфазной границе не достигаются, наблюдается некоторое минимальное значение локальной концентрации вещества на границе мембрана-раствор. Одной из причин этого является поток обратной диффузии из раствора секции концентрирования в секцию обессоливания через ионообменную мембрану. При превышении предельной плотности тока более чем в три раза в секции обессоливания вблизи катионообменной мембраны возникают колебания концентрационного профиля. В секции концентрирования колебательная неустойчивость концентрационного профиля возникает при значительно больших токах $i > 7i_{lim}$, что связано с отсутствием в этой секции тепловых источников вблизи межфазных границ, в отличие от секции обессоливания.

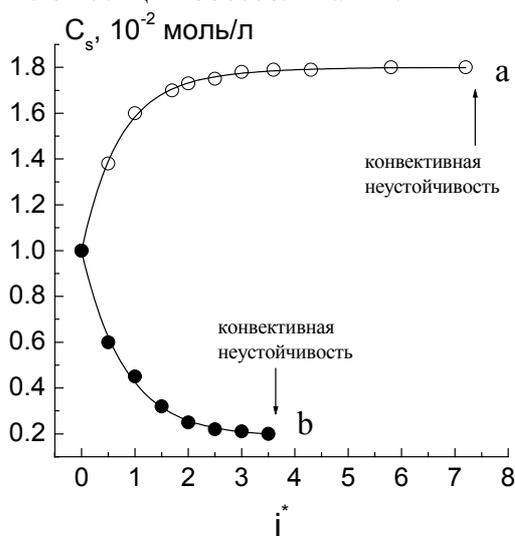


Рис. 6. Изменение поверхностной концентрации NaCl для мембраны МК-41 в секции концентрирования (a) и обессоливания (b) с ростом плотности тока

Величины сдвига интерференционной полосы во времени, которые были получены с помощью специальной компьютерной программы для оцифровки интерферограмм, разработанной Р.Б. Угрюмовым и А.В. Шапошником, представлены на рис.7.

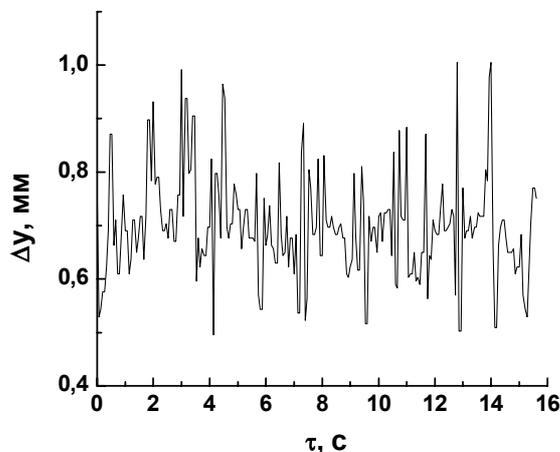


Рис. 7. Зависимость величины сдвига интерференционной полосы от времени при электродиализе на границе катионообменной мембраны МК-41 и раствора ($i^*=25$)

По величинам временных зависимостей колебаний интерференционной полосы, полученных при различных плотностях тока, построен график зависимости средней частоты колебаний от безразмерной плотности тока (рис.8). Из рисунка следует, что частоты колебаний интерференционной полосы в растворе секции обессоливания значительно выше частот колебаний в растворе секций концентрирования, что может быть связано с большей неравномерностью распределения тепловых источников в растворе секции деионизации. Наличие неравномерно распределенных источников тепла в растворе приводит к формированию нелинейной среды, термоконвективной неустойчивости электромембранной системы, создающих аperiodические автоколебания концентрационного поля.

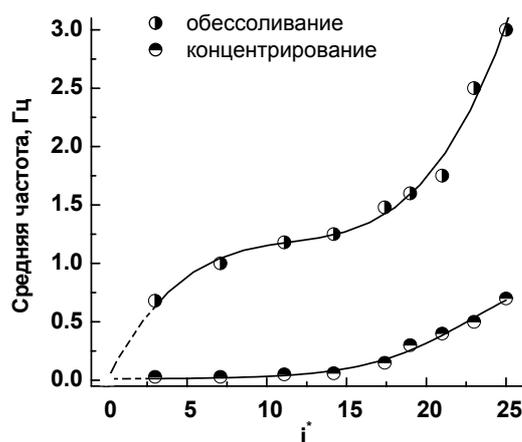


Рис.8. Зависимость средней частоты автоколебаний от безразмерной плотности тока при электродиализе раствора с катионообменными мембранами МК-41 и анионообменными мембранами МА-41

Рис.8. показывает, что частоты колебаний интерференционной полосы в растворе секции концентрирования экспоненциально возрастают с увеличением плотности тока. Более сложный характер имеет зависимость частоты колебаний концентрационного поля в растворе секции обессоливания от плотности тока, которая сначала имеет вид кривой насыщения $v = 1 - \exp(-ki)$, а затем превращается в положительную экспоненту, при этом плато можно интерпретировать как появление признаков самоорганизации. Развитие автоколебаний приводит к возникновению в электромембранной системе диссипативного хаоса, который может положительно влиять на предотвращение осадкообразования в секциях электродиализатора.

Заключение

Методом лазерной интерферометрии исследованы концентрационные поля в секциях концентрирования и обессоливания электродиализного аппарата в широком диапазоне плотностей тока, найдены принципиальные различия концентрационного поля в секциях обессоливания и концентрирования при плотностях тока, превышающих предельные диффузионные. Различия связаны с наличием или отсутствием, а также местом протекания экзо- и эндотермических реакций в секциях. Показано, что неравномерное распределение источников тепла формирует нелинейную среду и конвективную неустойчивость. Исследован автоколебательный режим в растворах секций электродиализатора с чередующимися катионообменными мембранами МК-41 и анионообменными мембранами МА-41. Установлено, что средняя частота автоколебаний экспоненциально растет с увеличением плотности тока в области интенсивных режимов электродиализа.

Список литературы

1. Заболоцкий В.И., Никоненко В.В. Перенос ионов в мембранах. М.: Наука, 1996. 392 с.
2. Рубинштейн И., Зальцман Б., Прец И. и др. Экспериментальная проверка электроосмотического механизма формирования "запредельного" тока в системе с катионообменной электродиализной мембраной // Электрохимия. 2002. Т. 38, № 8. С. 956-967.
3. Аксенова О.Ф., Любавина О.О., Михайленко В.Г. Механизм переноса ионов через ионообменные мембраны // Вопросы химии и хим. технологии. 2003. № 2. С. 180-182.
4. Письменская Н.Д., Никоненко В.В., Белова Е.И. и др. Сопряженная конвекция раствора у поверхности ионообменных мембран при интенсивных токовых режимах // Электрохимия. 2007. Т. 43, № 3. С. 325-345.
5. Васильева В.И., Шапошник В.А., Григорчук О.В. и др. Лазерная интерферометрия в исследовании кинетики электродиализа // Электрохимия. 2002. Т. 38. № 8. С. 949-955.
6. Захарьевский А.Н. Интерферометры. М.: Госиздат. оборонной промышленности, 1952. 296 с.

7. Васильева В.И., Григорчук О.В., Шапошник В.А. Математическое и экспериментальное моделирование электродиализа. Воронеж: изд-во ВГУ, 2002. 25 с.

8. Шапошник В.А. Васильева В.И., Угрюмов Р.Б. и др. Термоконвективная неустойчивость при электродиализе // Электрохимия. 2006. Т. 42, № 5. С. 595-601.

9. Васильева В.И., Шапошник В.А., Заболоцкий В.И. и др. Диффузионные пограничные слои на границе ионообменная мембрана-раствор при высокоинтенсивных режимах электродиализа // Сорбционные и хроматографические процессы. 2005. Т. 5, № 4. С. 545-560.

10. Шапошник В.А. Решетникова А.К., Ключников В.В. Внутренние источники теплоты при электродиализе // Электрохимия. 1985. Т. 21, № 12. С. 1683-1685.

Козадерова Ольга Анатольевна - аспирант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 20-89-32

Шапошник Владимир Алексеевич - д.х.н., профессор кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 20-89-32

Шапошник Дмитрий Алексеевич - аспирант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 20-89-32

Kozaderova Olga A. – Research student, department of analytical chemistry, faculty of chemistry, Voronezh State University; e-mail: ok@chem.vsu.ru

Shaposhnik Vladimir A.- Doctor of chemical sciences, professor of department of analytical chemistry, faculty of chemistry, Voronezh State University, e-mail: sh@sh.vrn.ru

Shaposhnik Dmitriy A. - Research student, department of analytical chemistry, faculty of chemistry, Voronezh State University; e-mail: sh@sh.vrn.ru



УДК 544.723.2: 547.556.9

Новые сорбенты с иммобилизованными гетарилформазановыми группировками

Маслакова Т.И., Первова И.Г., Скорых Т.В., Мелкозеров С.А.,
Главатских С. П., Липунов И.Н.

Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург

Поступила в редакцию 8.04.2009 г.

Аннотация

Методами БЭТ, ИК-, электронной спектроскопии диффузного отражения, масс-спектрометрии и сканирующей электронной микроскопии изучены состав и строение новых минеральных сорбентов на основе силикагеля ДИАСОРБ-100-ТА, полученных путем модифицирования его поверхности бензазолформазанами.

Ключевые слова: формазан, твердофазная матрица, модифицированные сорбенты, ИК-спектроскопия, электронная спектроскопия диффузного отражения, масс-спектрометрия и сканирующая электронная микроскопия.

The composition and structure of new mineral sorbents on the basis of silica gel DEASORB-100-TA modified by means of benzazolylformazanes are studied by BET method, IR spectroscopy, electronic spectroscopy of deffusion reflection, mass-spectrometry and scanning electronic microscopy.

Kew-words: formazane, hard-phase supporter, modified sorbents, IR spectroscopy, electronic spectroscopy of deffusion reflection, mass-spectrometry, scanning electronic microscopy

Введение

Разработка простых, доступных экспрессных методов определения ионов тяжелых токсичных металлов в различных объектах окружающей среды, по-прежнему, остается актуальной задачей, для решения которой успешно применяются интенсивно развивающиеся в последнее время сорбционно-спектроскопические методы. В качестве твердофазного носителя чаще всего используют иониты, хелатообразующие смолы, силикагели, целлюлозы, кремнеземы, пенополиуретаны и органополимерные сорбенты [1-9]. Улучшение структурных характеристик носителей путем закрепления комплексообразующих реагентов на поверхности носителей позволяет повысить чувствительность и селективность извлечения определяемых металлов.

Ранее [10] была выявлена возможность извлечения ионов тяжелых металлов с использованием комплексообразующих сорбентов, полученных модификацией анионита АН-18-10п с первичными аминогруппами сульфосодержащими бензазолформазанами. В продолжение работы над созданием новых сорбентов в

качестве полимерного носителя нами был использован силикагель ДИАСОРБ-100-ТА с триметиламмониевыми группировками (ТМАГ).

Поскольку в результате фиксации органический лиганд, благодаря геометрическим особенностям его закрепления на поверхности твердофазной матрицы, может изменять свои структурные характеристики, целью данной работы является исследование состава и строения новых минеральных сорбентов с иммобилизованными гетарилформазановыми группировками, представляющими интерес в качестве материалов с прогнозируемыми комплексообразующими свойствами.

Эксперимент

Приборы и материалы. В качестве твердофазной матрицы использовали силикагель ДИАСОРБ-100-ТА с триметиламмониевыми группировками (содержание ТМАГ составляет 0.32 Ммоль/г, дисперсность силикагеля 63-200 мкм).

Для модификации силикагеля были выбраны ранее синтезированные по методике [10] сульфобензилзамещенные бензазолилформазаны **I-VI** (табл. 1) общей формулы:

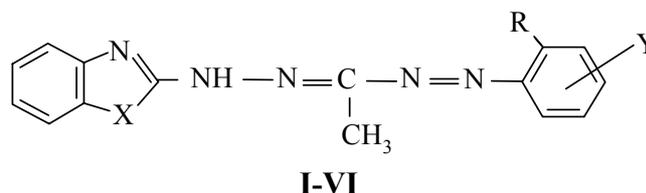


Таблица 1. Состав соединений I-VI

| № соед. | Название соединения | X | Y | R |
|---------|--|---|---------------------|----|
| I | 1-(4-сульфофенил)-3-метил-5-(бензоксазол-2-ил)формазан | O | 4-SO ₃ H | H |
| II | 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(бензоксазол-2-ил)формазан | O | 5-SO ₃ H | OH |
| III | 1-(4-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазан | NCH ₂ -C ₆ H ₅ | 4-SO ₃ H | H |
| IV | 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазан | NCH ₂ C ₆ H ₅ | 5-SO ₃ H | OH |
| V | 1-(4-сульфофенил)-3-метил-5-(бензтиазол-2-ил)формазан | S | 4-SO ₃ H | H |
| VI | 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(бензтиазол-2-ил)формазан | S | 5-SO ₃ H | OH |

Методика иммобилизации гетарилформазановых группировок на твердофазный носитель минеральной природы. Силикагель, предварительно выдержанный в течение 24 ч в 0,1 М растворе NaOH, отмывали водой до нейтральной реакции промывных вод. 0,1 г силикагеля в OH-форме подвергали взаимодействию с 100-150 мл 50%-ного водно-этанольного раствора с содержанием (0,2-1,5) · 10⁻⁴ моль/дм³ формаза. Реакционную смесь перемешивали при T 30-40⁰ в течение 3 часов. В результате взаимодействия силикагеля с формазаном

наблюдается изменение окраски частиц силикагеля от исходной белой до красно-желтой, красной или красно-фиолетовой. Модифицированные силикагели **I-6** отфильтровывали, промывали этанолом и водой, сушили на воздухе. Остаточную концентрацию формазана в растворе определяли спектрофотометрическим методом по предварительно построенному графику зависимости оптической плотности от концентрации органического реагента. Количество закрепленных формазановых группировок (**a**) на поверхности ДИАСОРБ-100-ТА оценивали по формуле:

$$a = V(C_0 - C)/m,$$

где C_0 и C – концентрация формазана в растворе до и после контакта с силикагелем, моль/дм³; V – объем раствора, дм³; m – масса сорбента, г.

Кислотность промывных вод и водно-этанольных растворов формазанов контролировали на иономере АНИОН-4100 со стеклянным электродом.

Электронные спектры поглощения образцов измеряли на спектрофотометре UV-5260 фирмы «Beckman». Электронные спектры диффузного отражения (ЭСДО) в видимой области спектра регистрировали на спектрофотометре Spereord M-40 с приставкой диффузного отражения в виде фотометрического шара.

ИК-спектры пропускания образцов регистрировали на спектрофотометре IR-75 в вазелиновом масле с окнами KBr и ИК-Фурье спектрометре IFS-113v фирмы «Bruker». Образцы **I-6** растирались в агатовой ступке. Для получения информативных ИК-спектров окрашенную фракцию отбирали и растирали с 1-2 каплями вазелинового масла, помещали между окнами KBr и регистрировали ИК-спектры пропускания в области 4000-700 см⁻¹. Для идентификации и сравнения полос были сняты ИК-спектры формазанов **I-VI** в тех же условиях.

Спектры диффузного отражения образцов в ИК-области регистрировались на спектрофотометре IR Prestige фирмы Shimadzu (Япония). Программное обеспечение данного прибора позволяет нормировать измеряемые спектры с выдачей графического изображения, пересчитывая аналитический сигнал в величины функции Кубелки-Мунка.

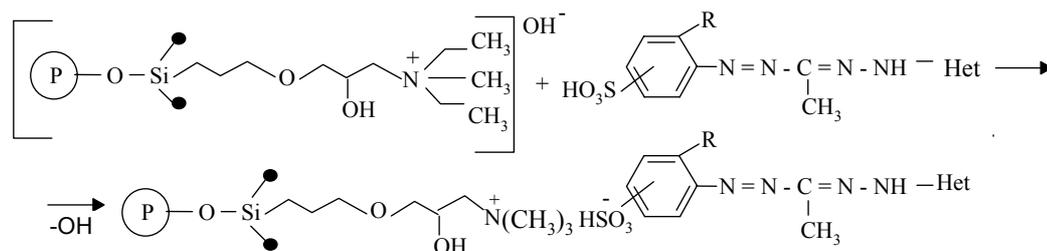
Масс-спектры образцов регистрировали на спектрометре фирмы Varian. Интерпретация спектров проводилась на основании закономерностей фрагментации формазанов при электронном ударе.

Полную удельную поверхность модифицированных сорбентов измеряли с помощью многоточечного метода БЭТ на приборе SoftSorbi-II ver. 1.0 фирмы «Сорби» (г. Новосибирск, Россия).

Исследование поверхности полученных сорбентов проводили методом сканирующей (растровой) электронной микроскопии (СЕМ). Образцы исследовались без предварительной подготовки в режиме низкого вакуума на микроскопе (JSM-6390/LV, Япония) во вторичных и обратно-рассеянных электронах. Обработку изображений проводили программой ФемтоСкан.

Обсуждение результатов

Наличие в силикагеле триметиламмониевых группировок, а в формазане сульфогрупп позволило проводить закрепление новых функциональных группировок на поверхности твердофазной матрицы по ионному механизму:



Количество иммобилизованных формазановых группировок на минеральный твердофазный носитель находятся в пределах 0,003-0,034 Ммоль/г и зависит как от исходной концентрации формазана в растворе (рис. 1), так и от природы заместителей в молекуле формазана (табл. 2). Сорбенты **1**, **5**, модифицированные 4-сульфофенилзамещенными бензтиазолил-(**V**) и безоксазолилформазанами (**I**), имеют близкие значения **a** (табл. 2). Однако сорбент **3** на основе 4-сульфофенилпроизводного бензилбензимидазолилформазана **III**, содержащий в своей структуре высокоосновный гетероцикл, имеет минимальное значение **a**, равное 0,003 Ммоль/г (табл. 2). Введение гидроксигруппы (R=OH) в фенильный фрагмент формазанов оказало влияние на увеличение количества закрепленных группировок лишь для сорбентов **4,6**, полученных на основе бензтиазолил- и бензилбензимидазолилпроизводных (табл. 2). Значение **a** увеличивается в ряду сорбентов, модифицированных бензилбензимидазолил- < бензоксазолил- ≤ бензтиазолилформазанами (табл. 2). Так как количество закрепленных формазановых группировок значительно меньше, чем количество триметиламмониевых групп ДИАСОРБ-100-ТА, следовательно, иммобилизация органического реагента на силикагель происходит только на поверхности твердофазного носителя.

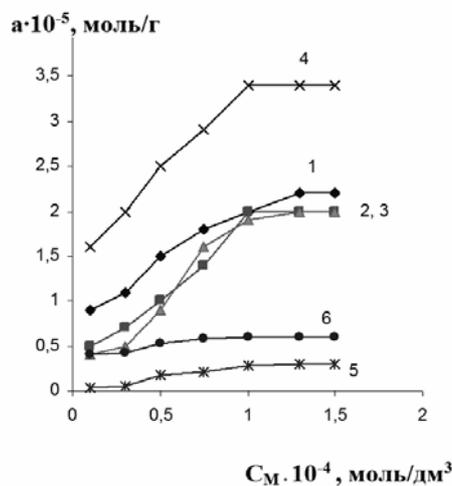


Рис. 1. Зависимость количества иммобилизованных формазановых группировок на поверхности ДИАСОРБ-100-ТА от исходной концентрации в растворе формазанов I (**1**), II (**2**), V (**3**), VI (**4**), III (**5**), IV (**6**) при pH 5.0±0.5

Методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в режиме вторичных электронов проведено исследование состояния поверхности исходного силикагеля и сорбента **4**, модифицированного 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазаном (рис. 2-3). Наблюдение и изучение морфологии частиц на изображении СЭМ показали, что частицы ДИАСОРБ-100-ТА

с триметиламмониевыми группировками представлены в виде гранул неправильной формы, имеющих однородную поверхность (рис. 2). Сравнение электронных микрофотографий образцов до (рис. 2) и после модификации формазанов **IV** (рис. 3) позволяет сделать вывод о сохранении морфологической структуры исходного силикагеля в полученных сорбентах. Однако следует отметить, что после взаимодействия ДИАСОРБ-100-ТА с формазановыми группировками наблюдается появление новых элементов структуры размером менее 0,2 нм (рис. 3). Хаотичное расположение частиц объясняет и непропорционально малое количество закрепленных формазановых группировок. При контакте 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазана с поверхностью ДИАСОРБ-100-ТА на 0,32 мМоль триметиламмониевых группировок приходится лишь 0,006 мМоль формазановых групп. По-видимому, формазан, имея большую по размеру молекулу и реагируя с меньшим по величине атомом азота триметиламмониевой группировки, закрывает другие, имеющиеся на поверхности силикагеля триметиламмониевые группировки, для доступа следующей молекулы органического реагента (рис. 3). После взаимодействия сорбента **4** с раствором нитрата никеля(II) в результате образования комплексного соединения можно наблюдать укрупнение структурных элементов на поверхности минеральной матрицы (рис. 4).

Таблица 2. Характеристики полученных модифицированных сорбентов

| Модифицированный сорбент | Мономерный лиганд | a , ммоль/г | Величина удельной поверхности, м ² /г | Удельный объем монослоя, мл НТГ/г | Константа БЭТ |
|--------------------------|-------------------|--------------------|--|-----------------------------------|---------------|
| 1 | I | 0,022 | 243.3 ± 2.2 | 55.86 | 47 |
| 2 | II | 0,020 | 248.0 ± 2.2 | 58.70 | 49 |
| 3 | III | 0,003 | 229.9 ± 2.2 | 52.78 | 29 |
| 4 | IV | 0,006 | 222.1 ± 2.2 | 51.00 | 47 |
| 5 | V | 0,020 | 212.8 ± 2.2 | 48.87 | 40 |
| 6 | VI | 0,034 | 231.7 ± 2.2 | 53.20 | 46 |
| ДИАСОРБ-100-ТА | | 0,320 | 226.6±2.2 | 52.02 | 40 |

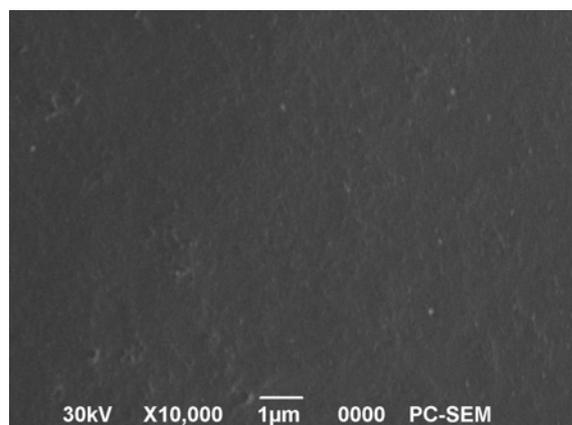


Рис. 2. Микрофотография поверхности исходного силикагеля с триметиламмониевыми группами

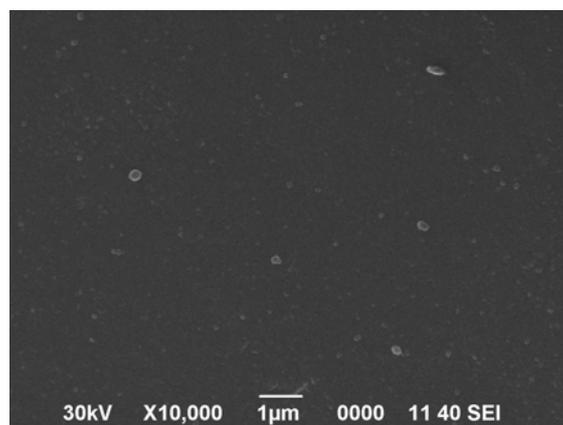


Рис. 3. Микрофотография поверхности сорбента **4**, модифицированного 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазаном

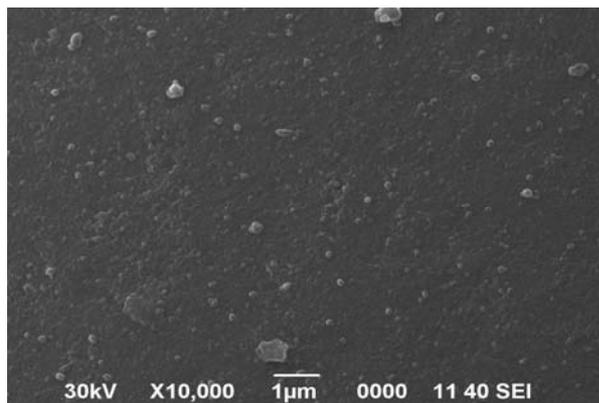


Рис. 4. Микрофотография поверхности сорбента **4**, модифицированного 1-(2-гидрокси-4-сульфофенил)-3-метил-5-(1-бензилбензимидазол-2-ил)формазаном, после взаимодействия с раствором соли нитрата никеля(II)

Методом БЭТ были определены значения удельных поверхностей и константы БЭТ модифицированных сорбентов. Оказалось, что величины удельных поверхностей полученных сорбентов **3-5** сопоставимы с величиной удельной поверхности ДИАСОРБ-100-ТА (табл. 2). Сорбенты **1-2**, содержащие бензоксазолил- и 1-(2-гидрокси-5-нитрофенил)-бензтиазолилформазаны, имеют величину удельной поверхности на 5-12 м²/г больше, чем немодифицированный силикагель.

Объяснение данного явления, по-видимому, состоит в природе межфазного взаимодействия на поверхности раздела фаз «ДИАСОРБ-100-ТА / водно-этанольный раствор формаза», что проявляется в реализации неионизированной, моно- или дианионной форм лиганда. Согласно данным спектров диффузного отражения новых сорбентов **1-6** полосы поглощения модифицированных незамещенными сульфофенилформазанами силикагелей **3-6** практически совпадают с максимумами поглощения растворов соответствующих формазапов **III-VI** в неионизированной форме. Однако сорбенты **1, 2** окрашены в красно-желтый цвет, что соответствует полосам поглощения бензоксазолилформазанов **I, II** в ионизированной форме (табл. 3), которая обусловлена поляризующим действием поверхности силикагеля на NH- и OH-группы молекул лигандов.

О сохранении общей структуры формазапов, иммобилизованных на ДИАСОРБ, свидетельствуют данные ИК-спектроскопии. В ИК-спектрах сорбентов **1, 2** и **5, 6**, модифицированных бензоксазолил- и бензтиазолилформазанами соответственно, наблюдаются полосы в области 3350-3360 см⁻¹ (табл. 3), которые соотнесены с валентными колебаниями аминогруппы соответствующего формаза $\nu_{\text{NH}} = 3340-3360 \text{ см}^{-1}$. В случае образцов **2, 3** регистрируется полоса в области 3430 см⁻¹, которая по положению и интенсивности идентична полосе поглощения иминогруппы бензилбензимидазолилзаместителя формазапов [11]. Правильность отнесения этой полосы подтверждена данными ИК-спектра бензилбензимидазолилформазаната никеля, иммобилизованного на твердофазной матрице: полоса поглощения в области 3430 см⁻¹ исчезает, свидетельствуя об участии азота гетероцикла в образовании металлокомплекса [12].

Сопоставление ИК-спектров образца **1** и соответствующего формаза **I**, полученных на спектрометре IR-75 и ИК-Фурье спектрометре IFS-113v, доказали корректность отнесения полос на основании их идентичности. Следует лишь отметить большее разрешение и интенсивность полос, полученных на ИК-Фурье спектрометре. Например, в ИК-спектрах диффузного отражения образца **4** также

наблюдается полоса в области 3430 см^{-1} , интенсивность которой значительно уменьшается при регистрации спектра комплексного соединения.

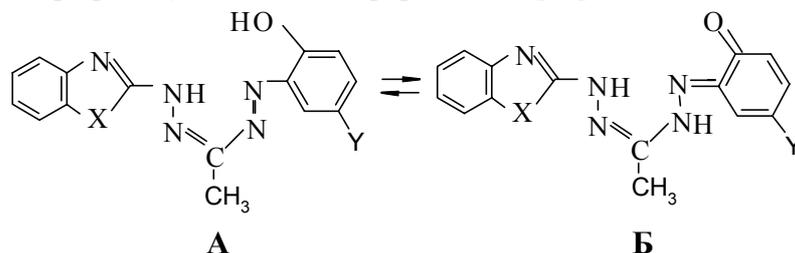
Таблица 3. Данные ИК- и электронных спектров сорбентов и формазанов

| Модифицированный сорбент | Мономерный лиганд | Электронные спектры | | | ИК-спектры сорбентов | |
|--------------------------|-------------------|--|--------------------------------------|---|------------------------------------|--|
| | | Сорбент $\lambda_{\text{макс.}}, \text{ нм}$ | формазан | | $\nu_{\text{NH}}, \text{ см}^{-1}$ | $\nu_{\text{OH}} (\nu_{\text{CO}}), \text{ см}^{-1}$ |
| | | | $\lambda_{\text{макс.}}, \text{ нм}$ | $\lambda_{\text{макс.}}, \text{ нм}$ МОНОАНИОН | | |
| 1 | I | 460 | 400 | 450 | 3340^x | - |
| 2 | II | 470 | 430 | 470 | 3350^x | 3180 (1650) |
| 3 | III | 470 | 470 | 500 | 3410 | - |
| 4 | IV | 495 | 495 | 520 | 3440 | 3170 (1670) |
| 5 | V | 405 | 405 | 505 | 3330 | - |
| 6 | VI | 445 | 445 | 530 | 3340 | 3180 (1680) |

^x полоса поглощения имеет малую интенсивность.

Установлено, что в результате модификации изменяется и строение исходной минеральной матрицы. В процессе закрепления формазановых группировок на поверхности ДИАСОРБ-100-ГА наблюдается образование водородных связей между OH-функциональными группами ДИАСОРБ-100-ГА и формазанов, о чем свидетельствует (табл. 3) смещение характеристических полос гидроксильной группы (3600 см^{-1}) в более длинноволновую область (3180 см^{-1}) [5, 11].

Следует отметить особенность иммобилизации *o*-гидроксибензилсодержащих бензилбензимидазол- и бензтиазол-формазанов, проявляющуюся в увеличении удельных поверхностей модифицированных этими соединениями сорбентов (табл. 2). Подобный факт может быть связан с дополнительным химическим взаимодействием формазановых молекул с OH-группами матрицы силикагеля вследствие присутствия хинониминной таутомерной формы Б, характерной для 1-(2-гидрокси-5-нитрофенил)замещенных формазанов [13].

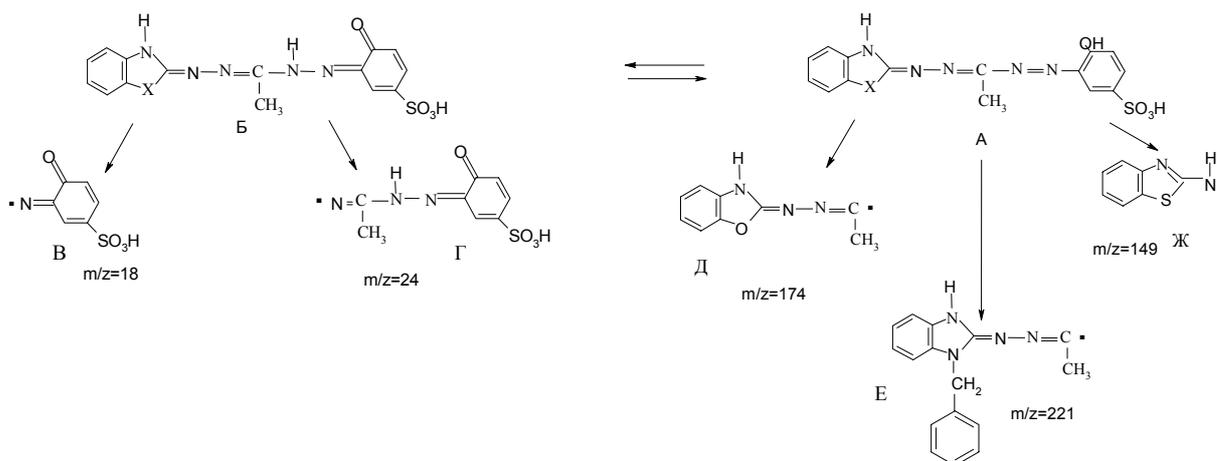


Поскольку молекулы формазанов конформационно и таутомерно подвижны, причем виды изомеров зависят от природы входящих в молекулы лиганда заместителей, нами с целью установления реализующихся при иммобилизации таутомерных форм формазанов были изучены масс-спектры силикагелей **2-4, 6** в сравнении с исходным носителем ДИАСОРБ-100-ГА. Выявлено, что при использовании метода электронного удара в широком интервале температур фрагментация модифицированных силикагелей идентична фрагментации индивидуальных соединений. Однако ионизация органических лигандов с поверхности силикагеля происходит при большей (в 10-15 раз) массе образца и

повышенной температуре (200°C) по сравнению с соответствующими формазанами, ионизация которых начинается с 80 °С. Кроме того, ионы, регистрируемые в масс-спектрах образцов **2-4, 6**, отсутствуют в масс-спектрах исходного ДИАСОРБ-100-ТА, который характеризуется большим числом незначительных по интенсивности пиков.

Хотя в масс-спектрах образцов **2-4, 6** и соответствующих формазанов **II-IV, VI** пик молекулярного иона отсутствует, по характеру фрагментации можно сделать выводы о закономерностях реализации конкретной таутомерной формы иммобилизованной формазановой группировки. Так, о присутствии хинон-иминной таутомерной формы **Б** свидетельствует наличие фрагментов **В** и **Г** с m/z 186 и 242 как в масс-спектрах модифицированных силикагелей **2-4, 6**, так и исходных формазанов **II, IV, VI** (табл. 4). Смещение равновесия в сторону образования хинонгидразонной формы наблюдается в ряду бензтиазолил- <бензоксазолил- <бензимидазолилпроизводных сорбентов.

Кроме того, в дополнении к уже приведенным данным ИК-спектроскопии при ионизации модифицированных силикагелей **2-4, 6** установлено, что прототропное равновесие между возможными таутомерными формами для бензоксазолил- и бензилбензимидазолилформазансодержащих сорбентов **2, 3, 4** сдвинуто в сторону преимущественного присутствия имино-форм **Д, Е**, т.к. в масс-спектрах регистрируются ионы с соответствующими m/z 173 и 222 (табл. 4). При ионизации образца **6**, содержащего бензтиазолилформазан, отмечен ион с m/z 149, что указывает на закрепление в процессе иммобилизации лиганда в amino-форме **Ж**.



Установлено, что модификация минеральной матрицы – силикагеля ДИАСОРБ-100-ТА – бензоксазолилформазановыми группировками приводит как к изменению состава и строения твердофазного носителя, так и в силу действия различных конкурирующих факторов (стерических требований заместителей в формазановой молекуле, химических взаимодействий иммобилизованных группировок с силикагелем) способствует реализации определенной формы иммобилизованного реагента. Так, 1-(4-сульфофенил)замещенные формазаны «закрепляются» в неионизированной форме, а 1-(2-гидрокси-5-сульфофенил)формазаны – в частично ионизированном виде в хинонгидразонной форме. Выявленные особенности конфигурации иммобилизованных функциональных группировок имеют важное значение для синтеза модифицированных материалов с заданными свойствами и их практического применения в сорбционно-хроматографических (сорбционно-аналитических) процессах.

Таблица 4. Данные масс-спектров формазанов и модифицированных сорбентов

| Модифицированный сорбент | Мономерный лиганд | m/z (I, %) мономерный лиганд | m/z (I, %) модифицированный сорбент |
|--------------------------|-------------------|---|---|
| 2 | II | 81(8,07), 105(1,26), 13(1,07), 123(1,24), 139(2,32), 155(4,23), 173(2,84), 186(1,22), 224(4,42), 242(2,21) | 81(4,28), 113(1,27), 118(1,27), 123(1,12), 139(4,56), 156(72,85) 173(3.42), 186(6,36), 224(2,28), 242(4.39) |
| 3 | III | 81(1,78), 105(3,38), 110(1,74), 117(1,31), 132(4,91), 142(5,69), 156(24,02), 207(1,45), 222(1,32), 262(5,03) | 81(12,97), 105(2,88), 110(4,23), 117(1,13), 132(1,75), 142(11,50), 156(11,66), 222(1,16), 236(1,34) |
| 4 | IV | 81(6,54), 105(1,05), 134(1,08), 149(3,38), 207(2,34), 222(1,81), 242(1,35), 263(5,03) | 81(6,18), 93(1,62), 105(1,05), 134(1,08), 149(3,38), 186(2,35), 207(2,34), 222(3,44), 242(4,85) 263(5,03) |
| 6 | VI | 81(6,54), 102(2,37), 104(9,08), 117(2,13), 149(37,62), 159(2,93), 173(2,54), 186(1,98), 201(3,15), 242(4,70), 256(2,77) | 81(4,99), 105(1,08), 117(1,10), 134(1,01), 149(1,86), 159(3,29), 173(1,72), 186(2,63), 242(2,16) |

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 07-03-12050офи и № 08-03-13512офи_ц).

Список литературы

1. Марченко З. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе / З.Марченко, М. Бальцежак; Пер. с польск. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 711 с.
2. Островская В.М., Запорожец О.А., Будников Г.К., Чернавская Н.М. Вода. Индикаторные системы. М: "ЭКОНИКС", 2002. 265 с.
3. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М.: Едиториал УРСС, 2002. 304 с.
4. Медвецкий А.В., Тихомирова Т.И., Цизин Г.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Сорбционно-спектроскопическое определение фосфатов в водах в виде молибденовых гетерополикислот // Журн. аналит. химии. 2003. Т.58. Вып. 9. С. 944 - 947.
5. Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Пенополиуретаны в химическом анализе: сорбция различных веществ и ее аналитическое применение //Успехи химии. 2002. Т. 71. Вып.2. С. 180-197.
6. Химия привитых поверхностных соединений / Под. ред. Лисичкина Г.В. М: ФИЗМАТЛИТ, 2003. 592 с.
7. Запорожец О.А., Гавер О.М., Сухан В.В. Имобилизация аналитических реагентов на поверхности носителей // Успехи химии. 1997. Т.66. Вып. 7. С. 702-712.

8. Бузыкин Б.И., Липунова Г.Н., Сысоева Л.П., Русинова Л.И. Химия формазанов. М: Наука, 1992. 376 с.
9. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии / Под ред. Лисичкина Г.В. М.: Химия, 1986. 247 с.
10. Первова И.Г., Юшкова О.Г., Липунов И.Н., Маслакова Т.И., Липунова Г.Н. Сорбционные свойства анионита АН-18-10п, модифицированного гетарилформазанами // Сорбционные и хроматографические процессы. 2001. Т.1. Вып.1. С. 6-11.
11. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. М.: Мир, 1965. 216 с.
12. Резинских З.Г., Первова И.Г., Липунова Г.Н., Маслакова Т.И., Горбатенко Ю.А., Липунов И.Н., Сигейкин Г.И. Синтез и спектральные характеристики 1-арил-3-арил(алкил)-5-(бензтиазол-2-ил)формазанатов Ni(II) // Координационная химия. 2008. Т. 34. № 9. – С. 663-668.
13. Липунова Г.Н., Кривоногова Т.И., Марина Н.В., Гарновский А.Д., Дариенко Е.П. Синтез и кислотно-основные свойства 1-(2-окси-4(5)-нитрофенил)-5-бензазолформазанов // Журн. общей химии. 1987. Т. 57. Вып. 12. С. 2780-2785.

Маслакова Татьяна Ивановна – к.х.н., доцент кафедры физико-химической технологии защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета, тел. (343) 262-96-50

Maslakova Tatiana I. – senior lecturer Chair of Physico-Chemical Technology of environmental protection, Ural state forest engineering university, Ekateriburg, e-mail: biosphera@usfeu.ru

Первова Инна Геннадьевна – д.х.н., проф. кафедры физико-химической технологии защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Pervova Inna G. – Dr.Sci.Chem, professor Chair of Physico-Chemical Technology of environmental protection, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Скорых Татьяна Владимировна – аспирант кафедры физико-химической технологии защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Skorych Tatiana V. – post graduate student Chair of Physico-Chemical Technology of environmental protection, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Мелкозеров Сергей Александрович - аспирант кафедры физико-химической технологии защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Melkozov Sergey A. – post graduate student Chair of Physico-Chemical Technology of environmental protection, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Главатских Степан Петрович – старший инженер лаборатории физико-химических методов анализа минерального вещества, Институт геологии и геохимии УрО РАН.

Glavatskih Stepan P. - senior engineer laboratory of physical-chemical methods for the analysis of mineral substance, Institute of Geology and Geochemistry Ural Division of RAS

Липунов Игорь Николаевич – профессор, зав. кафедры физико-химической технологии защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Lipunov Igor N. – professor, Head of Chair of Physico-Chemical Technology of environmental protection, Ural state forest engineering university, Ekateriburg



УДК 541.18 532.517.4

Адсорбционное взаимодействие частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в аппарате с механическим перемешиванием и аэрацией. Теоретическая оценка вероятности дробления «двойных частиц» в одном испытании

Ганин П.Г.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, С.-Петербург

Израелян В.Э.

Санкт-Петербургский государственный университет, С.-Петербург

Поступила в редакцию 10.12.2008 г.

Аннотация

Ряд технологических процессов, происходящих в системе жидкость - жидкость - газ - твёрдая фаза с механическим перемешиванием и принудительной аэрацией детерминированы площадями межфазных поверхностей. В таких системах возможна адсорбция частиц дисперсных фаз, образование сложных частиц, в том числе «двойных частиц» и межфазных поверхностей типа газ - твёрдое тело, газ - жидкость, жидкость - твёрдое тело. Дробление «двойных частиц» является случайным процессом, поскольку оно детерминировано случайным характером изменения пульсационной скорости жидкости. Работа посвящена теоретической оценке вероятности дробления адсорбционного взаимодействия частиц газообразной и твёрдой дисперсных фаз в одном испытании при их нахождении в ядре турбулентного потока жидкости.

Ключевые слова: адсорбция частиц, дисперсные фазы, газ – твёрдая фаза, турбулентный поток жидкости, аппарат с перемешиванием, устойчивость, дробление, вероятность, одно испытание.

A number of technological processes occurring in liquid – liquid - gas – solid phase system with mechanical stirring and compulsory aeration is determined by the areas of interphase surfaces. In these systems adsorption of particles of disperse phases, formation of complex particles, including «double particles» and interphase surfaces of gas - solid, gas - liquid, liquid - solid type, is possible. Breakup of «double particles» is a random process as it is determined by a random character of change of liquid fluctuating velocity. This research is devoted to a theoretical estimation of probabilities of breakup of adsorption interactions of gas and solid disperse phases particles in one test at their presence in a core of turbulent stream of liquid.

Key words: adsorption of particles, disperse phases, gas - solid phase, turbulent stream of liquid, apparatus with stirring, stability, breakup, probability, one test.

Введение

Ряд технологических процессов происходит в системе жидкость – жидкость – газ – твёрдая фаза с механическим перемешиванием и аэрацией. Скорость протекания некоторых процессов в системах этого типа детерминирована

площадями межфазных поверхностей, например – транспорт жидких гидрофобных соединений (н-алканов) в клетки и рост микроорганизмов [1]. В таких системах возможна адсорбция частиц дисперсных фаз, образование сложных частиц, в том числе «двойных частиц», и межфазных поверхностей типа газ – твёрдое тело, газ – жидкость, жидкость – твёрдое тело. Адсорбция частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз уменьшит адсорбцию частиц других дисперсных фаз, а также площадь межфазных поверхностей типа жидкость – газ и жидкость – твёрдое тело. Очевидно, что дробление «двойных частиц» будет случайным процессом, поскольку в условиях однородной и изотропной турбулентности оно детерминировано локальной величиной пульсационной скорости, имеющей случайный характер изменения, а в реальном аппарате с неоднородным распределением диссипации энергии – также и вероятностью нахождения частиц в той или иной зоне аппарата.

Цель работы – теоретическая оценка вероятности дробления в одном испытании «двойных частиц» тип а газ – твёрдое тело в ядре турбулентного потока жидкости в условиях однородной и изотропной турбулентности.

Теоретическая часть

Вероятность дробления и устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в одном испытании в ядре турбулентного потока оценим из условия устойчивости [2] и свойств пульсационной скорости жидкости при локальной однородной и изотропной турбулентности [3-5].

Условие устойчивости «двойной частицы» типа пузырёк газа – твёрдая сфера (условие устойчивости адсорбционного взаимодействия) в ядре турбулентного потока жидкости при однородной и изотропной турбулентности имеет вид [2]

$$\frac{\rho(v'_{\lambda(C+D)} D_{\min})^2}{2^3} \leq \frac{\sigma CD (\sin \theta)^2}{2L_{C,D}} \left[1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right] - \frac{D^3 (\rho - \rho_{\Gamma})}{6} k_a \left[\frac{v'_{\lambda(C,D)}^2}{L_{C,D}} \right], \quad (1)$$

где ρ – плотность жидкой и твёрдой фаз; ρ_{Γ} – плотность газа; C – диаметр твёрдой частицы; D – изменённый (вследствие адсорбции) диаметр пузырька; D_{\min} – диаметр наименьшей из частиц; $L_{C,D}$ – расстояние между центрами взаимодействующих частиц; L_{C+D} – длина «двойной частицы»; θ – угол смачивания; $v'_{\lambda(C+D)}$ и $v'_{\lambda(C,D)}$ – пульсационные скорости масштаба $\lambda=L_{C+D}$ и $\lambda=L_{C,D}$; k_a – числовой коэффициент.

Числовой коэффициент k_a отражает то обстоятельство, что ускорение турбулентных пульсаций масштаба $\lambda > \lambda_0$ оценивается [3] с точностью до порядка: $\omega_{a(\lambda)} \sim (\varepsilon_0/\rho)^{2/3} \lambda^{-1/3}$ (ε_0 – диссипация энергии). Величину $\omega_{a(\lambda)}$ представим, введя числовой коэффициент k_a , тогда $\omega_{a(\lambda)} \approx k_a (\varepsilon_0/\rho)^{2/3} \lambda^{-1/3}$, где k_a находится в пределах

$$k_a = 0,33 \div 3,3, \text{ где } k_{a(\min)} \approx 0,33 \text{ (а); } k_{a(ср)} = 1 \text{ (б); } k_{a(\max)} \approx 3,3 \text{ (в)} \quad (2)$$

Уравнение (1) получено для случаев, когда: длина «двойной частицы» удовлетворяет условию $\lambda_0 < L_{C+D} < l$ (где λ_0 – внутренний масштаб турбулентности, l – размер области, в которой происходит движение); диаметр пузырьков больше толщины пограничного подслоя вблизи твёрдых частиц $D > \delta_0$; плотность жидкости и твёрдых частиц близки по величине $\rho_{\text{ж}} \approx \rho_{\text{т}} \approx \rho$; выталкивающая сила, действующая на пузырёк, существенно меньше силы инерции; угол смачивания не слишком велик.

Очевидно, что если угол смачивания не слишком велик, то диаметр исходного пузырька D_0 не слишком изменится при адсорбции и можно принять

$$D \approx D_0. \quad (3)$$

Можно показать, что

$$D_{\min} = 0,5(C + D - |C - D|), \quad (4)$$

$$L_{C,D} = 0,5(C^2 + D^2 + CD \cos \theta)^{0,5}, \quad (5)$$

$$L_{C+D} = 0,5[C + D + (C^2 + D^2 + CD \cos \theta)^{0,5}]. \quad (6)$$

В уравнение (1) входят пульсационные скорости двух масштабов $\lambda_1=L_{C+D}$ и $\lambda_2=L_{C,D}$. Преобразуем (1) так, чтобы фигурировала пульсационная скорость одного масштаба. Согласно «закону двух третей» Колмагорова–Обухова [4, 5], имеем

$$(v'_\lambda)^2 \approx (\varepsilon_0^L \lambda)^{\frac{2}{3}}, \quad (7)$$

где v'_λ – пульсационная скорость жидкости; ε_0^L – локальное значение скорости диссипации энергии в расчёте на единицу массы жидкости; λ – масштаб движения.

Пульсационные скорости масштаба $\lambda_1=L_{C+D}$ и $\lambda_2=L_{C,D}$, с учётом (7), для случая однородной и изотропной турбулентности, соответственно, представим, как:

$$(v'_{\lambda(C+D)})^2 \approx (\varepsilon_0 L_{C+D})^{\frac{2}{3}}, \quad (8)$$

$$(v'_{\lambda(C,D)})^2 \approx (\varepsilon_0 L_{C,D})^{\frac{2}{3}}, \quad (9)$$

откуда следует

$$(v'_{\lambda(C,D)})^2 \approx (\varepsilon_0 L_{C+D})^{\frac{2}{3}} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}} = (v'_{\lambda(C+D)})^2 \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}}. \quad (10)$$

Уравнение (1), с учётом (10), можно представить в виде

$$\frac{\rho}{2^3} (v'_{\lambda(C+D)} D_{\min})^2 \leq \frac{\sigma CD (\sin \theta)^2}{2L_{C,D}} \left[1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right] - k_a \frac{D^3 (\rho - \rho_\Gamma)}{6L_{C,D}} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}} v'_{\lambda(C+D)}{}^2. \quad (11)$$

Наименьшая величина пульсационной скорости $v'_{(кр)\lambda(C+D)}$, превышение которой приведёт к дроблению «двойной частицы», с учётом (11), должна удовлетворять условию (12), откуда получим оценку (13):

$$\frac{\rho (v'_{(кр)\lambda(C+D)} D_{\min})^2}{2^3} \approx \frac{\sigma CD (\sin \theta)^2}{2L_{C,D}} \left[1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right] - k_a \frac{D^3 (\rho - \rho_\Gamma)}{6L_{C,D}} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}} v'_{(кр)\lambda(C+D)}{}^2, \quad (12)$$

$$v'_{(кр)\lambda(C+D)} \approx (\sin \theta) \left[\frac{\frac{\sigma CD}{L_{C,D}} \left(1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right)}{\frac{\rho D_{\min}^2}{2^2} + k_a \frac{(\rho - \rho_\Gamma)}{3} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}} \frac{D^3}{L_{C,D}}} \right]^{0,5}. \quad (13)$$

Условие дробления «двойной частицы» в одном испытании, представим

$$v'^{(1)}_{\lambda(C+D)} > v'_{(кр)\lambda(C+D)}, \quad (14)$$

где $v'^{(1)}_{\lambda(C+D)}$ – пульсационная скорость усреднённой за время равное одному характерному периоду пульсаций масштаба «двойной частицы» $\lambda=L_{C+D}$.

Вероятность дробления «двойной частицы» в одном испытании $P_{\text{дроб.}\lambda(C+D)}$, с учётом (14), можно представить

$$P_{\text{дроб.}\lambda(C+D)} = p(v'^{(1)}_{\lambda(C+D)} > v'_{(кр)\lambda(C+D)}),$$

или

$$P_{\text{дроб.}\lambda(C+D)} = 1 - p(v'^{(1)\lambda(C+D)} < v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}), \quad (15)$$

где $p(v'^{(1)\lambda(C+D)} > v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)})$ и $p(v'^{(1)\lambda(C+D)} < v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)})$ – вероятности выполнения условия $v'^{(1)\lambda(C+D)} > v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}$ и условия $v'^{(1)\lambda(C+D)} < v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}$, соответственно.

Как известно [6, 7], амплитуда пульсационной скорости является случайной величиной, распределённой в первом приближении по нормальному закону.

Вероятность попадания случайной величины X , имеющей нормальное распределение, в заданный интервал ($< y$) выражается через функцию Лапласа [8]

$$p(|X - m_X| < y) = \Phi_L \left(2^{\frac{1}{2}} \frac{y}{\sigma_X} \right), \quad (16)$$

где m_X – математическое ожидание случайной величины X ; y – граница интервала; σ_X – среднеквадратичное отклонение случайной величины X ; Φ_L – функция Лапласа

$$\Phi_L(X) = \frac{2}{\pi^{\frac{1}{2}}} \int_0^X \exp(-t^2) dt. \quad (17)$$

Принимая во внимание (16, 17), уравнение (15) можно представить в виде

$$P_{\text{дроб.}\lambda(C+D)} = 1 - \Phi_L \left(2^{\frac{1}{2}} \frac{v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}}{\sigma_{v'}} \right), \quad (18)$$

где $\sigma_{v'}$ – среднеквадратичное отклонение пульсационной скорости.

Пульсационная скорость жидкости, по определению этой величины, представляет собой среднеквадратичное значение пульсационной скорости (усреднённое за бесконечно большой промежуток времени) [3, 7], таким образом

$$v'_{\lambda} \equiv \sigma_{v'_{\lambda}}. \quad (19)$$

Уравнение (18) с учётом (19) примет вид

$$P_{\text{дроб.}\lambda(C+D)} = 1 - \Phi_L \left(2^{\frac{1}{2}} \frac{v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}}{v'_{\lambda(C+D)}} \right) = 1 - \Phi_L \left(2^{\frac{1}{2}} A \right), \quad (20)$$

где

$$A = \frac{v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}}{v'_{\lambda(C+D)}}. \quad (21)$$

Как следует из (21), величина A , показывает во сколько раз критическая величина пульсационной скорости, достаточная для дробления данной «двойной частицы» ($v'_{(\text{кр})\lambda(C+D)}$), больше пульсационной скорости $v'_{\lambda(C+D)}$ (усреднённая величина за бесконечно большой промежуток времени [3, 7]) масштаба $\lambda=L_{C+D}$.

Выражая пульсационную скорость $v'_{\lambda(C+D)}$ через диссипацию энергии ε_0 и масштаб движения $\lambda=L_{C+D}$, с учётом (7, 13), уравнение (21) примет вид

$$A = \frac{(\sin \theta)}{(\varepsilon_0 L_{C+D})^{\frac{1}{3}}} \left[\frac{\frac{\sigma CD}{L_{C,D}} \left(1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right)}{\frac{\rho D_{\min}^2}{2^2} + k_a \frac{(\rho - \rho_{\Gamma})}{3} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}} \frac{D^3}{L_{C,D}}} \right]^{0,5}. \quad (22)$$

Вероятность дробления «двойной частицы» как функция приведённых размеров частиц, как следует из (20, 22), сводится к выражению величины A , через приведённые размеры. Очевидно, что удобно использовать приведённые размеры,

выраженные через диаметр наибольших пузырьков газа устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости при однородной и изотропной турбулентности ($d_{кр}$).

Величина $d_{кр}$ оценивается [7] из уравнения устойчивости

$$\frac{1}{2} \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}} (v'_d)^2 \approx 4 \frac{\sigma}{d}, \quad (23)$$

принимая в расчёт максимальную локальную величину пульсационной скорости (v'_{max}) соответствующего масштаба ($\lambda=d_{кр}$) (где σ – поверхностное натяжение)

$$\frac{1}{2} \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}} (v'_{(max)d_{кр}})^2 \approx 4 \frac{\sigma}{d_{кр}}. \quad (24)$$

Из уравнения (24) получим

$$(v'_{(max)d_{кр}})^2 \approx 2^3 \frac{\sigma}{d_{кр}} \frac{1}{\rho} \left(\frac{\rho}{\rho_{\Gamma}} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (25)$$

Из уравнений (13, 25) после элементарных преобразований получим

$$\left(\frac{v'_{(кр)\lambda(C+D)}}{v'_{(max)d_{кр}}} \right)^2 \approx \frac{2^{-3} (\sin \theta)^2 d_{кр} \frac{CD}{L_{C,D}} \left(1 - \frac{C}{2L_{C,D}} \right) \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}}}{\frac{\rho(D_{min})^2}{2^2} + k_a \frac{D^3 (\rho - \rho_{\Gamma})}{3L_{C,D}} \left(\frac{L_{C,D}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}}},$$

,откуда, переходя к приведённым линейным размерам ($\lambda^*=\lambda/d_{кр}$), будем иметь

$$\left(\frac{v'_{(кр)\lambda(C+D)}}{v'_{(max)d_{кр}}} \right)^2 \approx \frac{2^{-3} (\sin \theta)^2 \frac{C^* D^*}{L^*_{C,D}} \left(1 - \frac{C^*}{2L^*_{C,D}} \right) \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}}}{\frac{\rho(D^*_{min})^2}{2^2} + k_a \frac{D^{*3} (\rho - \rho_{\Gamma})}{3L^*_{C,D}} \left(\frac{L^*_{C,D}}{L^*_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}}},$$

откуда

$$v'_{(кр)\lambda(C+D)} \approx K v'_{(max)d_{кр}}, \quad (26)$$

где

$$K = \frac{v'_{(кр)\lambda(C+D)}}{v'_{(max)d_{кр}}} \approx 2^{\frac{3}{2}} (\sin \theta) \left[\frac{\frac{C^* D^*}{L^*_{C,D}} \left(1 - \frac{C^*}{2L^*_{C,D}} \right) \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}}}{\frac{\rho(D^*_{min})^2}{2^2} + k_a \frac{D^{*3} (\rho - \rho_{\Gamma})}{3L^*_{C,D}} \left(\frac{L^*_{C,D}}{L^*_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}}} \right]^{\frac{1}{2}}; \quad (27)$$

$$C^* = \frac{C}{d_{кр}}; \quad D^* = \frac{D}{d_{кр}}; \quad D^*_{min} = \frac{D_{min}}{d_{кр}}; \quad L^*_{C,D} = \frac{L_{C,D}}{d_{кр}}; \quad L^*_{C+D} = \frac{L_{C+D}}{d_{кр}}. \quad (28)$$

Поскольку амплитудная величина пульсационной скорости является случайной величиной распределенной в первом приближении по закону нормального распределения, для её максимальной величины принимается оценка [7]

$$v'_{max} \approx 3v', \quad (29)$$

а для максимальной величины пульсационной скорости масштаба $\lambda=d_{кр}$

$$v'_{(\max)d_{kp}} \approx 3v'_{d_{kp}}, \quad (30)$$

Оценка (26), с учётом (30), примет вид

$$v'_{(kp)\lambda(C+D)} \approx 3Kv'_{d_{kp}}. \quad (31)$$

Для пульсационных скоростей масштаба $\lambda=d_{kp}$, из уравнения (7) получим

$$v'_{d_{kp}} \approx (\varepsilon_0 d_{kp})^{\frac{1}{3}}. \quad (32)$$

Из уравнений (8, 32) будем иметь

$$v'_{d_{kp}} \approx v'_{\lambda(C+D)} \left(\frac{d_{kp}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (33)$$

Уравнение (26), с учётом (33), примет вид

$$v'_{(kp)\lambda(C+D)} \approx 3Kv'_{\lambda(C+D)} \left(\frac{d_{kp}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{1}{3}} = Av'_{\lambda(C+D)}, \quad (34)$$

где

$$A = \frac{v'_{(kp)\lambda(C+D)}}{v'_{\lambda(C+D)}} \approx 3K \left(\frac{d_{kp}}{L_{C+D}} \right)^{\frac{1}{3}} \equiv 3K \left(\frac{1}{L^*_{C+D}} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (35)$$

Из уравнения (35), с учётом (27), получим оценку величины А, выраженную через приведённые линейные размеры взаимодействующих частиц

$$A \approx 3 \times 2^{-\frac{3}{2}} (\sin \theta) \left(\frac{1}{L^*_{C+D}} \right)^{\frac{1}{3}} \left[\frac{\frac{C^* D^* \left(1 - \frac{C^*}{2L^*_{C,D}} \right) \rho \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}}}{L^*_{C,D}}}{\frac{\rho D^{*2}_{\min}}{2^2} + k_a \frac{D^{*3} (\rho - \rho_{\Gamma}) \left(\frac{L^*_{C,D}}{L^*_{C+D}} \right)^{\frac{2}{3}}}{3L^*_{C,D}}} \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (36)$$

Вероятность дробления «двойной частицы» как функция межфазного натяжения. В ряде случаев для оценки $\rho_{\text{дроб.}\lambda(C+D)}$ (20, 27, 36), может оказаться удобным исключить угол смачивания θ . Согласно закону Юнга [9]

$$\cos(\theta_{\text{равн}}) = \frac{\sigma_{T-\Gamma} - \sigma_{T-Ж}}{\sigma_{Ж-\Gamma}}, \quad (37)$$

откуда, с учётом $(\sin \alpha)^2 + (\cos \alpha)^2 = 1$, следует

$$\sin(\theta_{\text{равн}}) = \left[1 - \left(\frac{\sigma_{T-\Gamma} - \sigma_{T-Ж}}{\sigma_{Ж-\Gamma}} \right)^2 \right]^{0,5}, \quad (38)$$

где $\sigma_{T-\Gamma}$; $\sigma_{T-Ж}$; $\sigma_{Ж-\Gamma}$ – межфазное натяжение твёрдое тело – газ; твёрдое тело – жидкость; жидкость – газ, соответственно.

Если угол смачивания (θ) близок к равновесной величине ($\theta_{\text{равн}}$)

$$\theta \approx \theta_{\text{равн}}, \quad (39)$$

то величины, заданные зависимостями (5, 6), соответственно, примут вид

$$L_{C,D} = 0,5 \left(C^2 + D^2 + CD \frac{\sigma_{T-\Gamma} - \sigma_{T-Ж}}{\sigma_{Ж-\Gamma}} \right)^{0,5}, \quad (40)$$

$$L_{C+D} = 0,5 \left[C + D + \left(C^2 + D^2 + CD \frac{\sigma_{T-\Gamma} - \sigma_{T-Ж}}{\sigma_{Ж-\Gamma}} \right)^{0,5} \right]. \quad (41)$$

Вероятность устойчивости «двойной частицы» в одном испытании
 $p_{уст.\lambda(C+D)}$ оценим из очевидного условия (42), откуда с учётом (20), получим (43):

$$p_{уст.\lambda(C+D)} = 1 - p_{дроб.\lambda(C+D)}, \quad (42)$$

$$p_{уст.\lambda(C+D)} = \Phi_L \left(2^{\frac{1}{2}} A \right), \quad (43)$$

где величина A оценивается зависимостями (22) или (36), а при $\theta \approx \theta_{равн}$ (39) можно исключить угол смачивания, используя зависимости (38, 40, 41).

Случай $C \ll D$, $\rho_\Gamma \ll \rho$. Если диаметр твёрдых частиц существенно меньше пузырьков газа

$$C \ll D, \quad (44)$$

зависимости (5, 6) примут приближённый вид, соответственно:

$$L_{C,D} \approx 0,5D, \quad (a); \quad L_{C+D} \approx D, \quad (б). \quad (45)$$

Величина D_{min} , заданная зависимостью (4), при условии (44), составит

$$D_{min} = C, \quad (\text{соответственно } D_{min}^* = C^*). \quad (46)$$

Очевидно, что плотность газа существенно меньше плотности жидкости

$$\rho_\Gamma \ll \rho, \quad (47)$$

тогда можно принять

$$\rho - \rho_\Gamma \approx \rho. \quad (48)$$

При условии (44, 47), оценка величины A (36), с учётом точности оценки числового коэффициента k_a (2), а также приближений (45, 48), примет вид

$$A \approx 3^{\frac{3}{2}} \times 2^{\frac{7}{6}} (\sin \theta) \left(\frac{1}{D^*} \right)^{\frac{4}{3}} \left[C^* \frac{1}{k_a} \left(\frac{\rho_\Gamma}{\rho} \right)^{\frac{1}{3}} \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (49)$$

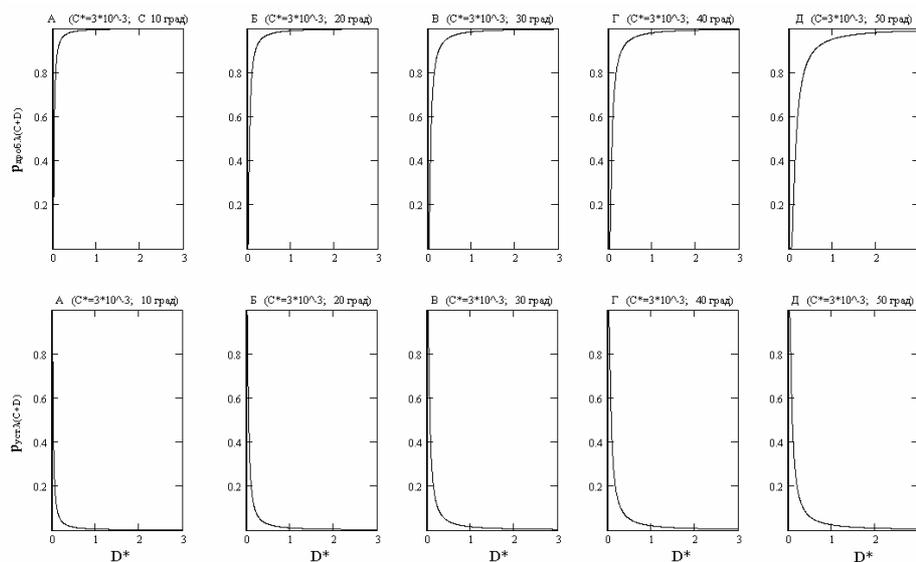


Рис. 1. Расчётные зависимости вероятности дробления ($p_{дроб.\lambda(C+D)}$) и устойчивости ($p_{уст.\lambda(C+D)}$) «двойной частицы» в одном испытании $p_{уст.\lambda(C+D)}$ от приведённого диаметра пузырька D^* для различных углов смачивания (θ).

Расчитано для $k_a=1$, $\rho=1000$, $\rho_\Gamma=1$ (кг/м³), $C^*=3 \times 10^{-3}$.

На рис. 1-3 приведены расчётные зависимости вероятности дробления и устойчивости «двойной частицы» в одном испытании от: приведённого диаметра пузырька D^* для приведённого диаметра частиц твёрдой дисперсной фазы $C^*=3 \times 10^{-3}$ и различных углов смачивания (θ) (рис. 1); угла смачивания (θ) для приведённого диаметра пузырька $D^*=1$ и различных приведённых диаметров частиц твёрдой дисперсной фазы (C^*) (рис. 2); приведённого диаметра частиц твёрдой дисперсной фазы (C^*) для приведённого диаметра пузырька $D^*=1$ и различных углов смачивания (θ) (рис. 3). Расчёт проведён по уравнениям (20, 43) с учётом (36), принимая в расчёт $k_a=k_{a(cD)}=1$ (2.a) для плотности жидкости (вода) $\rho \approx 1000$ и газа (воздух) $\rho_r \approx 1$, кг/м^3 .

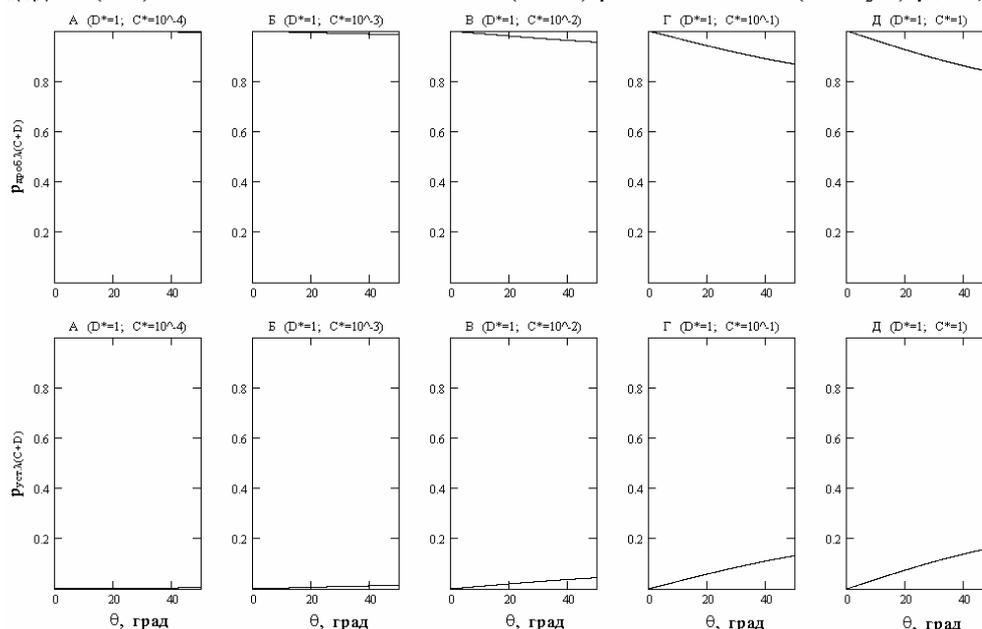


Рис. 2. Расчётные зависимости вероятности дробления ($p_{\text{дроб.}\lambda(C+D)}$) и устойчивости ($p_{\text{уст.}\lambda(C+D)}$) «двойной частицы» в одном испытании от угла смачивания (θ) для различных приведённых диаметров частиц твёрдой дисперсной фазы (C^*).

Рассчитано для $\rho=1000$, $\rho_r=1$ (кг/м^3), $D^*=1$.

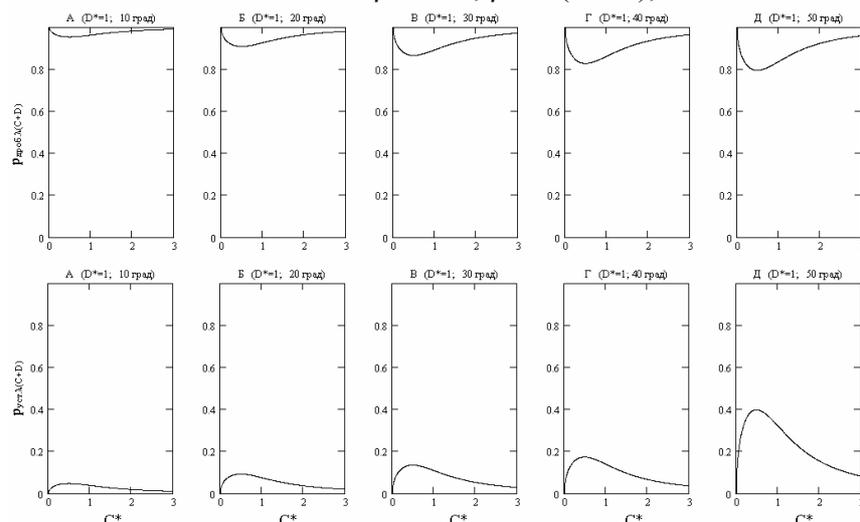


Рис. 3. Расчётные зависимости вероятности дробления ($p_{\text{дроб.}\lambda(C+D)}$) и устойчивости ($p_{\text{уст.}\lambda(C+D)}$) «двойной частицы» в одном испытании от приведённого диаметра частиц твёрдой дисперсной фазы (C^*) для различных углов смачивания (θ).

Рассчитано для $\rho=1000$, $\rho_r=1$ (кг/м^3), $D^*=1$.

Обсуждение результатов

Отметим, что приведённые оценки вероятности дробления и устойчивости не распространяются на те случаи, на которые не распространяется базовое уравнение устойчивости «двойной частицы» в ядре турбулентного потока жидкости (1) [2].

На практике может оказаться удобным в уравнении устойчивости (1) и построенной на его основе оценке вероятности дробления и устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц использовать диаметр не деформированного (D), а исходного (недеформированного) (D_0) пузырька газа. Приведённое приближение (3) связано с тем обстоятельством, что использование в уравнении устойчивости (1) диаметра исходного недеформированного пузырька (D_0) приведёт к сложностям, обусловленным необходимостью решения кубического уравнения (связывающего D_0 и D) в явном аналитическом виде. Очевидно, что при известных численных значениях D^*_0 , C^* и θ оценка вероятности дробления и устойчивости, как функции от D_0 , не представляет сложности.

Заключение

1. В условиях однородного и изотропного турбулентного движения жидкости дробление и устойчивость «двойных частиц» типа газ – твёрдая фаза (сорбент), образованных вследствие адсорбции частиц дисперсных фаз:

- имеет случайный характер;
- вероятности дробления и устойчивости зависят от размеров адсорбированных частиц (C , D), угла смачивания (θ), плотности фаз ($\rho_{ж}$, $\rho_{т}$, $\rho_{г}$) и диаметра наибольших пузырьков газа, устойчивых в ядре турбулентного потока жидкости ($d_{кр}$) (или поверхностного натяжения жидкости σ и диссипации энергии ε_0).

2. В реальном аппарате с механическим перемешиванием вероятности дробления и устойчивости «двойных частиц» в одном испытании различны в различных зонах аппарата. Их аналитическая оценка возможна на основе принятия в расчёт «локальных величин» $d_{кр}$ для зон $d_{кр,z}$ (или поверхностного натяжения жидкости σ и локальной величины диссипации энергии в зоне ε_0^z).

3. В процессах, происходящих в ядре турбулентного потока жидкости дисперсной системы типа жидкость – газ – твёрдое тело и включающих стадию адсорбции частиц твёрдой и жидкой дисперсных фаз, необходимо учитывать адсорбцию частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз (уменьшение свободной поверхности частиц твёрдой фазы) и зависимость вероятности устойчивости их адсорбционного взаимодействия от размеров частиц.

4. Для аналитической оценки вероятности дробления и устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз, в которых поверхностные свойства индивидуальных частиц дисперсных фаз различаются или зависят от их размера, необходимо принимать в расчёт соответствующие (индивидуальные) углы смачивания.

Список литературы

1. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов. М.: Лесная промышленность, 1979. 344 с.

-
2. Ганин П.Г. Теоретическая оценка устойчивости адсорбционного взаимодействия частиц твёрдой и газообразной дисперсных фаз в аппарате с механическим перемешиванием и аэрацией. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып. 4. С. 553-569
3. Левич В.Г. Физико-химическая гидродинамика. М.: Физматгиз, 1959. 699 с.
4. Колмагоров А.Н. Рассеяние энергии при локальной изотропной и турбулентности // Докл. АН СССР. 1941. Т. 32. Вып. С. 19-21.
5. Обухов А.М. О распределении энергии в спектре турбулентного потока // Докл. АН СССР. 1941. Т. 32. Вып. С. 22-24.
6. Бреншоу П. Введение в турбулентность и её измерение. М.: Мир, 1974. 277 с.
7. Брагинский Л.Н., Барабаш В.М., Бегачёв В.И. Перемешивание в жидких средах. Физические основы и методы расчёта. Л.: Химия, 1984. 336 с.
8. Гурский Е.И. Теория вероятностей с элементами математической статистики. М.: Высшая школа, 1971. 328.
-

Ганин Павел Георгиевич – к.т.н., ст. науч. сотр. кафедры микробиологии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, Санкт-Петербург, тел. 8(812) 277-57-67

Израэлян Ваграм Эдуардович - магистр кафедры молекулярной биофизики Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, 8(812) 307-28-91

Ganin Pavel Georgievich – Ph.D (Biotechnology) senior researcher, Microbiology Department, St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, St Petersburg, Russia, e-mail: ganin-pavel@rambler.ru

Israelyan Vagram Eduardovich – MS Molecular Biophysics Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, e-mail: vagrus@gmail.com



УДК 543.544.5:544.723.232:547.912

Инкрементные соотношения при анализе удерживания каротиноидов: использование ортогонального разделения

Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Шаркунова Н.А.

Белгородский государственный университет, Белгород

Поступила в редакцию 10.09.2008 г.

Аннотация

Работа посвящена исследованию инкрементных соотношений в удерживании каротиноидов в условиях обращено-фазовой ВЭЖХ в неводных подвижных фазах (системы «ацетон – ацетонитрил»). Для объяснения найденных закономерностей предложена модель, основанная на смещении точки конвергенции по оси абсцисс, которая применима для «псевдогомологов» - веществ различных гомологических рядов с одинаковым последовательным изменением строения молекул. Для экспериментального исследования удерживания компонентов сложных смесей (экстракта плодов сладкого перца) применен метод ортогонального разделения.

Ключевые слова: ВЭЖХ, ТСХ, удерживание, инкременты, каротиноиды,

The paper is devoted to investigation of increment relationships for carotenoides retention in reversed-phase HPLC with anhydrous mobile phases of “acetonitrile – acetone” system. The model has been based upon assumption of the convergence point shift for explanation of “pseudohomologues” (PG) retention increments, PG being the solutes of different homologues series with identical successive structure alteration. Experimental validation of the model has been confirmed by orthogonal separation of complex solutes mixture of sweet pepper fruits extracts.

Key words: HPLC, TLC, retention, increments, carotenoids.

Введение

Несмотря на то, что к настоящему времени опубликовано огромное число работ по исследованию каротиноидного состава различных объектов растительного и животного происхождения, даже попыток обобщить закономерности удерживания нами не обнаружено. Это удивительно, поскольку по разнообразию функциональных групп (на концах молекулы) с каротиноидами могут соперничать только триглицериды. Производные бензола, обычно использовавшиеся для поиска подобных закономерностей удерживания [1], можно считать существенно менее удачными сорбатами вследствие сильного влияния одних функциональных групп на другие по индуктивным и мезомерным механизмам. В отличие от каротиноидов известен целый ряд обстоятельных исследований закономерностей удерживания триглицеридов как с использованием различных вариантов эквивалентных

углеродных чисел [2 - 4], так и с использованием инкрементного подхода [5 - 6]. Лишь в нашей предыдущей публикации [7] были исследованы некоторые аспекты инкрементного подхода к анализу каротиноидов, основанные в основном на свойствах удерживания сорбатов гомологических рядов (диэфиров ксантофиллов). При этом была показана возможность переноса метиленовых инкрементов между различными гомологическими рядами, что позволило разделить ряд сложных смесей растительных экстрактов на составляющие их гомологические ряды.

Основная цель настоящей работы – дальнейшее исследование закономерностей удерживания каротиноидов с использованием двухмерной хроматографии.

Материалы и методы исследования

В работе использована хроматографическая система, составленная из насоса Altex 110А, крана дозатора Rheodyne 7200 с петлей объемом 20 мкл. Хроматографические колонки: 4×250 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм, 4×250 мм, Кромасил-100-С18, 5 мкм защищенные предколоночным фильтром. Детектор – спектрофотометрический с варьируемой длиной волны (детектор Nicolet LC/9563). Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП МультиХром 1.5. Для ТСХ использовали пластины с силикагелем «Сорбфилл». Спектры индивидуальных компонентов и разделенных фракций каротиноидов записывали на спектрофотометре КФК-3-01.

Для приготовления подвижных фаз использовали растворители: ацетон ч.д.а. ЗАО «Экос-1», ацетонитрил х.ч., ООО «ХромРесурс».

В работе использовали экстракты свежего сладкого перца красной и оранжевой окрасок (*Capsicum annuum*), сушеных плодов и чашечек физалиса декоративного (*Physalis alkekengi*), сушеных лепестков бархатцев оранжевой окраски (*Tagetes erecta* и/или *T. patula*). Экстракцию из свежих плодов осуществляли последовательным добавлением ацетона к навеске перца и растирания в фарфоровой ступке с кварцевым песком с отделением каждой порции ацетона. Каротиноиды из суммы фракций экстрагировали в *n*-гексан для последующего разделения методом ТСХ на фракции в элюентах, содержащих на 20 мл *n*-гексана 2-3 мл ацетона. Индивидуальные фракции экстрагировали ацетоном, отделяя от сорбента фильтрованием.

Результаты исследования и обсуждение

При разработке полуэмпирических систем для количественной взаимосвязи между удерживанием (в условиях обращено-фазовой ВЭЖХ) и строением сорбатов ключевая роль может быть отведена инкрементам, соответствующим одинаковому изменению структуры веществ в некотором ряду. Наиболее простой случай - добавление метиленовых групп в рядах гомологов был рассмотрен ранее [7]. В общем случае среди каротиноидов можно выбрать множество троек сорбатов $A \rightarrow B \rightarrow V$: где *A* – исходная симметричная молекула; *B* – молекула со структурным изменением на одном конце молекулы; *V* – молекула с двумя такими же структурными изменениями с обеих сторон. Тогда два инкремента:

$$\Delta_1 = \lg k(B) - \lg k(A) \text{ и } \Delta_2 = \lg k(V) - \lg k(B)$$

соответствуют одинаковому последовательному изменению структуры и, как обычно предполагается [1, 8], должны быть одинаковыми.

Схождение линий тренда для всех членов гомологического ряда в одной точке (точке конвергенции [9]) хорошо известно, и выполняется для рядов диэфиров ксантофиллов [7]. Но сорбаты А, Б и В уже не принадлежат к одному гомологическому ряду (назовем их «псевдогомологами»); их точки конвергенции в общем случае могут иметь различные абсциссы, но в рассматриваемых рядах вероятно одинаковое смещение точек по оси абсцисс по мере добавления одинаковых полярных функциональных групп [10 - 11]. Но тогда, как нетрудно убедиться, последовательные инкременты не должны быть эквивалентными. Сместим начало координат на графике относительного удерживания в точку конвергенции (для этого нужно добавить к логарифму фактора удерживания константу C). Тогда координатная диагональ описывается тривиальным уравнением:

$$(\lg k(A) + C) = 1 \cdot (\lg k(A) + C).$$

Если бы сорбаты Б и В были гомологами сорбата А, то для них уравнения относительного удерживания имели бы вид:

$$(\lg k(B) + C) = (1 + b)(\lg k(A) + C),$$

$$(\lg k(B) + C) = (1 + 2b)(\lg k(A) + C),$$

где удвоение прироста тангенса угла наклона ($2b$) обеспечивает равенство последовательных инкрементов при любом составе подвижной фазы. Пусть точки конвергенции смещаются по оси абсцисс на параметр a :

$$(\lg k(B) + C) = (1 + b)(\lg k(A) + C - a),$$

$$(\lg k(B) + C) = (1 + 2b)(\lg k(A) + C - 2a).$$

Тогда можно рассчитать последовательные инкременты:

$$\Delta_1 = (\lg k(B) + C) - (\lg k(A) + C) = b \lg k(A) + bC - a - ab, \quad (1)$$

$$\Delta_2 = b \lg k(A) + bC - a - 3ab. \quad (2)$$

Следовательно, равенство Δ_1 и Δ_2 для «псевдогомологов» может выполняться нестрого, - с точностью до $2ab$, причем разность этих параметров не зависит от состава подвижной фазы.

Простым примером псевдогомологов может быть тройка легкодоступных сорбатов: А = β -каротин, который входит в состав многих фруктов и овощей (в нашем случае этот компонент выделен из наиболее неполярной части экстракта красного перца *Capsicum annuum*). Б = β -криптоксантина пальмитат и В = зеаксантина дипальмитат – два основных пика в экстракте плодов (и чашечки) физалиса декоративного (*Physalis alkekengi*) [12], рис.1.

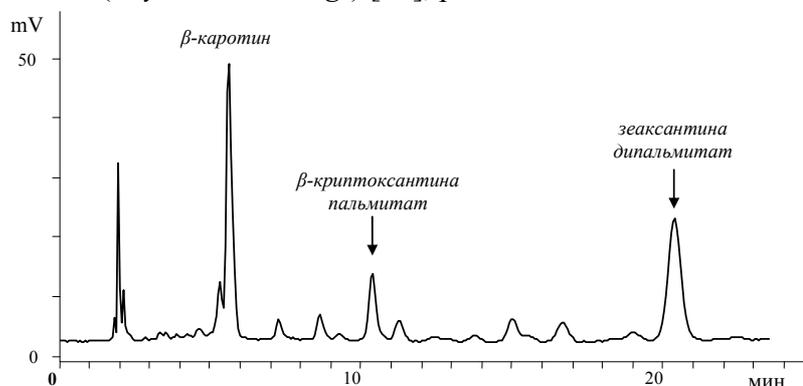
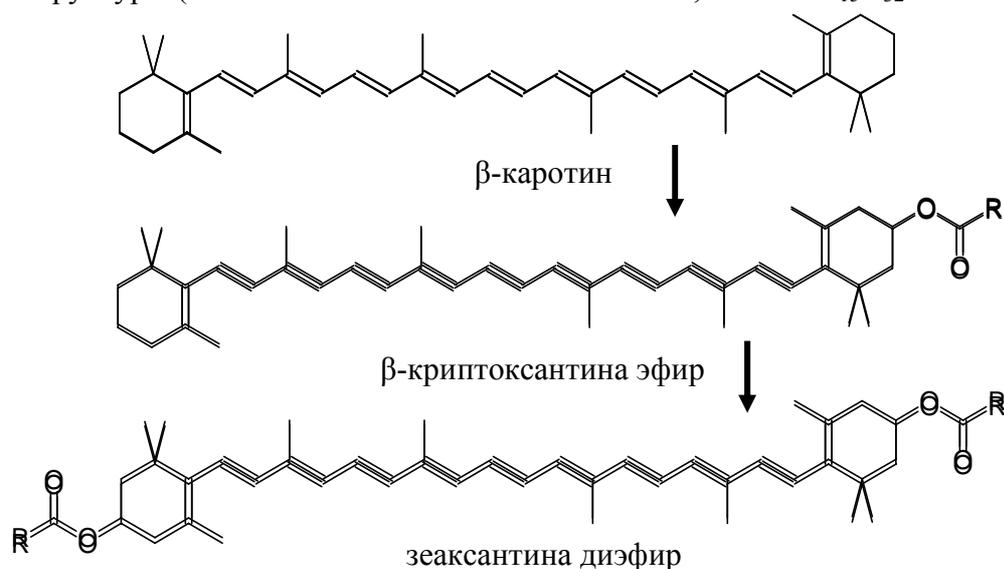


Рис.1. Разделение некоторых каротиноидов в условиях ОФ ВЭЖХ
Колонка: 250×4 мм, Кромасил-100-С18, 5 мкм, Подвижная фаза: 85 %
ацетона, 15% ацетонитрила, 1 мл/мин. Детектор: 445 нм.

В рассматриваемом ряду происходит одинаковое последовательное изменение структуры (основные компоненты – пальмитаты, т.е. $R = C_{15}H_{32}$):



Данные по удерживанию этих сорбатов в трех различных составах подвижных фаз системы ацетон – ацетонитрил, представлены в табл.1 и на рис.2. Очевидно, прямые линии трендов относительного удерживания действительно имеют тенденцию пересечения в одной точке, что характерно для «псевдогомологов». Но при этом различия в инкрементах:

$$\Delta_1 = \lg k(\beta\text{-криптоксантина_пальмитат}) - \lg k(\beta\text{-каротин}) \text{ и}$$

$$\Delta_2 = \lg k(\text{зеаксантина_дипальмитат}) - \lg k(\beta\text{-криптоксантина_пальмитат})$$

хорошо заметны. Первый инкремент оказывается примерно на 5 % больше (что находится в соответствии с предложенной выше моделью) второго; абсолютное различие между ними (0.016 – 0.017) намного превышает погрешности экспериментального определения логарифмов факторов удерживания (0.002). Более того, это различие постоянно (в пределах указанной погрешности) в исследованном диапазоне составов подвижных фаз, что также подтверждает справедливость предложенной выше модели.

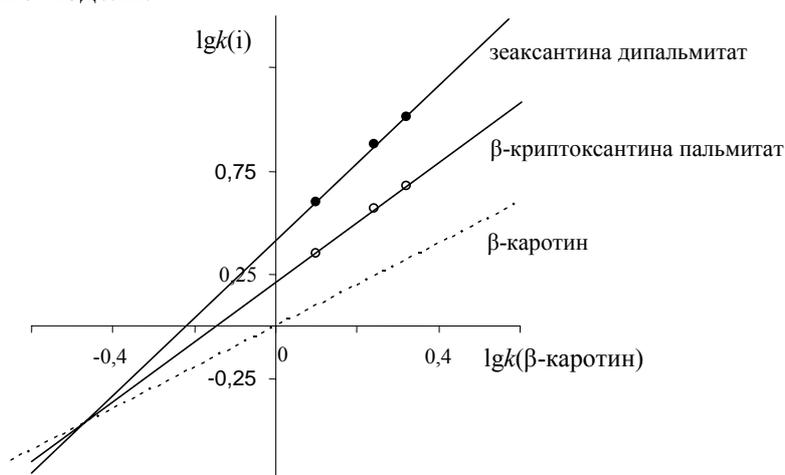


Рис.2. Удерживание пальмитатов зеаксантина и β-криптоксантина относительно β-каротина

Колонка: 250·4 мм, Кромасил-100-С18, 5 мкм;
элюенты системы «ацетон – ацетонитрил».

Поэтому можно рассчитывать только на одинаковое последовательное изменение тангенса угла наклона линий тренда для указанной последовательности. Для рассматриваемого случая было найдено:

$$\lg k(\beta\text{-криптоксантина_пальмитат}) = 0.2143 + 1.4407 \cdot \lg k(\beta\text{-каротин});$$

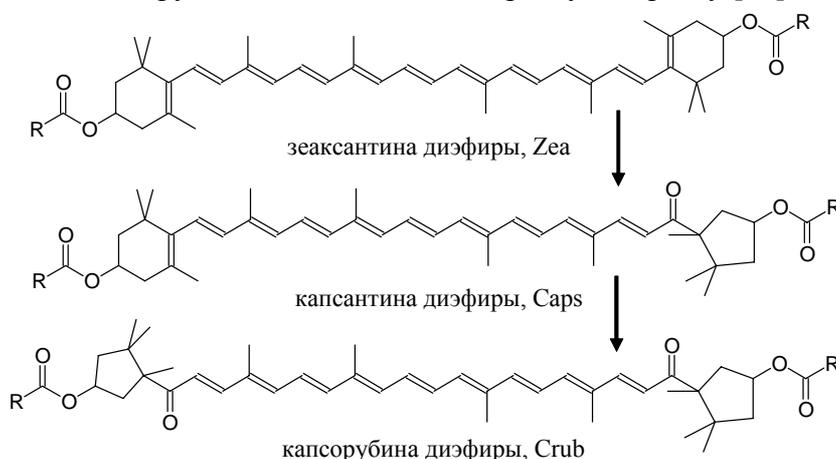
$$\lg k(\text{зеаксантина_дипальмитат}) = 0.4145 + 1.8741 \cdot \lg k(\beta\text{-каротин}).$$

Последовательное изменение тангенсов углов наклона составило 0.4407 и 0.8741; второе число отличается от удвоенного значения первого числа меньше, чем на 1 %, что уже может быть следствием погрешности определения параметров относительного удерживания.

Таблица 1. Инкременты для удерживания β -каротина, β -криптоксантина-пальмитата и зеаксантина дипальмитата в условиях ОФ ВЭЖХ в элюентах системы «ацетон-ацетонитрил»

| Инкремент | Параметры удерживания каротиноидов в элюентах с объемной долей ацетона: | | |
|-----------------------|---|-------|-------|
| | 100 % | 90 % | 85 % |
| Δ_1 | 0.257 | 0.325 | 0.354 |
| Δ_2 | 0.241 | 0.310 | 0.337 |
| $\Delta_1 - \Delta_2$ | 0.016 | 0.015 | 0.017 |

Для разделения некоторых троек гомологов исследование их удерживания при совместном присутствии невозможно вследствие наложения пиков различных эфиров. Например, использованный в данной работе красный перец, относится к объекту, каротиноиды которого наиболее часто исследовались в мировой практике: только в журнале «Journal of Agricultural and Food Chemistry» опубликовано более двух десятков работ посвященных исследованию этого источника каротиноидов. Объект интересен и в плане тематики данной работы, поскольку в нем может быть найдена тройка сорбатов: диэфиры капсорубина (А), диэфиры капсантина (Б) и диэфиры зеаксантина (В), которые в различном соотношении содержатся в плодах растения. При окраске в оранжевые цвета основными пигментами являются диэфиры зеаксантина. Кстати именно такие перцы являются наиболее полезными для профилактики возрастного заболевания зрительного аппарата. Диэфиры зеаксантина синтезируются в плодах перца из β -каротина, а при активации в тканях плода соответствующих ферментов зеаксантин постепенно превращается в капсантин и капсорубин, сообщая плодам красную окраску [13]:



В условиях обращено-фазовой ВЭЖХ такой спектр гомологов занимает большой интервал времен удерживания, что приводит в лучшем случае к сложной суперпозиции пиков [7], а в худшем – к созвучию ряда компонентов параллельных рядов гомологов. Тогда интерпретация хроматограмм существенно усложняется, вследствие чего обычная практика определения каротиноидов методом ВЭЖХ включает предварительное омыление экстракта пигментов [15]. Правда, при этом остается надеяться, что омыление в спиртовом растворе щелочи не затрагивает остальные функциональные группы и полученный продукт достоверно представляет исходный каротиноидный состав.

Альтернативой омылению может служить двухмерная хроматография в варианте «ортогонального» разделения [16]. Если в первом измерении проводить разделение в условиях нормально-фазовой хроматографии в условиях эффективности обычных ТСХ пластин, то для гомологов с достаточно длинными углеводородными радикалами удерживание будет определяться числом и видом полярных функциональных групп, мало завися от длины радикала. Затем для разделенных фракций в качестве второго измерения, ортогонального первому, можно воспользоваться обращено-фазовой хроматографией. Кстати, фракции, выделенные в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ, могут быть дополнительно исследованы спектрометрическими методами в УФ и видимой областях электромагнитного спектра (своего рода «третье измерение» с учетом высокой информативности спектров каротиноидов [17]).

На рис.3 представлены хроматограммы трех фракций, выделенных из суммы каротиноидов красного перца методом нормально-фазовой хроматографии в условиях: пластины Сорбфил для ТСХ 10×10 см, подвижная фаза 20 мл *n*-гексана + 2 мл ацетон:

- а) фракция диэфиров зеаксантина, $R_f = 0.85$, спектр I, рис.4;
- б) фракция диэфиров капсантина, $R_f = 0.60$, спектр II, рис.4;
- в) фракция диэфиров капсорубина, $R_f = 0.31$, спектр III, рис.4.

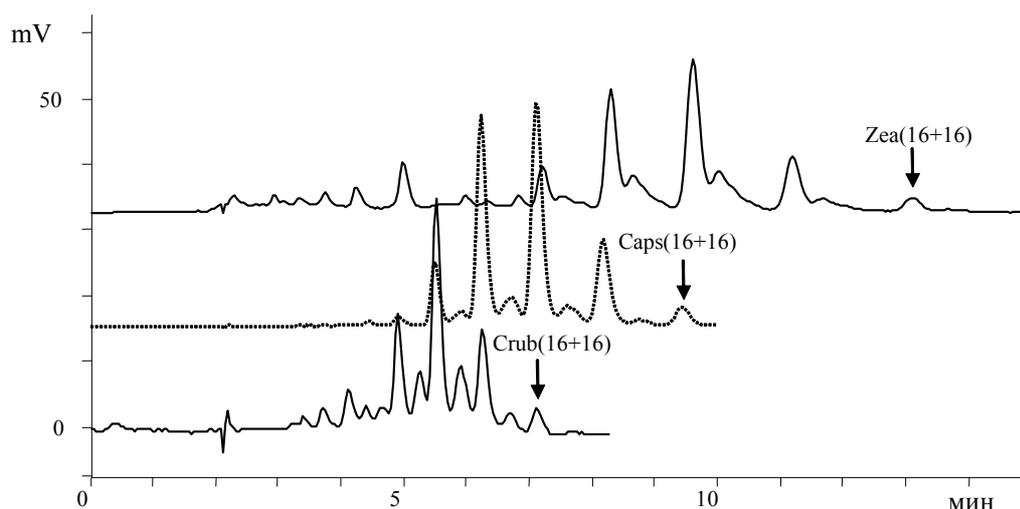


Рис.3. Разделение фракций гомологов зеаксантинового, капсантинового и капсорубинового рядов

Колонка: 250·4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; элюент 10 об.% ацетонитрила в ацетоне. Детектор: 445 нм.

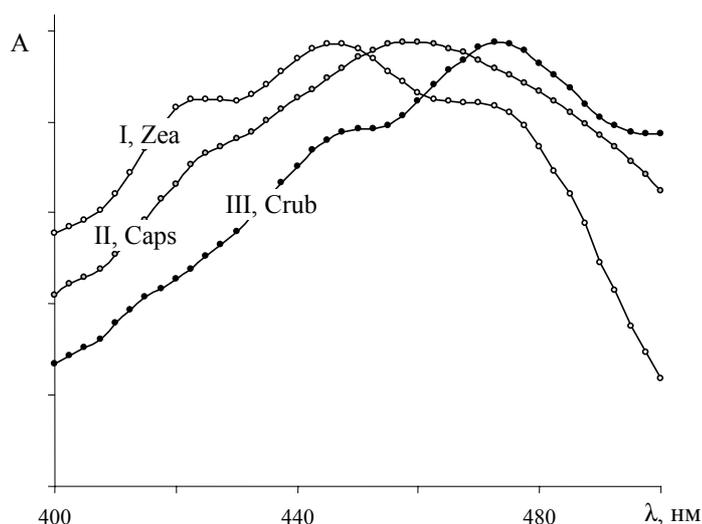


Рис.4. Спектры фракций каротиноидов после разделения методом ТСХ

При сопоставлении хроматограмм на рис.3 можно сделать вывод о том, что, во-первых, предположение о примерном постоянстве количественного соотношения типов диэфиров [17] внутри различных гомологов одного растительного материала в целом соблюдается и в случае диэфиров ксантофиллов сладкого перца. Во-вторых, кроме полностью *транс*-изомеров на хроматограммах присутствуют в заметном количестве и *цис*-изомеры, что подтверждается увеличением доли соответствующих пиков при записи хроматограмм при $\lambda = 340$ нм вследствие наличия так называемой *цис*-полосы поглощения [16]. В-третьих, пики диэфиров капсорубина практически совпадают (со смещением на два пика) с пиками диэфиров капсантина. Но диэфиры капсантина элюируются немногим раньше (при таком же смещении на два пика) пиков диэфиров зеаксантина, что подтверждает предложенную и рассмотренную выше модель, по которой $\Delta_2 < \Delta_1$. В рассматриваемом ряду диэфиров инкремент рассчитывается для однотипных диэфиров:

$$\Delta_1 = \lg k(\text{зеаксантина_диэфира}) - \lg k(\text{капсантина_диэфира}),$$

$$\Delta_2 = \lg k(\text{капсантина_диэфира}) - \lg k(\text{капсорубина_диэфира}).$$

По количественным параметрам удерживания гомологов индивидуально выделенных фракций диэфиров зеаксантина, капсантина и капсорубина, представленным в табл.2, можно сделать несколько выводов, полностью согласующихся с предложенной выше моделью. Во-первых, гомологическая разность (или инкремент на две метиленовые группы) остается постоянным (в пределах погрешности измерений (0.002) для трех гомологических рядов. Во-вторых, средние значения этих инкрементов постепенно уменьшаются от производных зеаксантина к производным капсорубина, что также является прямым следствием смещения точки конвергенции по оси абсцисс.

Поскольку среди сорбатов, представленных в табл.2, имеются различные типы эфиров, то в соответствии с уравнениями 1 и 2 инкременты должны зависеть от удерживания вещества сравнения, поэтому (в-третьих) Δ_1 и Δ_2 возрастают от дилауратов до дипальмитатов. Далее, как и следовало предполагать, $\Delta_1 > \Delta_2$ для всех типов эфиров, а $\Delta_1 - \Delta_2$ остается достаточно постоянным.

Таблица 2. Параметры удерживания диэфиров ксантофиллов *Capsicum annuum*

| Диэфиры | t_R , мин | $\lg k(i)$ | $\Delta(-CH_2CH_2-)$ | | |
|-------------------|-------------|------------|----------------------|------------|-----------------------|
| капсорубин | | | | | |
| Дилаурат | 4.37 | 0.175 | | | |
| Лаурат-мирикат | 4.88 | 0.253 | 0.077 | | |
| Димирикат | 5.49 | 0.330 | 0.077 | | |
| Мирикат-пальмитат | 6.23 | 0.408 | 0.078 | | |
| Дипальмитат | 7.09 | 0.485 | 0.076 | | |
| капсантин | | | | Δ_2 | |
| Дилаурат | 5.48 | 0.329 | | 0.153 | |
| Лаурат-мирикат | 6.22 | 0.407 | 0.079 | 0.155 | |
| Димирикат | 7.1 | 0.485 | 0.078 | 0.155 | |
| Мирикат-пальмитат | 8.16 | 0.564 | 0.079 | 0.156 | |
| Дипальмитат | 9.42 | 0.642 | 0.078 | 0.157 | |
| зеаксантин | | | | Δ_1 | $\Delta_1 - \Delta_2$ |
| Дилаурат | 7.18 | 0.492 | | 0.163 | 0.010 |
| Лаурат-мирикат | 8.27 | 0.571 | 0.079 | 0.164 | 0.009 |
| Димирикат | 9.58 | 0.651 | 0.080 | 0.165 | 0.010 |
| Мирикат-пальмитат | 11.2 | 0.731 | 0.080 | 0.167 | 0.012 |
| Дипальмитат | 13.1 | 0.811 | 0.080 | 0.169 | 0.012 |

Колонка: 250×4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; элюент: 10 об.% ацетонитрила в ацетоне.

Заключение

Для объяснения инкрементных соотношений в удерживании каротиноидов в работе предложена модель, учитывающая смещение координат точки конвергенции, хорошо согласующаяся с экспериментальными данными. Модель была проверена анализом параметров удерживания троек сорбатов из групп гомологов, выделенных из сложной смеси (пигментов сладкого перца) методом ортогональной хроматографии.

Список литературы

1. Smith R.M. Functional group contributions to the retention of analytes in reversed-phase high-performance liquid chromatography. // J. Chromatogr. A. 1993. v.656. P.381-415
2. Podlacha O., Toregard B. Some new observations on the equivalent carbon numbers of triglycerides and relationship between changes in equivalent carbon number and molecular structure // J. Chromatogr. 1989. v.482. P. 215-226.
3. Geeraert E., De Schepper D. Structure elucidation of triglycerides by chromatographic techniques. Part 2: RPHPLC of triglycerides and brominated triglycerides // J. High Resol. Chromatogr. CC. 1983. v.6. P. 123-132.
4. Lin J.-T., Snyder L. R., McKeon T.A. Prediction of relative retention times of triacylglycerols in nonaqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1998. v.808. P. 43-49.

5. Дейнека В.И., Староверов В.М., Фофанов Г.М., Балятинская Л.Н. Инкрементный подход при определении состава триглицеридов // Хим.-фарм. ж. 2002, т.36. №7. С. 44-47.
6. Дейнека В.И., Фофанов Г.М., Хлебников В.А., Балятинская Л.Н. Инкрементный подход в расчете жирнокислотного состава триглицеридов // Хранение и переработка сельхозсырья. 2002. №11. С.20-23.
7. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Инкрементный подход в анализе каротиноидов методом ОФ ВЭЖХ. Разделение диэфиров ксантофиллов. // Сорбц. и хроматограф. процессы. 2006. Т.6. №3. С. 366-375
8. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне. 1988. 390 с.
9. Colin H., Krstulović A.M., Gonnord M.-F., Guiochon G. Investigation of selectivity in reversed-phase liquid chromatography – effects of stationary and mobile phases on retention of homologous series. // Chromatographia. 1983. v.17(1). P. 9-15.
10. Дейнека В.И. Карта хроматографического разделения и инкрементные зависимости в методе относительного анализа удерживания в ВЭЖХ //Ж. физ. химии. 2006. т.80. №3. С. 511-516.
11. Дейнека В.И. Метод относительного анализа удерживания в ВЭЖХ. Сопоставление инкрементных зависимостей //Ж. физ. химии. 2006. т.80. №4. С. 704-708.
12. Weller P., Breithaupt D.E. Identification and Quantification of Zeaxanthin Esters in Plants Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry // J. Agric. Food Chem. 2003. v.51. P. 7044-7049
13. Minguez-Mosquera M.I., Hornero-Méndez D. Formation and Transformation of Pigments during the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. *Bola* and *Agridulce* // J. Agric. Food Chem. 1994. v.42. P. 30-44
14. Matsufuji H., Nakamura H., Chino M., Takeda M. Antioxidant Activity of Capsanthin and the Fatty Acid Esters in Paprika (*Capsicum annuum*) // J. Agric. Food Chem. 1998. v.46. P. 3468-3472
15. Ittah Y., Kanner J., Granit R. Hydrolysis Study of Carotenoid Pigments of Paprika (*Capsicum annuum* L. Variety Lehava) by HPLC/Photodiode Array Detection. // J. Agric. Food Chem. 1993. v.41. P. 899-901
16. Pellet J. et al “Ortogonal” separation for reversed-phase liquid chromatography. // J. Chromatogr. A. 2006. v.1101. P.122-135.
17. Rodrigues-Amaya D.B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods, ILSI Press, Washington. 2001. 64 p.

Дейнека Виктор Иванович – Доцент, д.х.н., доцент кафедры общей химии БелГУ, Белгород

Дейнека Людмила Александровна – к.х.н., доцент кафедры общей химии БелГУ, Белгород

Шаркунова Наталия Александровна – магистрант биолого-химического факультета БелГУ, г. Белгород

Deineka Victor Ivanovitch – Professor assistant, DrSci(Chemistry) Belgorod State University, E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Deineka Lyudmila A. – Professor assistant, PhD Belgorod State University, Belgorod

Sharkunova Natalia A. – Magistrant of Biological-Chemical Department Belgorod State University, Belgorod



УДК 544.723.2: 547.556.9

Сорбционно-аналитические свойства минеральных сорбентов с иммобилизованными гетарилформазаповыми группировками

Первова И.Г., Маслакова Т.И., Скорых Т.В.,
Мельник Т.А., Липунов И.Н.

Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург

Поступила в редакцию 24.03.2009 г.

Аннотация

Изучены сорбционные и комплексообразующие свойства модифицированных гетарилформазаповыми сорбентов на основе силикагеля ДИАСОРБ-100-ТА по отношению к ионам Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) и Pb(II) и установлены основные количественные характеристики сорбируемости ионов металлов. Предложен сорбент на основе 1-(4-сульфопенил)-3-метил-5-(бензоксазол-2-ил)формазапована для селективного извлечения ионов Pb(II), а также сорбент, имеющий в составе 1-(4-сульфопенил)-3-метил-5-(бензтиазол-2-ил)формазапован, – для извлечения ионов Zn(II), Cd(II) из смешанных растворов в статических условиях. Установлены оптимальные условия сорбируемости ионов металлов: pH среды, концентрация извлекаемого металла, кинетические зависимости.

Ключевые слова: модифицированные сорбенты, формазапован, сорбируемость, степень извлечения, комплексообразование, хромогенная реакция.

The sorption and complexforming properties in relation to ions Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Pb(II) of sorbents on a basis of silica gel DEASORB-100-TA modified by hetarylformazanes are investigated, and the general quantitative characteristics of metal ion sorbtive capacity are determinated. It has been suggested that the sorbent with 1-(4-sulfophenyl)-3-metyl-5-(benzoxazol-2-yl)formazane be used for selective extraction of ions Pb(II) and the sorbent having 1-(4-sulfophenyl)-3-metyl-5-(benzthiazol-2-yl)formazane - for extraction ions Zn(II) and Cd(II) from mixed solutions in static conditions. The optimum conditions for metal ion sorbtive capacity (pH, concentration of extrected metal ion, kinetic dependences) are established.

Key words: modified sorbents, formazane, sorbtive capacity, extraction ratio, complexforming, chromogenic reaction

Введение

В последнее время в практике анализа жидких сред широко используются комбинированные аналитические методы, которые позволяют сочетать сорбционное концентрирование и последующее определение в твердой фазе с помощью предварительно иммобилизованных реагентов [1-6]. Для модификации твердофазных матриц перспективно использование таких хелатообразующих систем, как гетарилформазапованы. Благодаря наличию определенных функционально-аналитических

групп, обуславливающих взаимодействие формазанов с определяемым элементом, они являются универсальными хромофорными реагентами. Возможность введения заместителей аналитико-активных групп в структуру формазановой молекулы позволяет целенаправленно воздействовать на химико-аналитические характеристики создаваемых модифицированных сорбентов с целью повышения избирательности извлечения ионов металлов, а также контрастности хромогенного эффекта при реакции комплексообразования в фазе сорбента [7, 8]. Кроме того, модифицированный сорбент может быть использован в качестве готовой аналитической формы для визуально-тестовых методов анализа и чувствительного элемента в оптических сенсорах.

В данной работе изучены сорбционные и комплексообразующие свойства модифицированных гетарилформазанами сорбентов на основе силикагеля по отношению к ионам Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) и Pb(II) с целью их использования в качестве твердофазных реагентов для извлечения и последующего аналитического определения металлов.

Эксперимент

Растворы и реагенты. В работе использованы реактивы марки «х.ч.». Растворы солей металлов ($100 \text{ мкг}\cdot\text{мл}^{-1}$) готовили растворением в дистиллированной воде точных навесок нитратов меди (II), никеля (II), свинца(II), хлоридов цинка(II), кадмия (II) и кобальта (II).

В качестве твердой фазы использовали силикагель с триметиламониевыми группировками (далее по тексту ДИАСОРБ-100-ГА).

Электронные спектры поглощения комплексных соединений фиксировали на спектрофотометре UV-5260 фирмы «Beckman». Спектры диффузного отражения измеряли на приборе Specord M-40, оснащенного приставкой в виде фотометрического шара. Для оценки аналитического сигнала в спектроскопии диффузного отражения использовали функцию Кубелки-Мунка.

Методика сорбции ионов металлов в статических условиях модифицированным силикагелем. 0.1 г исследуемого сорбента помещали в стеклянную плоскодонную колбу объемом 100 мл заливали 50 мл раствора соли соответствующего металла с установленной исходной концентрацией $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ и оптимальном значении pH. Кислотность растворов контролировали на иономере АНИОН-4100 со стеклянным электродом. Приготовленный раствор периодически перемешивали 15 мин до установления равновесия концентрации ионов металла во внешнем растворе электролита и в фазе сорбента. Остаточную концентрацию металла в равновесном растворе определяли методами комплексонометрического титрования и инверсионной вольтамперометрией. Для регистрации вольтамперограмм использовали вольтамперометрический анализатор «ИВА» (НПВП «ИВА», г. Екатеринбург). Вольтамперограммы регистрировали в трехэлектродной ячейке: рабочим электродом служил модифицированный толстопленочный углеродсодержащий электрод, вспомогательным электродом – стеклоуглеродный стержень; электродом сравнения – хлордисеребряный электрод в насыщенном RCl.

Величину сорбции (A , моль/г), константу сорбции (k , $\text{дм}^3/\text{моль}$) рассчитывали по формулам:

$$A = (c_0 - [c])V/m,$$

где c_0 и $[c]$ – исходная и равновесная концентрации адсорбата в растворе, М; V – объем раствора, дм^3 ; m – масса сорбента, г;

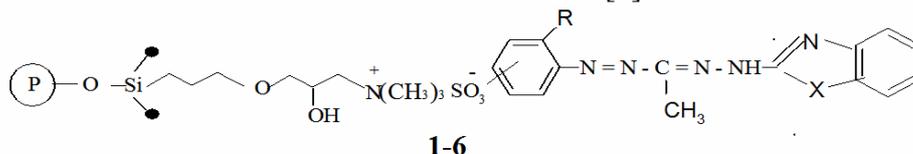
$$k = 1/ba_{\text{max}},$$

где a_{\max} – максимальная емкость сорбента, моль/г; b – отрезок, который отсекает прямая, построенная в координатах $[c]/a - [c]$.

Методика десорбции ионов металлов. К 0,1 г модифицированного сорбента прибавляли 25 мл буферного раствора с различным значением pH, перемешивали в течение 10 мин, отбирали аликвоту 5 мл и определяли остаточное содержание металла.

Результаты и их обсуждение

В работе использовались сорбенты 1-6, полученные по ионному механизму за счет сил электростатического взаимодействия по методике [7]:



№, X, R: **1**, O, H; **2**, O, OH; **3**, NCH₂C₆H₅, H; **4**, NCH₂C₆H₅, OH; **5**, S, H; **6**, S, OH;

Исходный сорбент ДИАСОРБ-100-ТА обладает сорбционными свойствами только по отношению к ионам Cu(II) и Zn(II), максимальная сорбционная емкость составляет $1 \cdot 10^{-6}$, $3 \cdot 10^{-6}$, моль/г, соответственно (табл. 1). Модифицированные сорбенты **1-6** были исследованы на сорбционную способность по отношению к ионам Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Cd(II), Pb(II).

Таблица 1. Сорбционные свойства модифицированных силикагелей

| Сорбент | Zn(II) | | | Cd(II) | | | Pb(II) | | |
|---------|--------------------------------------|---|---------|--------------------------------------|---|------|--------------------------------------|---|------|
| | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % |
| Исх. | 3 | 0,43 | 1,1 | - | - | - | - | - | - |
| 1 | 88 | 0,90 | 33 | - | - | - | 154 | 1,07 | 41 |
| 2 | 45 | 0,92 | 15 | - | - | - | 101 | 0,86 | 38 |
| 3 | 87 | 1,50 | 30 | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 80 | 1,60 | 27 | 85 | 1,28 | 31 | 56 | 1,19 | 20 |
| 5 | 136 | 0,94 | 47 | 113 | 1,15 | 41 | - | - | - |
| 6 | 74 | 1,40 | 21 | 4,3 | 0,53 | - | - | - | - |
| сорбент | Ni(II) | | | Co(II) | | | Cu(II) | | |
| | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % | $a_{\max} \cdot 10^{-6}$, МОЛЬ/Г | $k \cdot 10^5$, ДМ ³ /МОЛЬ | Г, % |
| Исх. | - | - | - | - | - | - | 1 | 0,24 | 0,43 |
| 1 | 5,0 | 0,28 | 2,4 | - | - | - | - | - | - |
| 2 | - | - | - | 10,0 | 0,41 | 3,4 | 6,5 | 0,38 | 2,8 |
| 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - | - | 11,5 | 0,52 | 5 |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 6 | - | - | - | - | - | - | 2,3 | 0,19 | 1 |

В результате иммобилизации формазановых группировок сорбенты **1-6** сохранили сорбционное сродство к ионам Zn(II). В то же время отмечено проявление сорбционной активности модифицированного силикагеля и по отношению к другим исследуемым металлам вследствие реакции комплексообразования с введенными формазановыми группами. Отмечено существенное влияние природы иммобилизованных функционально-активных группировок на максимальную сорбционную активность. Общей тенденцией следует считать снижение селективности и сорбционной емкости модифицированных сорбентов **2, 4, 6** в результате увеличения денатности, за счет введения дополнительной гидроксигруппы при N¹ в состав формазановой молекулы (табл. 1). Исключение составляет повышение сорбционных характеристик по отношению к ионам Cu(II).

Таблица 2. Спектральные характеристики сорбентов 1-6 и их металлокомплексов в растворе и на твердой фазе силикагеля. Состав формазанатов металлов M:L в растворе установлен методом насыщения.

| № соед. | λ_{\max} L, нм твердая фаза | Комплексное соединение | В растворе | | На силикагеле | | |
|---------|--|---------------------------|--|-----------|--|-----------|-----|
| | | | λ_{\max} к.с., нм ($\Delta\lambda$, нм) | M:L | λ_{\max} к.с., нм ($\Delta\lambda$, нм) | M:L | |
| 1 | 460 | Ni | 610 (150) | 1:1 | 610 (150) | 1:1 | |
| | | Zn | 475 (15) | 1:2 | 475 (15) | 1:2 | |
| | | Pb | 475 (15) | 1:2 | 476 (16) | 1:2 | |
| 2 | 470 | Cu | 500 (30) | 1:2 | 502 (32) | 1:1 | |
| | | | 530 (60) | 1:1 | | | |
| | | Zn | 530 (60) 550(80) | 1:2 | 530 (60) 550 (80) | 1:2 | |
| 3 | 470 | Pb | 570 (100) | 1:2 | 570 (100) | 1:2 | |
| | | | 660 (190) | | | | |
| 4 | 495 | Zn | 515 (45) | 1:2 | 515 (45) | 1:2 | |
| | | Cu | 540 (20) | 1:1 | 540 (20) | 1:1 | |
| | | | Zn | 515 (20) | 1:2 | 516 (21) | 1:2 |
| | | | Cd | 655 (160) | 1:1 | 655 (160) | 1:1 |
| 5 | 405 | Pb | 710 (215) | 1:1 | 710 (215) | 1:1 | |
| | | | Zn | 500 (95) | 1:2 | 503 (98) | 1:2 |
| 6 | 445 | Cd | 515 (110) | 1:1 | 515 (110) | 1:1 | |
| | | | Cu | 580 (135) | 1:1 | 580 (135) | 1:1 |
| | | Zn | 585 (140) | 1:1 | 585 (140) | 1:1 | |
| 6 | 445 | Cd | 580 (135) | 1:2 | 560 (115) | 1:1 | |
| | | | Cd | 580 (135) | 1:2 | 560 (115) | 1:1 |

Извлечение ионов металлов из растворов в результате процесса комплексообразования с иммобилизованными формазановыми группировками практически во всех случаях сопровождается хромогенной реакцией, что удобно для осуществления мониторинга за сорбционным процессом. Сродство всех исследуемых сорбентов к ионам Zn(II) характеризуется образованием на поверхности модифицированного силикагеля фиолетовых комплексных соединений, различных по оттенку ($\Delta\lambda=15-140$ нм) (табл. 2). Наиболее контрастные переходы окраски для бензоксазолсодержащих образцов наблюдаются для сорбента **1** при взаимодействии с ионами Ni(II) ($\Delta\lambda=150$ нм), а также сорбента **2** - с ионами Pb(II) ($\Delta\lambda=100$ нм). Сорбент **4**, содержащий в своем составе бензилбензимидазолформазан, превосходит

остальные сорбенты по результирующей контрастности реакции при взаимодействии с ионами металлов с завершённой d-электронной конфигурацией. Так, для него отмечены яркие сиренево-фиолетовые переходы с ионами Cd(II) и Pb(II) ($\Delta\lambda=160$ нм, 215 нм, соответственно). Для бензтиазолилсодержащих сорбентов **5**, **6** наблюдаются хромогенные реакции сине-сиреневой гаммы при взаимодействии с ионами Cu(II), Cd(II) и Pb(II) ($\Delta\lambda=115-140$ нм).

Состав комплексных соединений на минеральной подложке бензоксазолилсодержащих сорбентов **1**, **2** характеризуется преимущественно соотношением ML_2 , тогда как для сорбентов, содержащих бензилбензимидазолил-, бензтиазолилформазаны, в большинстве случаев реализуются комплексные соединения состава ML , что согласуется со спектральными данными металлокомплексов в водно-этанольном растворе (табл. 2). Максимум поглощения комплексных соединений на твердой фазе соответствует полосам поглощения соответствующих формазанатов в растворе. (табл. 2).

С целью установления оптимальных условий сорбционного взаимодействия ионов Pb (II) с модифицированным сорбентом **1**, а также ионов Zn(II), Cd(II) – сорбентом **5** была изучена зависимость сорбции ионов металлов ($C_M = 100$ мг/л) от концентрации металла в растворе. Предельная величина степени извлечения наблюдается при концентрации ионов металлов $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$, при соотношении $V:m=500$ и может быть визуалью зафиксирована на основании проявления окраски соответствующего металлокомплекса (табл. 2).

Влияние pH раствора сорбата на степень извлечения ионов Pb (II) сорбентом **1** и ионов Zn(II), Cd(II) сорбентом **5** представлено на рис. 1. Установлено, что максимальное извлечение ионов Pb (II) модифицированным сорбентом **1** (41%) достигается при pH $5,0 \pm 1,0$ (рис. 1, кривая 1). Для сорбента **5** при сорбции ионов Zn(II) плато оптимальной сорбции наблюдается при pH 5.0-6.0 (47%) (рис.1, кривая 2), тогда как максимальная степень извлечения ионов Cd(II) (41%) возможна при значении pH 5.5 ± 0.3 (рис.1, кривая 3), что соответствует оптимальным условиям комплексообразования формазанов с ионами металлов в растворе. Падение степени извлечения элементов формазансодержащими сорбентами при повышении кислотности среды, свидетельствует о переходе закрепленных функционально-аналитических группировок в ионизированную форму.

По форме кривых полученные зависимости извлечения ионов Pb(II) сорбентом **1** и ионов Zn(II), Cd(II) сорбентом **5** (рис. 2) могут быть отнесены к типу L4 и линеаризованы в координатах $[c]/a - [c]$, что подтверждает существование химического взаимодействия ионов металла с модификатором. Кривые такого типа характерны для веществ, взаимодействие между функциональными группировками которых пренебрежимо мало, и энергия активации не зависит от степени заполнения поверхности сорбента. Второе плато на изотермах сорбции может быть связано с образованием второго сорбционного слоя [9].

Для исследуемых сорбентов **1**, **5** была детально изучена зависимость полноты сорбции от продолжительности контакта насыщающего раствора с сорбентом в интервале 10-80 мин при оптимальном значении pH. Поверхностное расположение функциональных групп реагента на сорбенте обеспечивает высокие скорости установления сорбционного равновесия (через 10 мин после начала эксперимента) за счет комплексообразования иммобилизованных формазановых группировок с ионами металлов.

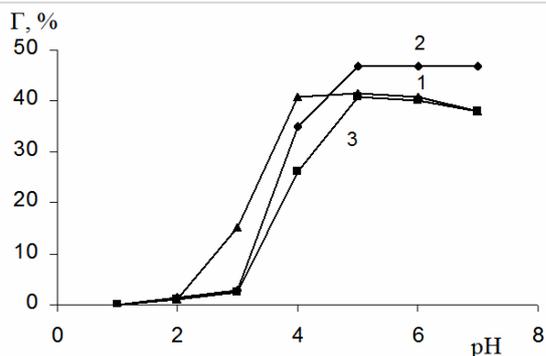


Рис. 1. Зависимости величины сорбируемости ионов Pb(II) сорбентом 1 (1), ионов Zn(II) сорбентом 5 (2), ионов Cd(II) сорбентом 5 (3) от pH раствора: $m_c = 0,1$ г; $V = 50$ см³, τ установления равновесия = 10 мин

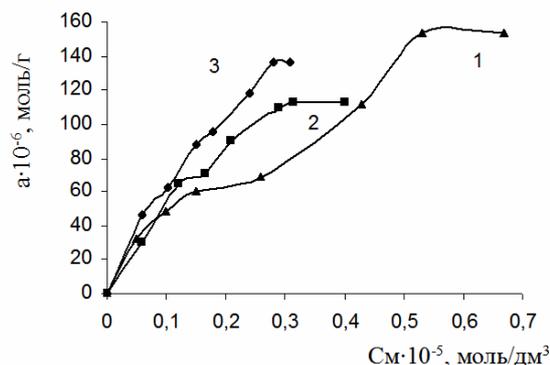


Рис. 2. Зависимости величины сорбируемости ионов Pb(II) сорбентом 1 (1), ионов Cd(II) сорбентом 5 (2) и ионов Zn(II) сорбентом 5 (3): pH $5,0 \pm 1,0$; $m_c = 0,1$ г; $V = 50$ см³, τ установления равновесия = 10 мин

Кинетические свойства сорбентов 1 и 5 подтверждены избирательной сорбцией ионов Pb(II) сорбентом 1 в присутствии эквивалентных количеств ионов Co(II) и Cd(II) (рис. 3, крив. 1) и ионов Zn(II) и Cd(II) сорбентом 5 в присутствии эквивалентных количеств ионов Ni(II), Co(II), Pb(II) (рис. 4, крив. 1, 2). Значения степени извлечения ионов Pb(II) сорбентом 1 и ионов Zn(II), Cd(II) сорбентом 5 из индивидуальных растворов за первые 10 мин практически равны степени извлечения данных элементов указанными сорбентами из смешенных растворов. Однако в присутствии ионов Zn(II) извлечение ионов Pb(II) сорбентом 1 (рис. 3, крив. 2) и ионов Cd(II) сорбентом 5 (рис. 4, крив. 3, 4) вдвое снижается, что связано с конкурентным взаимодействием при комплексообразовании ионов металлов с функционально-аналитическими группами сорбентов в процессе сорбции на матрицу из двухкомпонентной системы.

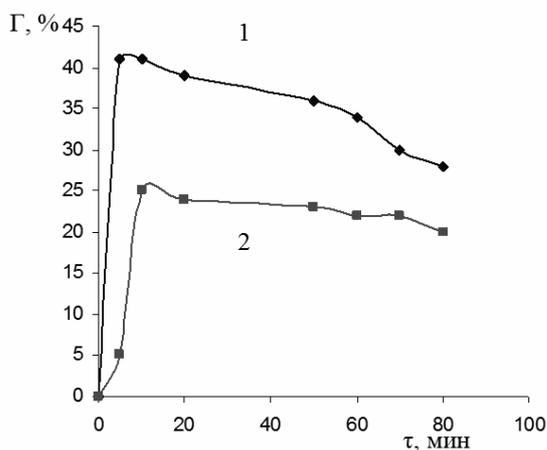


Рис. 3. Зависимости эффективности извлечения ионов Pb(II) сорбентом 1 от времени контакта фаз: $C_M = 100$ мг·л⁻¹; $V:m = 500$: 1 - в присутствии эквивалентных количеств ионов Co(II), Cu(II) и Cd(II); 2 - при совместном присутствии ионов Pb(II) и Zn(II) в эквивалентных количествах (2)

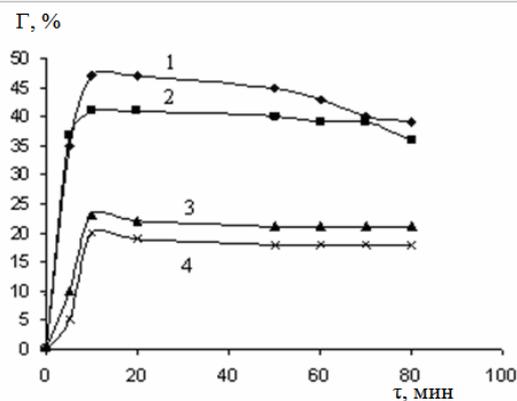


Рис. 4. Зависимости эффективности извлечения сорбентом 5 ионов ионов Cd(II) (1) и Zn(II) (2) в двухкомпонентной системе; Cd(II) (3) и Zn(II) (4) в присутствии эквивалентных количеств ионов Cu(II), Ni(II), Co(II), Pb(II) от времени контакта фаз: $C_M = 100$ мг·л⁻¹; $V:m = 500$

Десорбция. Для определения возможности многократного использования силикагеля, модифицированного гетарилформазаминами, изучена десорбция ионов Cu(II), Zn(II), Cd(II), Pb(II) при различных pH. Установлено, что ионы металлов количественно десорбируются при pH < 2. Однако в процессе десорбции элемента наблюдается вымывание формазановых молекул с поверхности носителя. Поэтому для восстановления первоначальных свойств минеральной матрицы регенерацию использованного сорбента рекомендуется осуществлять в динамическом режиме путем пропускания 100 мл 0.1н HCl через слой силикагеля массой 0.5 г до обесцвечивания минерального носителя. После обработки сорбента дистиллированной водой до нейтральной реакции и сушки на воздухе силикагель может быть использован для повторного модифицирования формазановыми группировками.

Таким образом, использование модифицированных формазановыми группировками минеральных сорбентов позволяет сочетать операции селективного извлечения ионов металлов с их последующим определением в фазе сорбента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 07-03-12050офи и № 08-03-13512офи_ц).

Список литературы

1. Иванов В.М., Полянсков Р.А. Имобилизованный на силикагеле висмутол I как реагент для сорбционно-спектроscopicкого определения висмута(III). // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2006. Т.47. № 3.
2. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Раздельное определение 4-(2-тиазолилазо)резорцинатов никеля, цинка, и кобальта в фазе сорбента методом цветометрии. // ЖАХ. 2000. Т. 55. № 9. С. 998-1003.
3. Запорожец О.А., Цюкало Л.Е. Тест-определение свинца и цинка в воде с использованием иммобилизованного на кремнеземе ксиленолового оранжевого. // ЖАХ. 2004. Т. 59. № 4. С. 434-439.
4. Корнеев С.В., Холин Ю.В., Галян Ю.А. Визуальное обнаружение Cu(II), Zn(II), Pb(II) с помощью гибридного материала, полученного сорбционной иммобилизацией ксиленолового оранжевого на силикагеле. // Вісник Харківського національного університету. 2005. № 669. Хімія. Вип. 13 (36).
5. Запорожец О.А., Иванько Л.С., Марченко И.В., Сухан В.В. Определение циркония иммобилизованным на силикагеле морином. // ЖАХ. 2000. Т. 55. № 6. С. 602-606.
6. Сухан В.В., Запорожец О.А., Верба В.В., Очерedyкo Т.А. Сорбционно-спектрофотометрическое и визуальное тест-определение урана с использованием модифицированного силикагеля. // XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Москва. 2007.
7. Мельник Т.А., Первова И.Г., Маслакова Т.И., Скорых Т.В., Липунов И.Н. Сорбенты для хроматографического разделения и сорбционного концентрирования токсичных металлов из разбавленных растворов. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. Вып. 6. С. 423-429.
8. Первова И.Г., Липунова Г.Н., Мельник Т.А., Липунов И.Н., Сигейкин Г.И. Синтез и сорбционные свойства «наполненных» волокнистых сорбентов с иммобилизованными гетарилформазановыми группировками. // ЖПХ. 2003. Т. 76. Вып. 7. С. 1088-1091.
9. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел: Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. 475 с.

Первова Инна Геннадиевна – д.х.н., проф. кафедры физико-химических технологий защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета, телефон: (343) 262-96-50

Маслакова Татьяна Ивановна – к.х.н., доцент кафедры физико-химических технологий защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Скорых Татьяна Владимировна – аспирант кафедры физико-химических технологий защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Мельник Татьяна Анатольевна - к.х.н., доцент кафедры физико-химических технологий защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Липунов Игорь Николаевич – профессор, зав. кафедры физико-химических технологий защиты биосферы Уральского государственного лесотехнического университета

Pervova Innf G. – Dr.Sci.Chem, professor Chair of Physic-Chemical Technology of environmental protection Department, Ural state forest engineering university, Ekateriburg, e-mail: biosphera@usfeu.ru

Maslakova Tatiana I. – senior lecturer Chair of Physic-Chemical Technology of environmental protection Department, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Skorych Tatiana V. – post gradueter student Chair of Physic-Chemical Technology of environmental protection Department, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Mel'nik Tatiana A. - senior lecturer Chair of Physic-Chemical Technology of environmental protection Department, Ural state forest engineering university, Ekateriburg

Lipunov Igor N. – professor, Head of Chair of Physic-Chemical Technology of environmental protection Department, Ural state forest engineering university, Ekateriburg



УДК 543.054+543.635.62

Нанопористые золь-гель материалы с иммобилизованными антителами для иммуноаффинного концентрирования пирена

Русанова Т.Ю., Левина Н.А., Юрасов Н.А., Горячева И.Ю.

ГОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Саратов

Поступила в редакцию 14.04.2009 г.

Аннотация

Предложен подход к иммуноаффинному концентрированию пирена из водных растворов, основанный на использовании сорбентов, полученных по золь-гель технологии и содержащих специфичные к пирену антитела. Показано, что полученные золь-гель материалы обладают высокой сорбционной емкостью, возможностью многократного использования (до 12 циклов сорбция/десорбция), позволяют выделять пирен из его разбавленных растворов с фактором концентрирования 100 при степени извлечения 96 %.

Ключевые слова: иммуноаффинные колонки, золь-гель технология, пирен

The approach for immunoaffinity preconcentration of pyrene from aqueous solutions was developed on the basis of sol-gel sorbents with specific anti-pyrene antibodies. It was shown that prepared sol-gel materials are characterized by high capacity and possibility for repeated application (to 12 absorption/desorption cycles). Pyrene could be isolated and enriched by a factor of 100 and recovery 96 %.

Key words: immunoaffinity columns, sol-gel technology, pyren

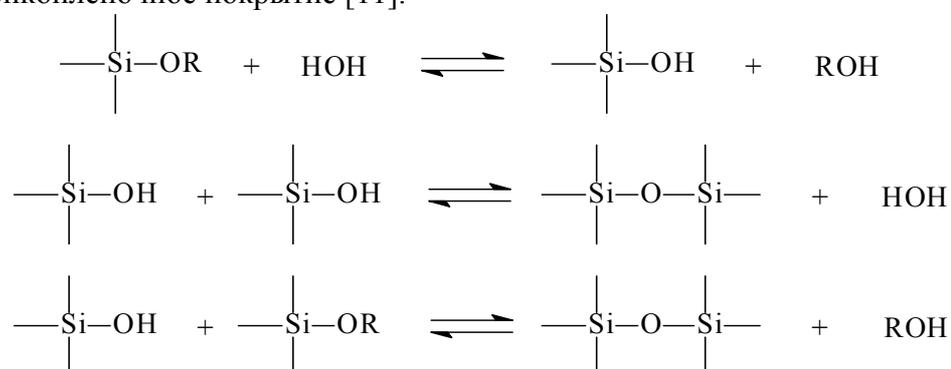
Введение

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) относятся к наиболее распространенным, приоритетным загрязнителям окружающей среды и обладают высокой канцерогенной и мутагенной активностью [1]. В связи с этим возникает необходимость мониторинга окружающей среды и контроля содержания ПАУ в питьевой воде и других объектах. Чаще всего для определения ПАУ используют хроматографические методы анализа с предварительным концентрированием методом твердофазной экстракции. В качестве твердофазных сорбентов используют различные материалы, например, фторуглеродный полимер [2], наночастицы серебра [3], сигаретные фильтры [4], хлопок [5] и т.д. В последние годы все большую популярность приобретает метод иммуноаффинного концентрирования благодаря своей высокой специфичности, эффективности извлечения аналитов из сложных смесей и высокой степени очистки пробы от мешающих компонентов. Получение сорбентов для иммуноаффинных колонок обычно основано на ковалентном связывании антител с полимерными материалами различной природы,

например, производными сефарозы [6]. Перспективными для применения в этой области являются и нанопористые золь-гель материалы, содержащие антитела внутри полимерной сетки [7-10]. Целью данной работы явилось получение золь-гель материалов на основе тетраметоксисилана (ТМОС), содержащих специфичные антитела к пирену, а также оценка возможности их использования в качестве сорбентов в иммуноаффинных колонках для выделения и концентрирования пирена из водных растворов с последующим хроматографическим определением.

Теоретическая часть

Принцип золь-гель процесса заключается в переходе жидкого раствора алкоксида кремния (например, ТМОС) в гель в результате реакций гидролиза и поликонденсации, который затем превращается в монолитный композит, порошок или тонкопленочное покрытие [11].



Золь-гель материалы отличаются простотой получения, оптической прозрачностью, твердостью, химической и термической стойкостью, а также обеспечивают удобный способ включения в них различных аналитических реагентов, в том числе и биомолекул (ферментов, антител, а иногда и целых клеток) с целью дальнейшего использования в биосенсорах, методах разделения и концентрирования и т.д. [12,13]. Благодаря определенному размеру пор биомолекулы удерживаются внутри полимерной сетки, в то время как небольшие молекулы способны диффундировать сквозь материал (рис. 1). Можно отметить следующие наиболее важные преимущества использования золь-гель материалов для иммобилизации биомолекул:

- регулируемый размер пор (путем изменения соотношения Si/H₂O и условий проведения реакций);
- сохранение биомолекулами своих функций (ферменты сохраняют каталитическую способность, антитела – способность к иммунохимическому взаимодействию, клетки остаются жизнеспособными);
- жёсткая структура полимерной сетки геля затрудняет вымывание биомолекул;
- матрица геля оказывает защитное действие для биомолекулы (от мешающих компонентов образца, биодеградации и т.д.), обеспечивая при этом бóльший срок ее службы;
- поры геля заполнены водным раствором, за счет чего находящиеся внутри пор антитела сохраняют свою специфичность и аффинность;
- гидрофильная силикатная матрица уменьшает неспецифическую сорбцию неполярных соединений.

Принцип действия иммуоаффинной колонки представлен на рис. 2. Специфичные к аналиту антитела в избыточном количестве иммобилизованы на сорбенте. Жидкая проба вводится в колонку, при этом аналит (антиген) образует комплекс с антителами и, таким образом, прочно удерживается на сорбенте. Физически адсорбированные примеси удаляют промывкой колонки водными растворами (возможна добавка небольших количеств органических растворителей), а затем проводят элюирование аналита органическими растворителями, которые разрушают иммуокомплекс антиген-антитело [14]. Высокая специфичность антител и высокие константы связывания ими антигенов обеспечивают улучшенные характеристики разделения и концентрирования при использовании иммуоаффинных колонок.

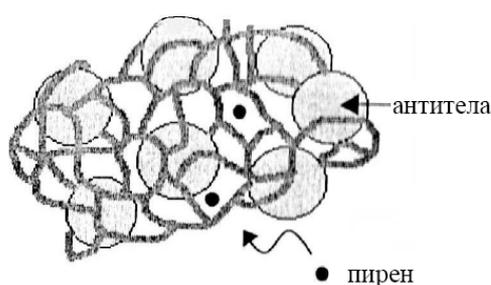


Рис. 1. Схематическое представление золь-гель материала с иммобилизованными антителами

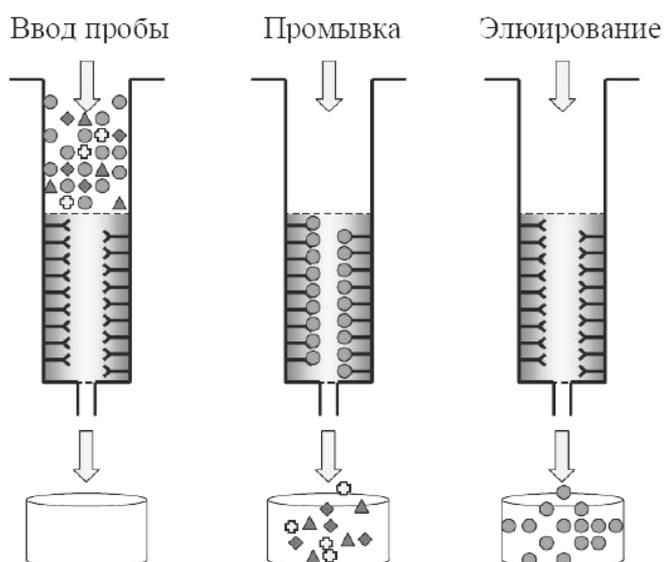


Рис. 2. Принцип действия иммуоаффинной колонки Y – антитела, ● – пирен, ▲ ◆ + – примеси

Эксперимент

В работе были использованы следующие реагенты и материалы: тетраметоксисилан $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$ (Sigma, Бельгия, 99 %); пирен (“Fluka”, Германия, марка “*purum*” (99.9 %)); поликлональные антитела к пирену (любезно предоставлены R. Niessner и D. Knopp, Институт гидрохимии и химической бальнеологии, Технический Университет Мюнхена, Германия); полиэтиленгликоль 400 (“Federa”, Бельгия); ацетонитрил (HPLC-gradient grade, “Panreac”, Испания); колонки на 1 мл (Bond Elut, “Varian”) и полиэтиленовые пористые фильтры (диаметр 1/4 дюйма) (“Varian”).

В качестве промывочного буфера и для разбавления антител использовался фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ) 0.01 М, pH 7.4. Исходный раствор пирена готовили растворением навески сухого вещества в ацетонитриле, рабочие растворы готовили в смеси ацетонитрил : вода в соотношении 1:9.

Для определения концентрации пирена использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию со спектрофотометрическим детектированием (хроматографическая система Стайер, “Аквилон”, Россия). Разделение проводилось на колонке Luna 5 мкм C18(2) 15 см × 4.6 мм (“Phenomenex”) при комнатной

температуре и скорости потока 1 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрил : вода в соотношении 80 : 20. Объем пробы составлял 20 мкл. Регистрацию проводили при $\lambda=234$ нм.

Приготовление сорбента с иммобилизованными антителами осуществляли следующим образом. ТМОС и 2.5 мМ HCl в молярном соотношении Si : H₂O = 1 : 8 в присутствии 10 % ПЭГ-400 встряхивали в течение 1 мин и выдерживали в УЗ-ванне (Сапфир, рабочая частота 35 кГц) 30 мин. Затем добавляли равный объем раствора антител (10 мкг/мл, рН 7.4). Раствор перемешивали в течение 5 сек и оставляли на 10 мин до гелеобразования. Образовавшийся гель промывали ФСБ и выдерживали в холодильнике (4°C) под слоем ФСБ в течение 24 часов. Через сутки гель (0,27 г) размельчали и помещали в стандартную колонку для твердофазной экстракции между двумя пористыми фильтрами. Для измерения удельной площади поверхности и размера пор сорбента использовали анализатор Quantochrome Nova.

Обсуждение результатов

При получении золь-гель материалов с иммобилизованными антителами за основу был взят метод, описанный в работе [10] и использованный для концентрирования тринитротолуола. Однако в данном случае в золь-гель матрицу были иммобилизованы антитела, специфичные к пирену. Необходимо отметить, что процедура получения золь-гель материала проводится в две стадии, на первой из которых получается золь на основе ТМОС и водного раствора кислоты, а раствор антител вводится в реакционную смесь на второй стадии, чтобы предотвратить воздействие на антитела УЗ-облучения. Параметры полученного геля, измеренные с использованием анализатора удельной площади поверхности и размера пор Quantochrome Nova, представлены в таблице.

Эксперименты по сорбции пирена полученным золь-гель сорбентом осуществляли в динамических условиях. Водные растворы пирена, содержащие 10 % ацетонитрила, пропускали через колонку с помощью шприца со скоростью 1 капля в секунду. Затем колонку промывали фосфатно-солевым буферным раствором и далее элюировали пирен органическим растворителем. Концентрацию пирена на выходе из колонки и в элюате определяли хроматографически. Нижняя граница определяемых содержаний пирена с использованием ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием составила 15 нг/мл.

На первом этапе работы показано, что при пропускании 1 мл раствора пирена с концентрациями от 50 до 1000 нг/мл, через колонку, наполненную золь-гель сорбентом (50 мг в пересчете на сухой материал), пирен сорбируется практически полностью. Доля сорбированного пирена, рассчитанная на основе площадей хроматографического пика для растворов до и после колонки, представлена в табл. 2. Более высокие концентрации не изучались ввиду следовых количеств пирена в объектах окружающей среды и его низкой растворимости в водных растворах.

Таблица 1. Характеристики сорбента, полученного по золь-гель технологии

| | |
|---|------|
| Удельная площадь поверхности, м ² /г | 472 |
| Объем пор, м ³ /г | 0,25 |
| Средний радиус пор, нм | 1,6 |

После промывки колонки 2 мл фосфатно-солевого буферного раствора, пирен элюировали органическим растворителем, приводящим к разрушению

иммунокомплекса антиген-антитело [14]. В качестве возможных элюентов апробированы ацетонитрил и этанол. Как видно из рис. 3 практически полная десорбция пирена из колонки достигалась при элюировании 2 мл ацетонитрила, что и использовалось нами в дальнейших экспериментах.

Таблица 2. Сорбция пирена золь-гель сорбентом, содержащим антитела

| Масса пирена, введенного в колонку, нг | Доля сорбированного пирена, % |
|--|-------------------------------|
| 50 | 100 |
| 100 | 100 |
| 500 | 98 |
| 1000 | 97 |

Использованные колонки регенерировали пропусканием избытка органического растворителя и фосфатно-солевого буферного раствора и повторяли сорбцию. На рис. 4 представлена зависимость степени извлечения пирена из раствора с концентрацией 50 нг/мл при многократном использовании колонки. Как видно из рисунка, колонки позволяют проводить до 12 циклов сорбция-десорбция без потери сорбционной активности.

Контроль вымывания антител из колонки проводили методом абсорбционной УФ-спектроскопии ($\lambda = 280$ нм). Показано, что вымывания антител при промывке колонки как водными, так и органическими растворами не происходит.

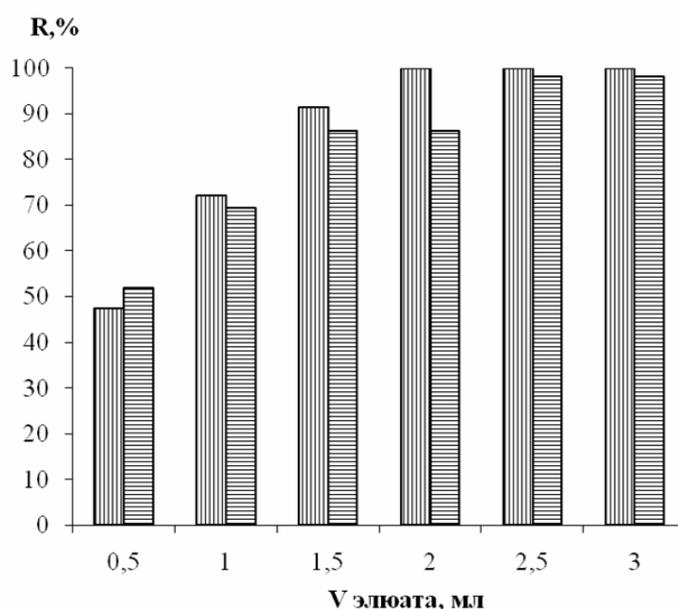


Рис. 3. Степень извлечения пирена (после пропускания 1 мл раствора с $C_{исх}=50$ нг/мл) при элюировании различными объемами ацетонитрила (вертикальная штриховка) и этанола (горизонтальная штриховка)

Для оценки неспецифической сорбции пирена на золь-гель сорбенте проводили эксперименты с использованием золь-гель материала, приготовленного по такой же методике, но без введения антител. Так, при пропускании 250 мл раствора пирена с концентрацией 0,5 нг/мл доля сорбции пирена на колонке с антителами и без антител составила 96 и 47 % соответственно, что говорит о значительном вкладе иммунохимического взаимодействия в удержание пирена на сорбенте.

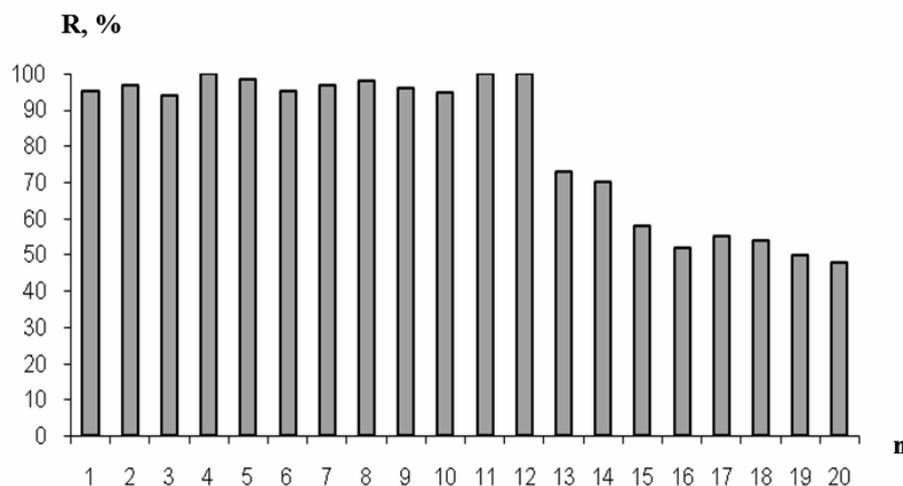


Рис. 4. Степень извлечения пирена ($C_{исх}=50$ нг) при многократном использовании колонки

Степень извлечения пирена из водных растворов различной концентрации с использованием разработанной иммуноаффинной колонки представлена в табл. 3. Как видно из таблицы, колонки позволяют концентрировать пирен из растворов, содержащих до 125 нг с высокой степенью извлечения. При этом величина фактора концентрирования пирена из его растворов с концентрацией 0,5 нг/мл достигает 100 (при пропускании 250 мл раствора и его элюировании 2,5 мл растворителя) при степени извлечения 96 %. После предварительного выделения и концентрирования пирена из анализируемых водных растворов определяли его содержание методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Таблица. 3. Степень извлечения пирена из водных растворов

| Объем раствора, мл | Концентрация раствора, нг/мл | Масса пирена в растворе, нг | Масса пирена в элюате, нг | Степень извлечения, % |
|--------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 10 | 10 | 100 | 104 | 104 |
| 10 | 5 | 50 | 49.6 | 99 |
| 20 | 5 | 100 | 92.8 | 93 |
| 100 | 5 | 500 | 295 | 59 |
| 250 | 0,5 | 125 | 120 | 96 |
| 500 | 0,5 | 250 | 167 | 67 |

Заключение

Получены золь-гель материалы на основе тетраметоксисилана, содержащие антитела специфичные к пирену. Показано, что полученные материалы могут быть использованы в качестве сорбентов для иммуноаффинных колонок с высокой сорбционной емкостью и возможностью многократного использования (до 12 циклов). Выбраны оптимальные параметры элюирования пирена из колонки. Величина фактора концентрирования пирена из его растворов с концентрацией 0,5 нг/мл достигает 100 при степени извлечения 96 %. Показано, что иммобилизованные антитела прочно удерживаются в золь-гель матрице, сохраняя свою активность и стабильны по отношению к органическим растворителям.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 08-03-00725.

Список литературы

1. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксиантов. М.: Химия, 1996. 319 с.
2. Oliferova L., Statkus M., Tsysin G., Shpigun O., Zolotov Yu. On-line solid-phase extraction and HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using fluorocarbon polymer sorbents // *Anal. Chim. Acta*. 2005. Vol. 538. P. 35–40.
3. Romanovskaya G.I., Olenin A.Yu., Vasil'eva S.Yu., Krutyakov Yu.A. Chemically modified silver nanoparticles as a new sorbent for preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons from aqueous solutions // *Doklady Chemistry*. 2008. Vol. 422. No. 1. P. 236–239.
4. Hua-Ding Liang, De-Man Han, Xiu-Ping Yan. Cigarette filter as sorbent for on-line coupling of solid-phase extraction to high-performance liquid chromatography for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water // *J. Chromatogr. A*. 2006. Vol. 1103. P. 9–14.
5. Jing-fu Liu, Yu-guang Chi, Gui-bin Jiang, Chao Tai, Jing-tian Hu. Use of cotton as a sorbent for on-line precolumn enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters prior to liquid chromatography determination // *Microchem. J.* 2004. Vol. 77. P. 19–22.
6. Cun Li, Zhanhui Wang, Xingyuan Cao, Ross C. Beier, Suxia Zhang, Shuangyang Ding, Xiaowei Li, Jianzhong Shen. Development of an immunoaffinity column method using broad-specificity monoclonal antibodies for simultaneous extraction and cleanup of quinolone and sulfonamide antibiotics in animal muscle tissues // *J. Chromatogr. A*. 2008. Vol. 1209. P. 1–9.
7. Schoringhumer K., Cichna-Markl M. Sample clean-up with sol-gel enzyme and immunoaffinity columns for the determination of bisphenol A in human urine // *Journal of Chromatography B*. 2006. Vol. 850. № 1-2. P. 361–369.
8. Brenn-Struckhova Z., Cichna-Markl M., Bo1hm C., Razzazi-Fazeli E. Selective sample cleanup by reusable sol-gel immunoaffinity columns for determination of deoxynivalenol in food and feed samples // *Anal. Chem.* 2007. Vol. 79, p. 710–717.
9. Pulido-Tofino P., Barrero-Moreno J.M., Perez-Conde M.C. Analysis of isotretinoin at trace level by solid phase competitive fluoroimmunosensing after enrichment in a sol-gel immunosorbent // *Analytica Chimica Acta*. 2006. Vol. 562. P. 122–127.
10. Altstein M., Bronshtein A., Glattstein B., Zeichner A., Tamiri T., Almog J. Immunochemical approaches for purification and detection of TNT traces by antibodies entrapped in a sol-gel matrix // *Anal. Chem.* 2001. Vol. 73. P. 2461–2467.
11. Brinker C.J., Sherer G.W. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Academic Press, San Diego, 1990.
12. Lev O., Tsionsky M., Rabinovich L., Glezer V., Sampath S., Pankratov I. Organically modified sol-gel sensors // *Anal. Chem.* 1995. Vol. 67. P. 22A–30A.
13. Collinson M.M. Recent trends in analytical applications of organically modified silicate materials // *Trends Anal. Chem.* 2002. Vol. 21. P. 30–38.
14. Егоров А.М., Осипов А.П. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991, 288 с.

Русанова Татьяна Юрьевна - к.х.н., доцент кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета, тел. (факс) (8452)516960

Rusanova Tatiana Yu. – PhD, assoc. professor of analytical chemistry and chemical ecology department, Saratov state university, e-mail: tatyanar@mail.ru

Левина Надежда Алексеевна - студентка химического факультета СГУ

Юрасов Николай Александрович - аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии СГУ

Горячева Ирина Юрьевна - д.х.н., профессор кафедры общей и неорганической химии СГУ

Levina Nadezhda A. – student of chemical department, Saratov state university, e-mail: lna1988@mail.ru

Yurasov Nikolai A. – post-graduate student of analytical chemistry and chemical ecology department, Saratov state university

Goryacheva Irina Yu. – D.Sci.(Chemistry), professor of common and inorganic chemistry department, Saratov state university, e-mail: goryachevaiy@info.sgu.ru



УДК 541.64

Изостерические теплоты сорбции углеводородов, спиртов и воды на кремнеземе, импрегнированном серебром

Котельникова Т.А., Кузнецов Б.В., Муравьева Г.П.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва.

Поступила в редакцию 14.04.2009 г.

Аннотация

Методом обращенной газовой хроматографии получены изостерические теплоты сорбции воды и органических веществ разных классов на широкопористом кремнеземе, импрегнированном наночастицами металлического серебра. Показано, что поверхность такого силохрома гидрофобна в высокой степени, теплоты неспецифически сорбирующихся веществ очень высоки.

Ключевые слова: газовая хроматография, силохром, наночастицы серебра, теплота сорбции.

By method of the reversed gas chromatography are received isosteric heats of sorption of hydrocarbons, alcohols and waters by silochrom, modified by metallic silver. It is shown, that surface such silochrom is hydrophobic in a high degree, and heats of non-specific interaction sorption are very high.

Key words: a gas chromatography, silochrom, nanoparticles of silver, heat of sorption

Введение

Особенный интерес к нанохимии и появление большого количества композитных материалов, в которых сочетаются совершенно разные по свойствам вещества, сделали злободневной задачу описания природы, энергетики и топографии активных центров поверхности твердых тел. Эти характеристики материала определяют его свойства в межфазных процессах, таких как адсорбция, катализ и т.п.

В качестве инструмента для изучения этих величин в данной работе использован предложенный авторами [1] вариант обращенной газовой хроматографии, позволяющий получать изостерические, отнесенные к определенной степени заполнения поверхности сорбента, характеристики сорбции низкомолекулярных веществ – молекулярных зондов. Наиболее корректной и информативной величиной при описании поверхности неоднородного сорбента является изостерическая теплота сорбции. Объектом исследования был образец кремнезема с нанесенными на поверхность микрочастицами металлического серебра.

Эксперимент

Были изучены химически чистый крупнопористый кремнезем марки силохром С-120 (образец С-120) и этот же кремнезем с нанесенными на поверхность микрочастицами металлического серебра (образец С-120-Ag). Характеристики исходного силохрома: поверхность – 120 м²/г, средний диаметр пор 20-30 нм, гранул – 0,16-0,20 мм [2]. Перед измерениями образец С-120 прокаливали при 450°С в течение 3-х часов. Образец С-120-Ag готовили следующим образом: исходный силохром С-120 помещали в круглодонную колбу и при непрерывном встряхивании по каплям добавляли водный 10% раствор нитрата серебра до того момента, когда зерна силохрома начали прилипать к стенкам колбы. Этот момент означает достижение полного заполнения пор силохрома раствором.

Далее образец высушивали на воздухе при 120-140° и прокаливали на воздухе при 450° в течение 3-х часов для разложения нитрата до металлического серебра. Массовое содержание серебра в силохроме составило 8% мас. Диаметр частиц металлического серебра по данным рентгенографии - 14 нм. Рентгенографическое исследование проводили на дифрактометре ДРОН-3М в отфильтрованном Со-излучении, расчет размеров частиц основан на анализе формы дифракционных линий. При расчете использовали формулу Селякова-Шеррера: $D = 0,94\lambda/\beta\cos\theta$, где: λ - длина волны рентгеновского излучения, β - интегральная ширина линии, θ - угол Вульфа – Брэгга.

Хроматографические опыты проводили на газовом хроматографе ЛХМ—8МД, с детектором по теплопроводности. Условия опыта: газ-носитель – гелий, расход гелия 30 мл/мин, детектор по теплопроводности, ток моста – 100 ма, температуры опыта - 99, 120, 140 и 164°С. Перед измерениями образцы кондиционировали в хроматографической колонке в токе газа-носителя при температуре опыта в течение 2 час. Опыты на обоих образцах проводили на параллельных колонках с приблизительно одинаковой массой наполнителя, что позволило при обсуждении результатов сопоставлять некоторые данные, взятые непосредственно из опыта.

В качестве сорбатов - индикаторов природы активных сорбционных центров, так называемых молекулярных зондов, использовали низкомолекулярные вещества, способные к разным типам межмолекулярных взаимодействий: *n*-алканы (*n*-гексан - *n*-нонан), алкены (*n*-октен-1), ароматические углеводороды (бензол), нормальные предельные одноатомные спирты (метанол, этанол, бутанол-1) и воду.

При выборе сорбатов и обсуждении результатов учитывали, что прокаливание исходного гидратированного кремнезема при 200°С удаляет сорбированную воду. Концентрация поверхностных гидроксильных групп полностью гидроксильированного аморфного кремнезема составляет ~8 мкмоль/м². При прокаливании при 450°С гидроксильный покров кремнезема в значительной мере удаляется, и концентрация поверхностных гидроксильных групп такого образца снижается до ~3 мкмоль/г [3]. Таким образом поверхность образца С-120 состоит из гидрофобных силоксановых участков и остаточных гидроксильных групп. При этом надо учитывать, что при прокаливании с поверхности кремнезема в первую очередь удаляются соседние гидроксилы, связанные водородной связью. Поверхность импрегнированного металлом кремнезема С-120-Ag содержит помимо этого частицы металлического серебра

Для каждого сорбата в соответствии с [1] записывали элюативные кривые во всем возможном интервале объема проб до проскока. Через максимумы размытых асимметричных пиков проводили плавную кривую *I*, которая является

распределением: высота пика в максимуме, h , – время удерживания от момента выхода несорбирующегося газа, τ , соответствующее этому максимуму. Для каждой точки, взятой на этой кривой, рассчитывали концентрацию сорбата в кремнеземе a , соответствующие ей значения давления пара в газовой фазе p и изостерическую величину удерживаемого объема V по формулам: $a = b S_a / M g$, $p = b u h R T / M w$, $V = \tau w g$, где S_a – площадь на диаграммной ленте между моментом выхода несорбирующегося газа и частью кривой l до этой точки, b – отклик детектора для сорбата при скорости диаграммной ленты u , M – молярная масса сорбата, g – масса кремнезема в колонке, R – универсальная газовая постоянная, T – температура опыта, w – расход газа-носителя, приведенный к условиям опыта. Из этих данных рассчитывали изотермы сорбции a , мкмоль/г (p , мм рт ст), a , мкг/г (p , мм рт ст), для фиксированных значений a – изостеры сорбции: $\ln p (1/T)$, и далее – изостеры по $Q_{is} = R (\partial \ln p / \partial (1/T))_a$ рассчитывали изостерические теплоты сорбции и анализировали зависимости $Q_{is}(a)$ [4,5]. Изотермы сорбции, представленные в координатах; a , мкмоль/г (p/p_s) для спиртов и n -алканов в некотором гомологическом интервале совпадали. Для таких общих изотерм строили изостеры в координатах $\ln (P/P_s) - 1/T$ и рассчитывали изостерические теплоты сорбции гомологов за вычетом теплоты конденсации $\Delta Q = Q_{is} - L$. Теплоты конденсации L для опытного температурного интервала рассчитывали из $\ln P_s(1/T)$, используя уравнение Антуана [6]. Кроме того теплоты сорбции рассчитывали из изостерических величин удерживаемого объема по формуле $Q_{ch} = -R \partial n(V/T) / \partial (1/T)$ [4,5].

Результаты, полученные хроматографическим методом, сопоставлены с результатами измерения теплот сорбции на калориметре Q_k . Теплоту сорбции низкомолекулярного вещества сорбентом принято сравнивать с теплотой конденсации сорбата при этих условиях.

Результаты и обсуждение

Алканы способны только к неспецифическим дисперсионным взаимодействиям, величину которых определяет главным образом поляризуемость α [7,8]. Они слабо удерживаются гидроксильными кремнеземами и их изотермы сорбции (напр. n -гексана) линейны или вогнуты к оси давления. На таком образце Q_k n -гексана в начальной области заполнения соответствует сорбции на наиболее активных центрах и составляет ~ 45 кДж/моль, далее с увеличением заполнения и включением в процесс сорбции менее активных центров сорбции теплота быстро падает до ~ 30 - 32 кДж/моль, практически до теплоты конденсации [9,10].

Таким образом, сорбционное поле даже химически чистого кремнезема энергетически неоднородно, центрами повышенного сорбционного потенциала могут быть, например, места контакта глобул, геометрические дефекты структуры. Частичное или полное удаление гидроксильного покрова мало сказывается на сорбционной активности кремнезёмов по отношению к n -алканам. Значения теплоты сорбции в области средних концентраций снижаются незначительно, а в области малых заполнений они практически не изменяются [9,10].

Нанесение на поверхность силохрома микрочастиц металлического серебра резко увеличивает сорбцию n -алканов. Изотермы этих углеводородов на образце С-120-Ag выпуклы к оси концентраций, что обнаруживает значительное сродство к поверхности модифицированного образца, и при одном и том же равновесном

давлении сорбция гомологов *n*-алканов увеличивается с их молярной массой (рис.1). При измерении контактных потенциалов в [11] было обнаружено, что в неполярных молекулах и даже в атомах инертных газов при адсорбции на проводниках, металлах, углероде, возникают большие наведенные дипольные моменты за счет поляризации адсорбированных молекул полем двойного электрического слоя, образованного свободными электронами поверхности проводника и соответствующим внутренним положительным зарядом. Следует предположить, что при сорбции *n*-алканов на импрегнированном серебром кремнеземе помимо дисперсионных сил проявляются неспецифические индукционные электростатические силы, величину которых также определяет поляризуемость.

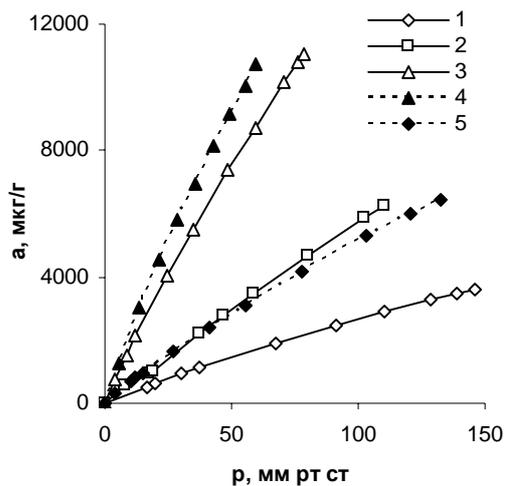


Рис.1. Изотермы сорбции *n*-гексана (1), *n*-гептана (2), *n*-октана (3), *n*-октена (4) и бензола (5) на кремнеземе С-120-Ag при 99°C

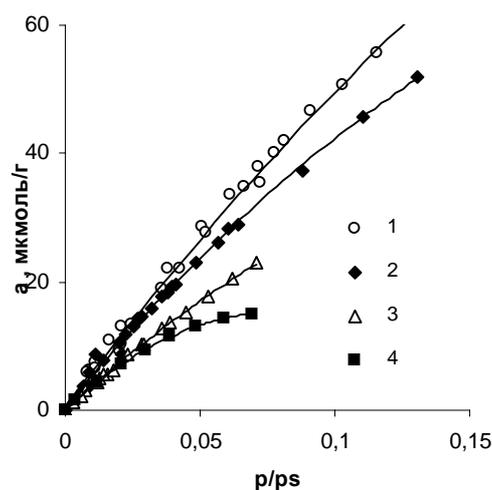


Рис.2. Общие изотермы *n*-алканов С₆-С₉ при 99, 120, 145 и 164°C (1,2,3 и 4, соответственно)

В координатах $a(\text{мкмоль/г})-P/P_s$ изотермы сорбции гомологов *n*-алканов С₆-С₉ совпадают (рис.2). Это указывает на одинаковый механизм сорбции гомологов на кремнеземе. Зависимость $\Delta Q(a)$ хорошо ($R=0.9999$) описывает полином третьей степени: $\Delta Q = 2E-06a^3 - 0,0009a^2 + 0,1702a + 11,811$, который по $\Delta Q+L$ и может быть использован для оценки теплоты сорбции гомолога в области средних заполнений.

Значения Q_{is} *n*-гексана в начальной области концентраций a в С-120-Ag высоко, ~45 кДж/моль, затем с заполнением падает, а далее в отличие от исходного кремнезема, начинает быстро расти, и во всем интервале заполнений значительно превышает его L (рис.3). Таким образом, с нанесением на кремнеземе наночастиц металлического серебра его поверхность приобретает способность к значительно более сильным неспецифическим взаимодействиям, чем взаимодействие с частично дегидроксилированным кремнеземом. При этом последующий быстрый рост Q_{is} происходит за счет проявления в сорбционном слое взаимодействия сорбат-сорбат. Это происходит при локальном неравномерном заполнении поверхности сорбента сорбатом с образованием в местах первичной сорбции изолированных многослойных кластеров. Зависимость Q_k-a имеет такой вид для сорбции *n*-гексана и бензола на кремнеземах, гидроксилы которого частично заменены модифицированием на триметилсилильные группы, то есть сорбентах с резко выраженной неоднородностью поверхности [9,10].

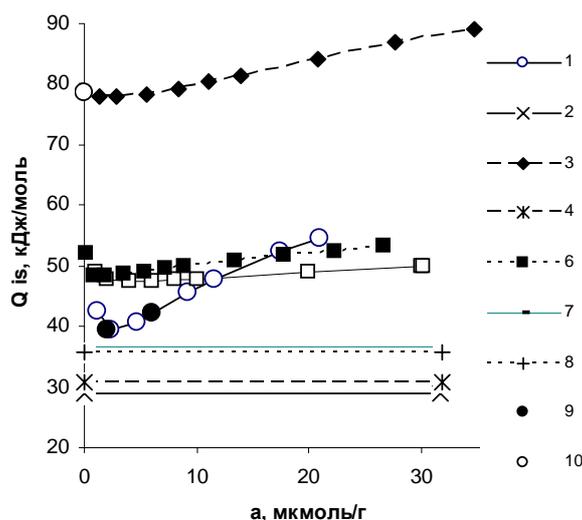


Рис.3. Зависимость $Q_{is}(a)$ *n*-гексана (1), бензола (3), *n*-октана(5), октена-1 (6), *L n*-гексана (2), бензола (4), *n*-октана (7), октена-1 (8), Q_{ch} *n*-гексана (9), бензола (10) для кремнезема С-120-Аg

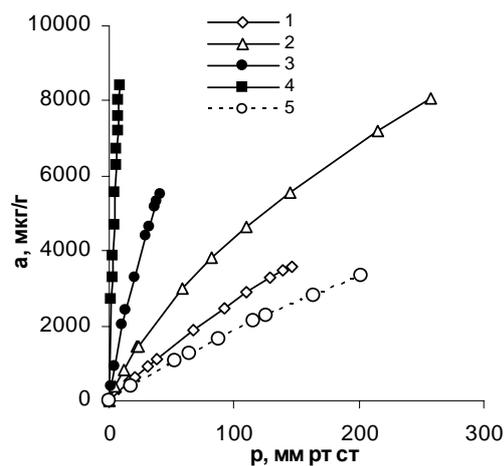


Рис.4. Изотермы сорбции *n*-гексана (1), метанола (2), этанола (3), бутанола-1 (4) и воды (5) на кремнеземе С-120-Аg при 99°C

$Q_{is}(a)$ более тяжелых гомологов *n*-гексана на образце С-120-Аg, например *n*-октана, носит аналогичный характер (рис.3), хотя падение величин теплоты сорбции в начальной области, объясняемое неоднородностью сорбционного поля, выражено менее явно. Значения Q_{is} *n*-октана во всем интервале заполнений также значительно превышает его теплоту конденсации.

Непредельные углеводороды сорбируются гидрофильными кремнеземами сильнее, чем предельные с тем же числом атомов углерода в молекуле, с близкой поляризуемостью, а следовательно с близким вкладом неспецифических дисперсионных взаимодействий. Это объясняют проявлением водородных связей π -электронов алкенов с гидроксилами силохрома. Полное дегидроксилирование поверхности силохрома приводит к снижению сорбции алкенов до уровня алканов [7].

n-Октен-1 удерживается импрегнированным образцом С-120-Аg сильнее, чем *n*-октан – изотермы алкена лежат значительно выше изотерм предельного углеводорода (рис.1). Такое превышение нельзя объяснить только специфической сорбцией *n*-октена на остаточных гидроксилах за счет водородных связей. Импрегнированный серебром кремнезем проявляет способность к специфическим взаимодействиям, но она иного рода: известно, что непредельные углеводороды способны образовывать с переходными металлами связи по донорно-акцепторному типу, и взаимодействие *n*-октена с силохромом С-120- Аg можно рассматривать как слабую хемосорбцию [8].

Характер зависимости $Q_{is}(a)$ *n*-октена таков же, как для алканов, а значения теплот сорбции несколько выше, чем Q_{is} *n*-октана и значительно выше *L* (рис.3).

Ароматические углеводороды на гидрофильных кремнеземах сорбируются как за счет дисперсионных взаимодействий, так и за счет взаимодействий квадрупольных молекул с диполями гидроксильных групп [7], на дегидроксилированной поверхности ароматические углеводороды сорбируются на уровне *n*-алканов с тем же числом

атомов углерода в молекуле. Удаление гидроксильных групп с поверхности сорбента снижает теплоту сорбции бензола до значений теплоты сорбции *n*-гексана [10].

Теплота сорбции бензола на исходном гидроксильном кремнеземе Q_k в начальной области заполнения составляет ~ 50 кДж/моль, с увеличением концентрации углеводорода в сорбенте она монотонно снижается до ~ 38 кДж/моль. Удаление гидроксильных групп с поверхности сорбента снижает сорбцию и теплоту сорбции бензола до значений сорбции *n*-гексана [10].

Кремнезем, импрегнированный серебром, по сравнению с С-120 относительно бензола проявляет не только более высокую сорбционную емкость, но и его сорбционные центры по отношению к бензолу более активны.

Для образца С-120-Ag, как это видно из рис.1, несмотря на значительное снижение концентрации –ОН групп на поверхности силохрома при прокаливании при 450°C для всех температур опыта изотермы бензола лежат выше изотерм *n*-гексана, а значения теплоты Q_{is} ароматического углеводорода превышает значения Q_{is} *n*-алкана почти в два раза (рис. 3). Очевидно, что адсорбцию бензола на импрегнированном кремнеземе определяют те же силы, что и для *n*-гексана, то есть – дисперсионные и индукционные электростатические, но эти силы действуют на коротких расстояниях (в пределах одного слоя), и объяснить отмеченное выше расхождение характеристик сорбции алкана и ароматического углеводорода можно более выгодной ориентацией молекул бензола относительно поверхности – "плашмя". Таким образом, сорбцию на таких поверхностях определяют не только среднемолекулярные характеристики, но и геометрия молекулы и способ ее ориентации относительно поверхности.

Спирты и вода в силу своей высокой полярности проявляют исключительно высокое сродство к поверхности гидроксильного кремнезема за счет водородных связей с гидроксильными группами поверхности. Эти специфические силы дают основной вклад во взаимодействие спиртов с кремнеземами. Кроме того возможна хемосорбция, реакция поверхностной этерификации кремнезема спиртами и регидратация силоксановых мостиков за счет хемосорбции воды. Удерживание специфически сорбирующихся спиртов на силикагелях в сотни раз превышает удерживание *n*-алканов с близкой температурой кипения, а вода сорбируется необратимо. Удаление с поверхности кремнезема гидроксильных групп приводит к снижению сорбции спиртов и воды [7,12,13]. Очевидно, что спирты и вода как молекулярные зонды являются хорошими индикаторами присутствия на поверхности сорбента гидроксильных групп.

Нанесение на поверхность силохрома наночастиц серебра снижает гидрофильность поверхности настолько, что спирты сорбируются на уровне *n*-алканов, а вода выходит из хроматографической колонки раньше менее полярного метанола. Следует предположить, что спирты и вода предпочтительно сорбируются на остаточных гидроксильных группах поверхности С-120-Ag

Изотермы сорбции первичных одноатомных спиртов этанол – бутанол-1 в координатах $a(\text{мкмоль/г}) - P/P_s$ на С-120-Ag совпадают. Метанол выпадает из гомологического ряда – его изотерма лежит гораздо ниже общей изотермы спиртов.

Согласно калориметрическим данным [9,13] теплота сорбции Q_k метанола на гидроксильном кремнеземе в начальной области заполнения, которая соответствует сорбции на наиболее активных центрах, очень велика ~ 70 кДж/моль. Далее, по мере заполнения поверхности сорбатом значение Q_k снижается. При прокаливании кремнезема сорбция спиртов и воды сильно падает, однако значения теплоты в начальной области заполнения остается высокой, а далее падают почти до теплоты конденсации.

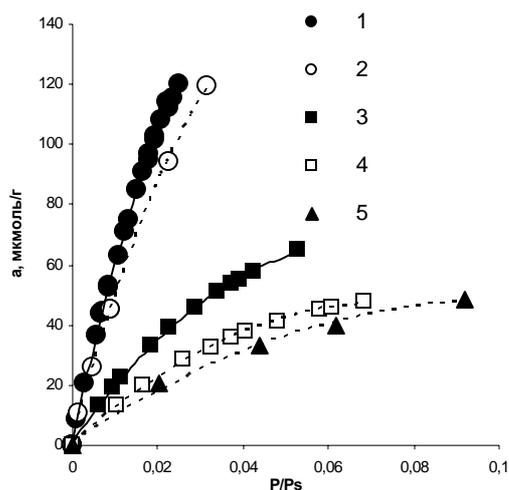


Рис.5. Изотермы го спиртов C_2 - C_4 при 99 (1) и 164°C (3) и изотермы метанола при 99 (2) и 164°C(4) и изотерма воды при 164°C (5) на силохроме С-120-Ag

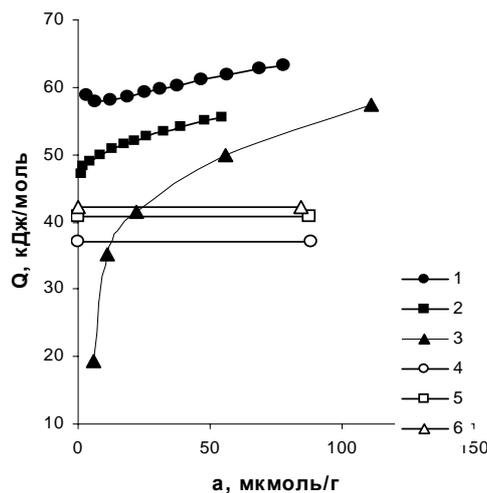


Рис.6. Зависимость $Q_{is}(a)$ метанола (1), этанола (2) и воды (3) на силохроме С-120-Ag, теплоты конденсации L метанола (4), этанола (5) и воды (6)

Теплота сорбции метанола Q_{is} в начальной области заполнения силохрома С-120-А (рис.6) снижается до 62 кДж/моль. Имеет место хорошее совпадение величин Q_k и Q_{is} в области малых заполнений для кремнезёмов, модифицированных серебром, С-120-Ag, и триметилсиланом, когда гидрофильная поверхность кремнезёма заменяется на гидрофобную, но с низким потенциалом дисперсионных сил [13]. Это указывает на то, что при силанизировании и при нанесении серебра на кремнезём в первую очередь с поверхности исчезают наиболее активные гидроксильные группы. С увеличением концентрации метанола в модифицированных кремнезёмах a , быстро начинает проявляться взаимодействие сорбат-сорбат, и наблюдается рост теплоты сорбции. Такой ход зависимости Q - a возможен, если заполнение поверхности происходит неравномерно, на изолированных участках с образованием многослойных кластеров, и когда начинает доминировать локализованная сорбция. Для силохрома с серебром это проявляется очень быстро, при концентрации метанола в силохроме $\sim 0,01$ мкмоль/г. Следует отметить также хорошее совпадение теплот сорбции метанола Q_{is} и Q_{ch} (рис.6). При этом во всем интервале концентраций теплота сорбции спиртов останется выше теплоты конденсации, в то время как на дегидроксилированном образце теплоты сорбции спиртов оказываются на уровне теплоты конденсации. Очевидно, что при сорбции спиртов на импрегнированном серебром образце вклад неспецифической сорбции за счет алкильного радикала становится особенно значительным. То, что спирты индицируют присутствие на поверхности металлического серебра – очевидно, так как по отношению ко всем спиртам импрегнированный образец проявлял каталитическую активность в реакции межмолекулярной дегидратации спиртов.

Интересно, что если при одних и тех же условиях, при равных концентрациях в паровой фазе, этанол сорбируется больше, чем метанол, и его изотерма лежит выше изотермы более легкого гомолога, то теплоты сорбции Q_{is} этанола ниже теплот сорбции метанола. Если учесть, что сорбция – функция не только активности сорбционных центров, но и их концентрации, очевидно, что для этанола и для

метанола – свое сорбционное поле. Возможно, нанесение достаточно крупных по сравнению с порами исходного силихрома наночастиц серебра приводит к созданию эффекта микропористости. В этих микропорах могут сорбироваться меньшие по размеру молекулы метанола, и туда не могут проникать молекулы этанола и тем более – бутанола.

Измеренная калориметрически Q_k теплота сорбции воды на гидроксированном кремнеземе в начальной области заполнений очень велика ~ 80 кДж/моль, и для средних степеней заполнения она составляет 45 – 60 кДж/моль. При дегидроксилировании кремнезема значения Q_k воды для средних заполнений падают почти до теплоты конденсации L .

Зависимость $Q_{is}(a)$ для сорбции воды на кремнеземе С-120-Ag имеет совершенно иной вид (рис.6). Теплота сорбции воды в начальной области концентраций меньше теплоты конденсации в 4 раза, и значения этой характеристики растут особенно быстро с заполнением. Очевидно, что молекулы воды сорбируются на остаточных малоактивных гидроксилах, при увеличении концентрации воды ее молекулы сорбируются на вторичных сорбционных центрах, на уже сорбированных молекулах воды. Концентрация остаточных гидроксидов невелика составляет $\sim 0,1$ мкмоль/м², и изотерма сорбции воды на импрегнированном кремнеземе лежит ниже изотермы метанола.

При оценке доли поверхности, на которой происходит преимущественная сорбция низкомолекулярного зонда той или иной природы, было целесообразно рассмотреть величину мольной изостерической теплоты сорбции, как функцию площади поверхности сорбента, занимаемую данным количеством молекул зонда, $Q_{is}(s)$ (рис.5). При этом размеры площадки, занимаемой молекулами н-гексана, бензола и воды принимали равными 51, 40 и 10,6 Å² [9,10]. Оказалось, что часть поверхности, занятая наиболее активными центрами, на которых происходит первичная сорбция, незначительна, она составляет $\sim 1\%$ от площади исходного образца, но именно эта часть поверхности определяет весь сценарий процесса.

Нанесение на поверхность частично дегидроксилированного кремнезема наночастиц серебра приводит к снижению гидрофильности поверхности, появлению сорбционной поверхности с очень высоким потенциалом неспецифических дисперсионных сил и увеличению сорбционной поверхности. Очень сильно возрастает селективность этого сорбента по отношению к гомологам. Так, если за меру селективности принять вклад теплоты сорбции на гомологическую разность, то для гидроксированного кремнезема он составляет ~ 8 кДж/моль, а для кремнезема С-120-Ag он превышает эту величину более чем в 2 раза.

Авторы выражают глубокую благодарность доктору наук профессору Алексею Михайловичу Толмачеву и доктору наук профессору Владимиру Александровичу Иванову за участие в обсуждении результатов и написании статьи.

Список литературы

1. Котельникова Т.А., Агеев Е.П. Сорбционные свойства некоторых полимерных материалов по данным нелинейной газовой хроматографии // Высокомолекулярные соединения. 2002. А. Т. 44. №8. С.1433-1443.
2. Лурье А.А. Хроматографические материалы. М. Химия. 1978. С.75.
3. Zuravlev L.T., Kiselev. A.V. Surface concentration of hydroxyl groups on amorphous silicas having different specific surface areas //International simposium:

International union of pure and applied chemistry. Butterworths. London. 1969. P.155-160.

4. Вигдергауз М.С. Расчеты в газовой хроматографии. М.: Химия, 1978. С.216.

5. Крейчи М., Паюрек Я., Комерс Р. и др. Вычисления и величины в сорбционной колоночной хроматографии. М.: Мир, 1993, С.206.

6. Рид Р., Праусниц Дж., Шервуд Т. Свойства газов и жидкостей. Л.: Химия, 1982. С.592.

7. Киселев А.В., Яшин Я.И. Газо-адсорбционная хроматография. М.: Наука, 1967. С.216.

8. Кроуэлл А. Силы взаимодействия между молекулами газа и поверхностью твердого тела // Межфазовая граница газ-твердое тело. Под ред. Э.Флада. М.: Мир, 1970. С.150-172.

9. Киселев А.В. Энергия взаимодействия адсорбат-адсорбент и адсорбат-адсорбат в монослоях на поверхностях твердых тел // Журн. Физ. Химии. 1961. Т.35. №2. С.233-257.

10. Бабкин И.Ю., Киселев А.В., Королев А.Я. Теплоты и энтропии адсорбции паров гексана и бензола на аэросилах с поверхностью, химически модифицированной триметилсилильными группами // Доклады акад наук СССР. 1961. Т.136. №2. С.373-376.

11. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. Под ред. ч.-к. АН СССР К.В.Чмутова. М.: Мир, 1970. С. 225.

12. Б.В.Кузнецов. "Адсорбционно-калориметрический метод исследования кремнезёмов". // Калориметрия в адсорбции и катализе. Сб. научн. Трудов. Новосибирск. 1984. С.81

13. Киселев А.В., Котельникова Т.А., Никитин Ю.С., Цилипоткина М.В. Модифицирование поверхности макропористого силикагеля тонким слоем полимера // Коллоидный журнал. 1978. Т.40. №5. С.865-869.

14. Бабкин И.Ю., Киселев А.В. Адсорбция и теплота адсорбции различных паров на триметил-силированной поверхности аэросила // Журн. физ. химии. 1962. Т.36. №12. С.2448-2456.

Котельникова Татьяна Александровна – к.х.н., старший научный сотрудник, кафедра физической химии, химический факультет Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

Кузнецов Борис Васильевич – к.х.н., старший научный сотрудник, кафедра физической химии, химический факультет Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

Муравьева Галина Петровна – к.х.н., старший научный сотрудник, кафедра физической химии, химический факультет Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

Kotelnikova Tatyana A. – Cand.Chem.Sci., the senior scientific employee, faculty of physical chemistry, chemical faculty of the Moscow state university it. M.V.Lomonosova, takotelnikova@mail.ru

Kuznetsov Boris V. – Cand.Chem.Sci., the senior scientific employee, faculty of physical chemistry, chemical faculty of the Moscow state university it. M.V.Lomonosova.

Murav'eva Galina P. – Cand.Chem.Sci., the senior scientific employee, faculty of physical chemistry, chemical faculty of the Moscow state university it. M.V.Lomonosova.



УДК 543.25:577.164.15

Потенциометрический сенсор для определения никотиновой кислоты, основанный на равновесии ее сорбции из водных растворов перфторсульфокатионообменником

Паршина А.В., Бобрешова О.В., Хохлов В.Ю.

Воронежский государственный университет, Воронеж

Поступила в редакцию 13.05.2009 г.

Аннотация

Показана возможность потенциометрического определения никотиновой кислоты в водных растворах. Для разработки потенциометрического сенсора использовали перфторированные сульфокатионитовые полимеры в водородной форме. Откликом сенсора является доннановский потенциал на индивидуальной границе полимер/ анализируемый раствор. Предполагается, что определяющий вклад в формирование отклика сенсора вносит равновесие сорбции катионов никотиновой кислоты в фазе раствора и в фазе полимера, при этом вклад ионов гидроксония минимален. Тангенс угла наклона калибровочной функции сенсора, характеризующий чувствительность сенсора, в индивидуальных водных растворах никотиновой кислоты составил 32 ± 4 мВ/lgС. Время отклика и относительная погрешность определения никотиновой кислоты в индивидуальных растворах не превышали 7 мин и 10% соответственно.

Ключевые слова: доннановский потенциал, сорбция, потенциометрический сенсор, перфторированный сульфокатионитовый полимер, никотиновая кислота.

Potentiometric sensor for determination of nicotinic acid in aqueous solutions is proposed. The response of this sensor is Donnan potential on the individual interface of PSP/ an investigated solution. The characteristics of the sensor were as follows: working range of concentrations was 10^{-1} - $8 \cdot 10^{-2}$ M, the sensitivity was 32 ± 4 mV/decade, the repeatability was $\leq 10\%$, the response time was 5-7 min.

Key words: Donnan potential, sorption, potentiometric sensor, perfluorinated sulfonic cation-exchange polymer, nicotinic acid

Введение

Никотиновая кислота (β -пиридинкарбоновая кислота) и ее производные никотинамид, диэтиламид никотиновой кислоты составляют группу витаминов РР. Никотиновая кислота входит в состав многих продуктов питания, пищевых добавок, витаминов и лекарственных препаратов. Следствием недостатка никотиновой кислоты в организме человека являются бессонница, расстройство нервной системы, общая усталость, апатия, ослабление памяти, ухудшение качества крови, пеллагра [1].

Для разделения и количественного определения витаминов применяются различные хроматографические методики. Определение никотиновой кислоты методами ВЭЖХ и газовой хроматографии основано на реакциях ионного обмена [2] и реакциях окисления-восстановления [3] соответственно. Для определения никотиновой кислоты в натуральных продуктах и фармацевтических препаратах используют колориметрические методы [4-6]. Спектрофотометрическое определение никотиновой кислоты основано на сравнении спектров исследуемой пробы в окисленном и восстановленном состояниях [7-9]. Известны титриметрические методики определения никотиновой кислоты и ее производных, например кислотно-основное титрование для количественного определения витамина РР в субстанции [10], аргентометрическое титрование для определения витамина РР в таблетках и инъекционных растворах [11-13].

Недостатками известных методов количественного определения никотиновой кислоты и ее производных являются длительность, сложность анализа и пробоподготовки.

В работе [14] нами разработан потенциометрический сенсор для детектирования лизина в водных растворах. Сенсор организован на основе модифицированных перфторированных сульфокатионитовых полимеров. Откликом сенсора является доннановский потенциал. Использование сенсора для детектирования электролитов основано на реакциях ионного обмена и/или протолитических реакциях на границе ионообменный полимер/ раствор электролита. Чувствительность сенсора определяться, во-первых, ионной формой полимера, во-вторых, сродством полимера к определяемым ионам, в-третьих, возможностью протекания реакций протонирования/ депротонирования на границе ионообменный полимер/ раствор электролита. Относительная погрешность определения лизина в водных растворах в присутствии нейтральных аминокислот не превышала 5 %.

Целью данной работы является исследование возможности потенциометрического определения никотиновой кислоты в водных растворах.

Эксперимент

Объекты исследования

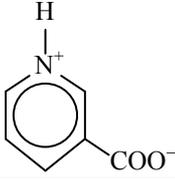
В качестве объектов исследования выбраны индивидуальные водные растворы никотиновой кислоты с концентрациями компонента от 10^{-4} до $8 \cdot 10^{-2}$ М. Рабочий интервал концентраций ограничен, с одной стороны (10^{-4} М), лабораторными условиями выполнения эксперимента, с другой ($8 \cdot 10^{-2}$ М) – предельной растворимостью никотиновой кислоты. В работе использовали реактивы марки ч.д.а. Растворы готовили на дистиллированной воде с сопротивлением $0,35 \text{ МОм} \cdot \text{см}^2$.

Некоторые физико-химические характеристики никотиновой кислоты представлены в табл. 1 [1].

Для разработки потенциометрического сенсора использовали перфторированные сульфокатионитовые полимерные (ПСП) трубки и мембраны (изготовленные ОАО «Пластполимер», г. Санкт-Петербург, Россия) в водородной форме. ПСП содержат три фазы: аморфную, кристаллическую и фазу ассоциатов сульфогрупп, противоионов и молекул воды, образующих «кластеры», расстояние между которыми не превышает 5 нм. Набухание ПСП значительно меньше, чем углеводородных и гетерогенных мембран. Это связано с гидрофобностью полимера, обусловленной его составом, меньшей обменной емкостью и отсутствием

межзерных пустот, куда входит раствор [15]. Обменная емкость и влагоемкость исследуемых полимеров определялись по известным методикам.

Таблица 1. Физико-химические свойства никотиновой кислоты [1]

| Номенклатура | Никотиновая кислота, β-пиридинкарбоновая кислота |
|--|---|
| Структурная формула |  |
| Молекулярная масса, г/моль | 123,05 |
| pI | 8,2 |
| pK ₁ (-COOH) | 4,81 |
| pK ₂ (≡NH ⁺) | 11,69 |
| Растворимость при 25 ⁰ С, г/100г воды | 1 |
| Плотность, г/см ³ | 1,94 |

Оборудование и методы исследования

Все потенциометрические измерения выполняли на жидкостном анализаторе Эксперт–001–3 (0.1). Относительная погрешность прибора для измерения pH и ЭДС составляет 2,5% и 1,5% соответственно. Для контроля pH использовали стеклянный электрод марки ЭЛС-43-07 и хлоридсеребряный электрод сравнения марки ЭВС-1МЗ.1.

Схема электрохимической ячейки для детектирования никотиновой кислоты в водных растворах представлена на рис. 1. Измерительная система включает потенциометрический сенсор I на основе ПСП в водородной форме, откликом которого является доннановский потенциал, хлоридсеребряный электрод сравнения II и высокоомный электронный вольтметр V. Конструкция сенсора I включает два пластиковых корпуса 1 и 2 объемом соответственно 5 и 0,5 см³. Корпусы 1, 2 соединяются через резиновую пробку 3. Корпус 1 заполнен 1 М раствором HCl. Корпус 2 предохраняет ПСП от пересыхания. Внутренний электрод сравнения 4 (серебряная проволока, покрытая хлоридом серебра), закрепленный в корпусе 1, погружен в 1 М раствор HCl. ПСП (трубка, стержень, мембрана) 5 длиной 6-8 см, закрепленный в пробках 3 и 6, свободным концом погружается в исследуемый раствор.

Измерение потенциала сенсора I осуществляется относительно электрода сравнения II с помощью высокоомного электронного вольтметра V. Значения отклика сенсора I фиксируются через 5-7 минут.

Электрохимическая цепь для определения отклика сенсора I аналогична цепи для оценки доннановского потенциала, исследованной в [14] и описывается выражением:



Общая ЭДС цепи (1), складывается из скачков потенциала на отдельных границах:

$$E_{(1)} = \Delta\varphi_{\text{Ag/AgCl}}^{0(I)} + \Delta\varphi_{\text{ПСП}}^{1\text{M HCl}} + \Delta\varphi_{\text{diff}} + \Delta\varphi_{\text{иссл.р.}}^{\text{ПСП}} - \Delta\varphi_{\text{нас. KCl}}^{0(IV)} \quad (2)$$

где $\Delta\varphi_{Ag/AgCl}^{0(I/IV)}$ – стандартные потенциалы внутреннего электрода сравнения сенсора I и электрода сравнения IV; $\Delta\varphi_{ПСП}^{1M\ HCl}$ – разность потенциалов на границе 1M HCl/ полимер; $\Delta\varphi_{diff}$ – диффузионный потенциал в фазе полимера; $\Delta\varphi_{иссл.р.}^{ПСП}$ – доннановская разность потенциалов на границе полимер/ исследуемый раствор; $\Delta\varphi_{нас. KCl}^{иссл.р.}$ – разность потенциалов на границе исследуемый раствор/ насыщенный раствор KCl электрода сравнения IV.

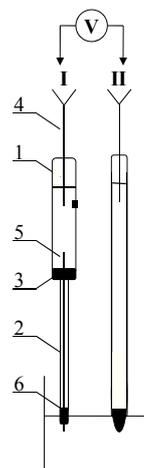
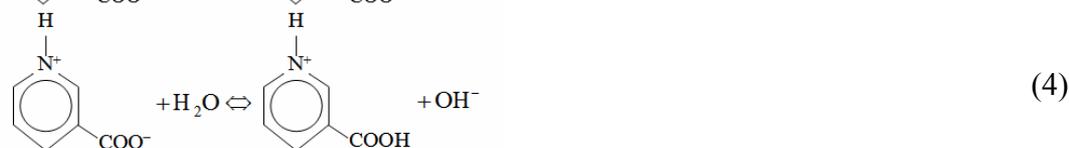
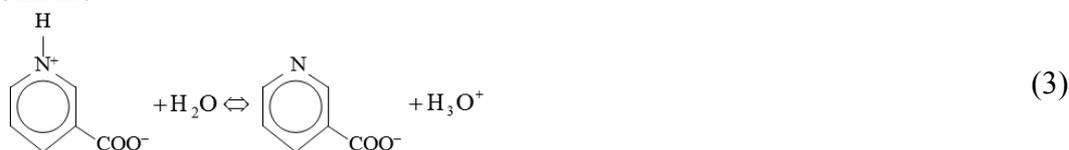


Рис. 1. Схема электрохимической ячейки для детектирования никотиновой кислоты в водных растворах: I – сенсор, откликом которого является доннановский потенциал; 1, 2 – пластиковые корпуса; 3, 6 – резиновые пробки; 4 – внутренний электрод сравнения; 5 – ПСП в водородной форме; 7 – 1M HCl; 8 – исследуемый раствор; II – хлоридсеребряный электрод; V – высокоомный вольтметр

Сенсор I организован таким образом, что вклады скачков потенциала в общую ЭДС цепи (1) на всех границах, кроме доннановского скачка потенциала на границе ПСП/ исследуемый раствор, либо пренебрежимо малы, либо компенсируют друг друга. Подробно вклады скачков потенциала на отдельных границах в общую ЭДС цепи рассмотрены в [14].

Результаты и их обсуждение

В водном растворе в зависимости от pH среды никотиновая кислота может существовать в катионной, анионной и цвиттерионной формах. Качественный и количественный состав водных растворов никотиновой кислоты определяется равновесиями:



Ионный состав исследуемых индивидуальных водных растворов никотиновой кислоты, рассчитывали на основании экспериментальных значений pH

с учетом величин констант диссоциации никотиновой кислоты (табл. 1) и уравнения материального баланса:

$$K_1 = \frac{[C_5H_4NHCOO^\pm] \cdot [H_3O^+]}{[C_5H_4NHCOOH^+]}, \quad (5)$$

$$K_2 = \frac{[C_5H_4NCOO^-] \cdot [H_3O^+]}{[C_5H_4NHCOO^\pm]}, \quad (6)$$

$$C = [C_5H_4NHCOO^\pm] + [C_5H_4NHCOOH^+] + [C_5H_4NCOO^-], \quad (7)$$

где K_1 , K_2 – константы диссоциации групп $-COOH$ и $\equiv NH^+$, соответственно; C – аналитическая концентрация никотиновой кислоты в растворе; $[H_3O^+]$, $[C_5H_4NHCOO^\pm]$, $[C_5H_4NHCOOH^+]$, $[C_5H_4NCOO^-]$ – равновесные концентрации гидроксония, цвиттерионной, катионной, анионной форм никотиновой кислоты в растворе соответственно.

Значения pH , а также качественный и количественный состав исследуемых растворов никотиновой кислоты представлены в табл. 2.

Таблица 2. pH и ионный состав индивидуальных водных растворов никотиновой кислоты

| C_{pp} , М | $pH \pm 0,04$ | $[H_3O^+]$, М | $[C_5H_4NHCOO^\pm]$, М | $[C_5H_4NHCOOH^+]$, М | $[C_5H_4NCOO^-]$, М |
|---------------------|---------------|---------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------|
| $1,0 \cdot 10^{-4}$ | 4,65 | $2,2 \cdot 10^{-5}$ | $4,1 \cdot 10^{-5}$ | $5,9 \cdot 10^{-5}$ | $2,0 \cdot 10^{-12}$ |
| $8 \cdot 10^{-4}$ | 4,18 | $6,7 \cdot 10^{-5}$ | $1,5 \cdot 10^{-4}$ | $6,5 \cdot 10^{-4}$ | $2,5 \cdot 10^{-12}$ |
| $4 \cdot 10^{-3}$ | 3,77 | $1,7 \cdot 10^{-4}$ | $3,4 \cdot 10^{-4}$ | $3,7 \cdot 10^{-3}$ | $2,2 \cdot 10^{-12}$ |
| $2 \cdot 10^{-2}$ | 3,52 | $3,0 \cdot 10^{-4}$ | $9,7 \cdot 10^{-4}$ | $1,9 \cdot 10^{-2}$ | $3,5 \cdot 10^{-12}$ |
| $4 \cdot 10^{-2}$ | 3,48 | $3,3 \cdot 10^{-4}$ | $1,8 \cdot 10^{-3}$ | $3,8 \cdot 10^{-2}$ | $5,8 \cdot 10^{-12}$ |
| $8 \cdot 10^{-2}$ | 3,46 | $3,5 \cdot 10^{-4}$ | $3,4 \cdot 10^{-3}$ | $7,7 \cdot 10^{-2}$ | $1,1 \cdot 10^{-11}$ |

Для разработки потенциометрического сенсора использовали ПСП в водородной форме. Откликом сенсора является доннановский потенциал на индивидуальной границе ПСП/ анализируемый раствор. С помощью электрохимической ячейки, схема которой представлена на рис.1. получены значения отклика сенсора I относительно электрода сравнения II в индивидуальных водных растворах никотиновой кислоты (рис. 2).

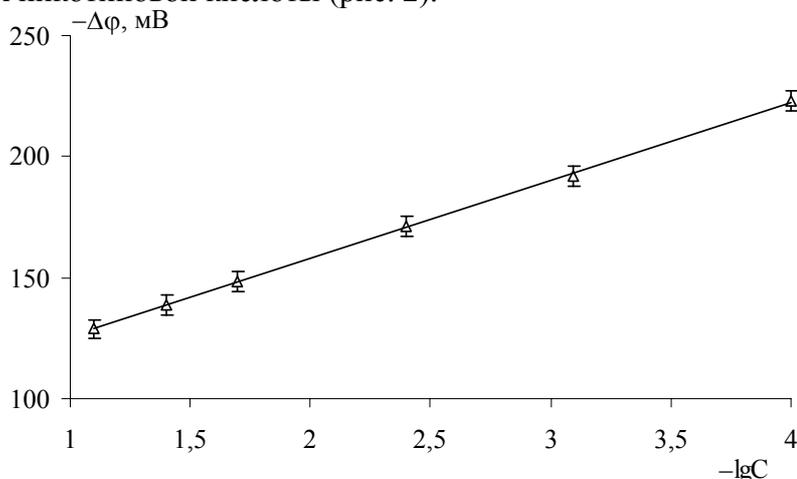
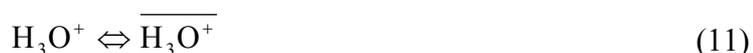
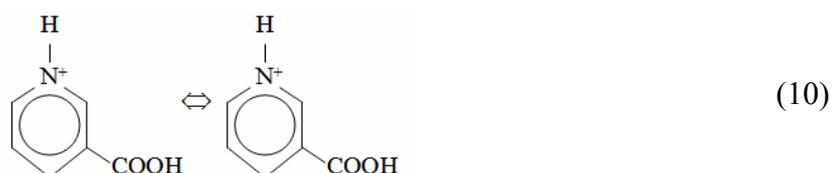
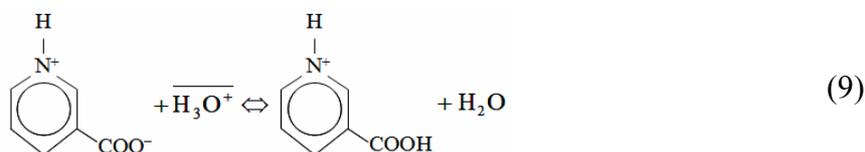


Рис. 2. Концентрационная зависимость доннановского потенциала в системах с ПСП в водородной форме и индивидуальными водными растворами никотиновой кислоты

Концентрационная зависимость доннановского потенциала в системах с ПСП в водородной форме и индивидуальными водными растворами никотиновой кислоты описывается уравнением (8) с достоверностью аппроксимации 0,99.

$$\Delta\varphi = -93 + 32 \cdot \lg C. \quad (8)$$

Равновесие на границе катионообменного полимера в водородной форме и водного раствора, содержащего никотиновую кислоту, определяется уравнениями:



Следует отметить, что величина отклика сенсора и чувствительность сенсора (тангенс угла наклона калибровочной функции) определяются, во-первых, соотношением концентраций компонентов в исследуемых растворах, во-вторых, энергией активации перехода каждого компонента из фазы раствора в фазу полимера. Энергия активации перехода иона из фазы раствора в фазу полимера и, соответственно, вклад данного сорта ионов в формирование доннановской разности потенциалов тем больше, чем меньше его заряд, больше радиус и степень гидратации.

В табл. 2 показано, что концентрация ионов гидроксония в исследуемых растворах изменяется в узком интервале от $2,2 \cdot 10^{-5}$ до $3,5 \cdot 10^{-4}$ М, при этом концентрация катионной формы никотиновой кислоты превышает концентрацию ионов гидроксония в 3-200 раз. Кроме того, энергия межфазного перехода катионов никотиновой кислоты может быть достаточно высокой за счет большего размера, затрудняющего переход ионов из фазы раствора в фазу катионообменника. Об этом свидетельствуют высокие значения доннановского потенциала на границе ПСП/индивидуальный раствор никотиновой кислоты, превышающие аналогичные значения для систем с алифатическими аминокислотами и соизмеримые с аналогичными значениями для систем с неорганическими электролитами [16]. Таким образом, можно предположить, что вклад равновесия (11) в формирование общего потенциала на границе ПСП/ анализируемый раствор минимален.

Таблица 3. Теоретические и экспериментальные значения концентраций никотиновой кислоты для некоторых исследуемых растворов

| Введено, М | Найдено, М | Относит. погр., % |
|---------------------|---------------------|-------------------|
| $1,0 \cdot 10^{-4}$ | $9,3 \cdot 10^{-5}$ | ≤10 |
| $8 \cdot 10^{-4}$ | $8,6 \cdot 10^{-4}$ | |
| $4 \cdot 10^{-3}$ | $3,9 \cdot 10^{-3}$ | |
| $2 \cdot 10^{-2}$ | $2,0 \cdot 10^{-2}$ | |
| $4 \cdot 10^{-2}$ | $4,0 \cdot 10^{-2}$ | |
| $8 \cdot 10^{-2}$ | $8,2 \cdot 10^{-2}$ | |

Для оценки ошибки определения никотиновой кислоты с помощью сенсора, организованного на основе ПСП в водородной форме, использовали метод «введено-найденно». В табл. 3 представлены фактические и определенные методом калибровочного графика значения концентраций никотиновой кислоты для некоторых исследуемых растворов.

Основные характеристики потенциометрического сенсора для определения никотиновой кислоты в индивидуальных водных растворах представлены в табл. 4.

Таблица 4. Основные характеристики потенциометрического сенсора для определения никотиновой кислоты в индивидуальных водных растворах

| | |
|--|-------------------------------|
| Тангенс угла наклона калибровочной функции, мВ/lgC (чувствительность) | 32 |
| Достоверность аппроксимации калибровочной функции | 0,99 |
| Δx , мВ (воспроизводимость) | ± 4 |
| Рабочий интервал pH | 3,5-4,7 |
| Рабочий интервал концентраций, М | 10^{-4} - $8 \cdot 10^{-2}$ |
| Время отклика, мин | 5-7 |
| Относительная погрешность, % | ≤ 10 |

Заключение

Таким образом, разработан потенциометрический сенсор, откликом которого является доннановский потенциал, для определения никотиновой кислоты в водных растворах. Чувствительность сенсора в интервале концентраций 10^{-4} - $8 \cdot 10^{-2}$ М индивидуальных растворов никотиновой кислоты составляет 32 мВ/lgC. Воспроизводимость и относительная ошибка определения не превышает 4 мВ и 10% соответственно.

Авторы выражают благодарность к.х.н. зав. лабораторией мембранных процессов ОАО «Пластполимер» (г. Санкт-Петербург, Россия) Тимофееву Сергею Васильевичу за предоставление образцов перфторированных сульфокатионитовых полимеров.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-03-97505 р_центр_а.

Список литературы

1. Леутский К. М. Никотиновая кислота. Витамин РР. Львов: Изд-во Львовского ун-та, 1980. 156 с.
2. Арбатский А. П., Афоньшин Г. Н., Востоков В. М. Определение витаминов в кормовых и пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // ЖАХ. 2004. № 12. С. 1304-1307.
3. Яковлева Е.Ю., Белоцерковская В.Ю., Скрыпник О.В. Исследование удерживания компонентов реакции каталитического окисления β -пиколина в никотиновую кислоту методом газовой хроматографии // ЖАХ. 2008. Т. 63. №9. С. 948-952.
4. Fridman Y. Frazier E. Vitamin Methods. Academic Press, New York, 1960. P. 300.
5. Wang S. X., Tan Z. C., Wang M. H. Calorimetric study and thermal analysis of crystalline nicotinic acid // J. Therm. Anal. and Calorim. 2004. № 1. P. 335-342.

6. Биохимия и физиология витаминов. Методы определения витаминов. Под ред. Н.М. Сисакяна., В.Н. Букина. М.: Из-во. ИЛ. 1952. 516 с.
7. ГОСТ 7047-55. Витамины А, С, Д, В1, В2 и РР. Отбор проб, методы определения витаминов и испытания качества витаминных препаратов. М.: Изд-во стандартов, 1999. 56 с.
8. Фроленко И. Ю. Проблемы теоретической и экспериментальной химии, Екатеринбург, 20-23 апр., 2004 г.: тез. докл. Екатеринбург. 2004. С. 58-59.
9. Методы определения витаминов: [сб. науч. труд.]. Глав. управление витаминной пром-сти СССР // Всесоюзный науч.-исслед. витаминный инст-т. М.: Пищепромиздат, 1971. С. 96.
10. Британская фармакопея. Под ред. А. Роквилле. М.: ИЛ., 1998. 568 с.
11. Экспериментальная витаминология. Под ред. Ю. М. Островского. Минск: Наука и техника, 1980. 550с.
12. Стачинский А.Н. Арчинова Т.Ю. Титриметрические методы определения водорастворимых витаминов в таблетках и инъекционных растворах // Фармация. 1988. Т.37. №3. С. 29-31.
13. Государственная фармакопея СССР, 11-е изд., М.: Медицина, 1990.
14. Бобрешова О.В., Агупова М.В., Паршина А.В. Потенциометрическое определение лизина в водных растворах с использованием модифицированных перфторированных мембран МФ-4СК// ЖАХ. 2009. Т. 64. №6. С. 1-6.
15. Тимашов С.Ф. Физикохимия мембранных процессов. М.: Химия, 1988. 240 с.
16. Бобрешова О.В., Кулинцов П.И., Новикова Л.А. Межфазная разность потенциалов в электромембранных системах с растворами аминокислот // Сорбционные и хроматографические процессы. 2003. Т.3. В. 3. С. 310-319.

Бобрешова Ольга Владимировна – д.х.н. проф. кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Паршина Анна Валерьевна – аспирант кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Хохлов Владимир Юрьевич – к.х.н. доц. кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Bobreshova Olga V. – d.ch.sc. professor of analytical chemistry department, Voronezh state university, Voronezh, e-mail: olgal@box.vsi.ru

Parshina Anna V. – the post graduate student of analytical chemistry department, Voronezh state university, Voronezh

Khokhlov Vladimir Yu. – can.ch.sc. associate professor of analytical chemistry department, Voronezh state university, Voronezh



УДК 66.081.3

Особенности сорбции смесей спиртов нормального и изомерного строения на углеродных наноматериалах

Шогенов Ю.Х., Кучменко Т.А.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Гражулене С.С.

Институт проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН, Черноголовка

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

Изучены особенности сорбции паров спиртов нормального и изомерного строения на углеродных наноматериалах, оценены кинетика и интенсивность взаимодействия. Показана перспективность применения углеродных наноматериалов для разработки газовых сенсоров на основе пьезокварцевых микровесов и возможность селективного детектирования спиртов в смесях.

Ключевые слова: сорбция, углеродные нанотрубки, фуллерены, спирты, пьезокварцевое микровзвешивание.

Features of alcohols with normal and isomeric structures vapors sorption on carbon nanomaterials are studied, estimated kinetics and intensity of interaction. Perspectivity of application carbon nanomaterials for development of gas sensor controls on the basis of piezoquartz microweights and an opportunity of selective detecting of alcohols mixes is shown.

Key words: sorption, carbon nanotubes, fullerenes, alcohols, piezoquartz microweights

Введение

В аналитической практике часто решаются проблемы отдельного определения близких по строению и свойствам веществ нативной природы в смесях. Например, при оценке одного из показателей качества и подлинности (натуральности) винных, коньячных изделий устанавливают присутствие и соотношение концентраций изобутанола, втор-бутанола и изопентанола, которые образуются в результате брожения и вызревания виноматериалов [1]. Отсутствие или заниженное содержание этих веществ трактуется как фальсификация продукции [2]. Анализ смесей спиртов изомерного и нормального строения традиционно проводится методами газо-жидкостной хроматографии, хромато-масс-спектрометрии [3]. Однако, часто анализ не возможен без длительной многостадийной пробоподготовки, при которой частично утрачиваются

анализируемые вещества, что приводит к большим погрешностям их определения, либо сложен и предполагает амортизацию дорогостоящей ресурсоемкой аппаратуры. Анализ другими методами обычно затруднен мешающим действием больших концентраций спиртов нормального строения. Задача может быть решена альтернативным методом с применением массива пьезосенсоров, организованных по методологии «электронного носа». Управление избирательностью и эффективностью микровзвешивания паров и газов проводят путем формирования на поверхности пьезосенсоров чувствительных сорбционных покрытий [4]. Они различны по своей природе и свойствам, но проявляют перекрестную избирательность к определяемым веществам. Однако по совокупности сигналов массива неселективных сенсоров (один из вариантов «визуальный отпечаток») возможно установление тонких различий в качественном и количественном составе многокомпонентных смесей газов и паров. Проблемой является выбор материалов сорбционных покрытий, отвечающих следующим требованиям: высокая сорбционная активность по отношению к спиртам, различия в характере сорбции спиртов нормального и изомерного строения, большая скорость сорбции и десорбции, долговечность и хорошая воспроизводимость сигналов.

В качестве сорбционных покрытий сенсоров изучены углеродные наноматериалы (УНМ). Они характеризуются большой порозностью, хорошей газопроницаемостью, механически прочны, химически инертны, длительное время не меняют своих первоначальных свойств. Такие покрытия не предполагают избирательности, но обеспечивают высокую эффективность сорбции [5]. Кроме того, сорбция на УНМ протекает быстрее, чем на стандартных для метода пьезокварцевого микровзвешивания полимерных сорбционных покрытиях, что позволяет сократить продолжительность измерения и время получения аналитического сигнала.

Ранее на примере аренов установлено, что геометрия молекулы сорбата в значительной мере влияет на сорбцию его УНМ [6]. Для одноатомных спиртов наибольшее значение будет иметь геометрия алкильного радикала (линейного или разветвленного строения).

Таблица 1. Генезис УНМ и характеристики покрытий сенсоров

| № | Материал | Способ синтеза | t_c , °C | Катализатор | Обработка | Растворитель или основа | Масса покрытия, мкг |
|---|-----------------------------|----------------------|------------|-------------|-----------|-------------------------|---------------------|
| 1 | УНТ | Пиролиз C_2H_5OH | 550 | Ni | – | хлороформ | $4,1 \pm 0,2$ |
| 2 | УНТ | Пиролиз C_2H_5OH | 550 | Ni | HNO_3 | хлороформ | $4,3 \pm 0,2$ |
| 3 | УНТ | Пиролиз C_2H_5OH | 550 | Fe | HF | хлороформ | $4,2 \pm 0,2$ |
| 4 | УНТ | Пиролиз C_2H_5OH | 450 | Ni | HNO_3 | хлороформ | $4,2 \pm 0,2$ |
| 5 | УНТ | Электродуговой метод | | Ni | – | хлороформ | $4,0 \pm 0,2$ |
| 6 | Фуллерены $C_{60} - C_{70}$ | Электродуговой метод | | Ni | – | толуол | $10,4 \pm 0,3$ |

Цель исследования – изучение особенностей сорбции одноатомных спиртов нормального и изомерного строения ($C_2 - C_5$) сорбционными покрытиями сенсоров на основе УНМ и разработка способа их отдельного детектирования в смесях.

Измерения проводили на анализаторе газов типа «электронный нос» «МАГ-8» (ООО «СенТех», г. Воронеж), снабженном массивом из шести пьезосенсоров с УНМ, различающимися строением, условиями синтеза и способом обработки.

Для модификации пьезосенсоров применяли растворы фуллеренов C_{60} – C_{70} , полученных электродуговым методом в среде гелия (ВГТА, кафедра УКМТ, г. Воронеж), и ультразвуковые суспензии углеродных нанотрубок (УНТ), синтезированных методом газофазного пиролиза этанола на Ni или Fe катализаторах при температуре (t_c) 450 или 550 °С (ИПТМ, г. Черноголовка). Некоторые образцы УНМ перед нанесением обрабатывали концентрированными HF или HNO_3 . Характеристики покрытий сенсоров приведены в табл. 1.

В качестве сорбатов изучены: этанол, изопропанол, бутанол, втор-бутанол, изобутанол, изопентанол. Сорбцию проводили в статических условиях с инъекцией паров спиртов в ячейку детектирования. Концентрация в ячейке детектирования для всех спиртов близка к предельной для $t = 20$ °С. Такие условия позволяют оценить максимальную сорбционную емкость покрытий.

Обсуждение результатов

С применением сканирующего электронного микроскопа JSM-6380 LV (ЦКПНО ВГУ, г. Воронеж) в режиме вторичных электронов изучена структура применяемых УНМ. На рис. 1 приведены микрофотографии фуллеренов (рис. 1, а) и углеродных нанотрубок до обработки (рис. 1, б) и после обработки концентрированными HNO_3 (рис. 1, в) и HF (рис. 1, г).

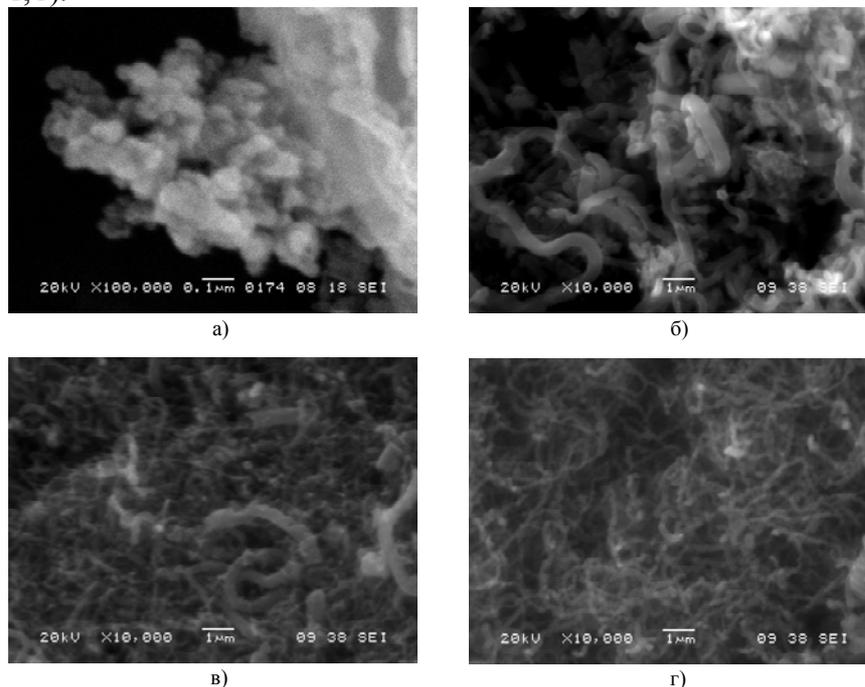


Рис. 1. Микроструктура фуллеренов (а) и УНТ без обработки (б), после обработки HNO_3 (в) и HF (г)

Установлено, что УНМ образуют пористые структуры с большой удельной поверхностью. Углеродные нанотрубки до обработки кислотами объединяются в конгломераты в виде нитей толщиной порядка 180 – 570 нм, что уменьшает удельную поверхность материала. Обработка кислотами существенно изменяет структуру,

разрушая конгломераты нанотрубок и удаляя остатки катализатора. После обработки HNO_3 толщина нитей составляет 70 – 410 нм, а после обработки HF уменьшается до 40 – 120 нм. Такие изменения влияют на поверхность, и значит сорбционные свойства покрытий, оценку которых проводили в статических сорбционных системах с легколетучими спиртами в идентичных условиях с применением пьезокварцевых микровесов.

В табл. 2 представлены максимальные отклики сенсоров с УНМ (X , Гц), которые соответствуют изменению частоты колебаний пьезокварцевой пластины при сорбции паров спиртов в закрытой ячейке детектирования с инжекторным режимом ввода пробы (статическая сорбция) – ΔF_{max} , Гц.

Как видно из таблицы, ни одно из покрытий не проявляет заметной избирательности к какому-либо из анализируемых спиртов. Однако, в ряду УНМ установлены существенные различия в их сорбционной активности по отношению к парам алкильных спиртов. Так, наибольшее количество паров сорбирует покрытие из углеродных нанотрубок № 5, синтезированных электродуговым способом, наименьшее – из углеродных нанотрубок № 1, синтезированных пиролизом при высоких температурах и необработанных кислотами.

Таблица 2. Максимальные отклики сенсоров с УНМ в парах спиртов, $t_c = 20 \pm 2$ °C ($n = 10$, $P = 0,95$)

| Сенсоры | Сорбаты | | | | | | | | | | | |
|--|--------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | Этанол | | Изопропанол | | н-Бутанол | | втор-Бутанол | | Изобутанол | | н-Пентанол | |
| | $X^* \pm \Delta X$ | $\Delta, \%$ |
| 1 (УНТ, Ni, необр, 550°C) | 13±1 | 8 | 14±1 | 7 | 14±1 | 7 | 11±1 | 9 | 9±1 | 11 | 10±1 | 10 |
| 2 (УНТ, Ni, HNO_3 , 550°C) | 51±3 | 6 | 50±2 | 4 | 51±3 | 6 | 52±2 | 4 | 44±2 | 5 | 41±2 | 5 |
| 3 (УНТ, Fe, HF , 550°C) | 17±1 | 6 | 15±1 | 7 | 17±1 | 6 | 10±1 | 10 | 9±1 | 11 | 9±1 | 11 |
| 4 (УНТ, Ni, HNO_3 , 450°C) | 84±4 | 5 | 69±2 | 3 | 90±4 | 4 | 59±3 | 5 | 51±3 | 6 | 51±3 | 6 |
| 5 (УНТ) | 98±4 | 4 | 101±4 | 4 | 106±4 | 4 | 68±3 | 4 | 63±3 | 5 | 62±3 | 5 |
| 6 (фуллерены, смесь C_{60} – C_{70}) | 51±3 | 6 | 52±3 | 6 | 30±2 | 7 | 44±2 | 5 | 36±2 | 6 | 37±2 | 5 |

X^* – ΔF_{max} , Гц

При изменении концентрации в околосенсорном пространстве все изучаемые спирты на любом одном из исследуемых покрытий могут давать сходные отклики, в результате идентификация сорбата и его количественное определение невозможны. Индивидуальность спиртов проявляется, когда применяется совокупность сигналов сенсоров с различными УНМ.

В идентичных условиях получены «визуальные отпечатки» сигналов сорбции паров анализируемых спиртов на массиве шести сенсоров с УНМ (рис. 2).

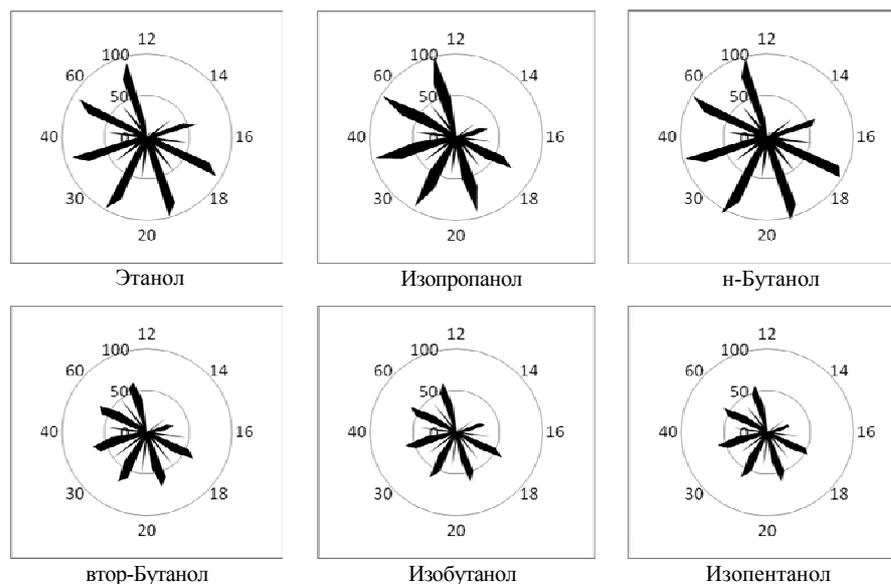


Рис. 2. «Визуальные отпечатки» сигналов сенсоров в парах анализируемых спиртов (по радиальной оси отложено время экспозиции сенсоров, с, по векторной оси – отклики сенсоров, ΔF , Гц)

Геометрия «визуальных отпечатков» сигналов сенсоров в парах спиртов нормального и изомерного строения отличается не более, чем на 13 %. Этого различия недостаточно для отдельного их детектирования. Для увеличения различий «визуальные отпечатки» строятся по данным, оптимизированным по специальному алгоритму, учитывающему вклад каждого из сенсоров в общую сорбцию и исключаящему из суммарного сигнала незначимые параметры. В результате такой обработки «визуальные отпечатки» сигналов сенсоров в парах анализируемых спиртов приобретают вид (рис. 3).

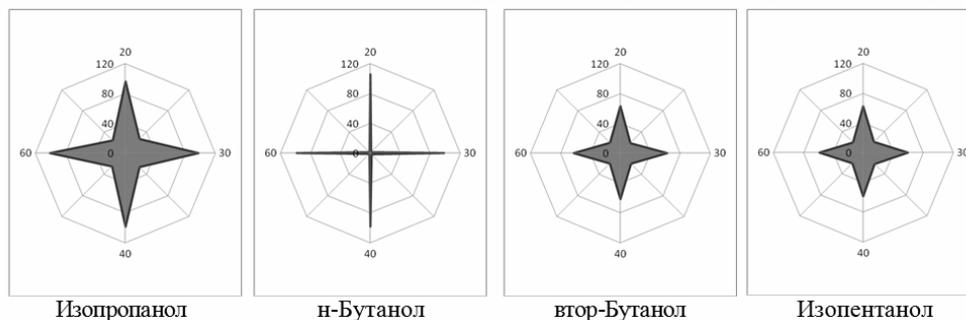


Рис. 3. Оптимизированные «визуальные отпечатки» сигналов сенсоров в парах анализируемых спиртов

Геометрия оптимизированных «визуальных отпечатков» для спиртов нормального и изомерного строения существенно отличаются. Такие различия позволяют однозначно установить какие спирты (нормального или изомерного строения) присутствуют в образце. Площадь «визуальных отпечатков» определяется концентрацией спиртов. При изменении их концентрации в околосенсорном пространстве форма «визуальных отпечатков» не меняется, но меняется их площадь. Таким образом, по площади «визуального отпечатка» возможно установить концентрацию спиртов в модельных смесях (погрешность не более 6 %).

Если в ячейку детектирования инжектировать смесь спиртов нормального и изомерного строения, то «визуальный отпечаток» такой смеси будет отличаться от аналогичного для индивидуальных спиртов без примесей. Для примера приведены

«визуальные отпечатки» насыщенных паров этанола, изобутанола и их смеси в объемном соотношении 1:1 (рис. 4).

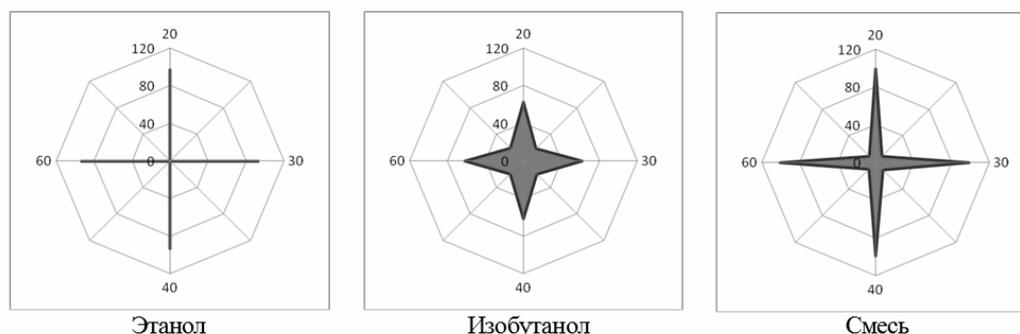


Рис. 4. Оптимизированные «визуальные отпечатки» сигналов массива сенсоров в парах этанола, изобутанола и их смеси.

Таким образом, оптимизированные «визуальные отпечатки» позволяют однозначно установить наличие спиртов изомерного строения при их концентрации не менее 4 % масс. от общего содержания спиртов в смеси, однако алгоритм их построения сложен. Для детектирования спиртов-изомеров используем относительный коэффициент эффективности сорбции (K), рассчитанный как отношение сигналов двух сенсоров в массиве. В применяемом массиве выбраны сенсоры с покрытиями № 5 и 6, так как они характеризуются максимальной эффективностью сорбции и селективностью к изучаемым спиртам. В табл. 3 приведены значения K для анализируемых спиртов во временном срезе от 6 до 60 с, дискретность сканирования – 8 с.

Таблица 3. Значения K для анализируемых спиртов

| Сорбат \ Время сорбции, с | Время сорбции, с | | | | | | | | |
|---------------------------|------------------|------|------|------|------|-------------|------|------|--|
| | 6 | 14 | 22 | 30 | 38 | 46 | 54 | 60 | |
| Этанол | 3,75 | 4,04 | 4,14 | 4,23 | 4,29 | 4,39 | 4,35 | 4,34 | |
| Изопропанол | 1,81 | 1,90 | 1,98 | 2,05 | 2,09 | 2,11 | 2,14 | 2,15 | |
| н-Бутанол | 3,44 | 3,73 | 3,87 | 3,94 | 4,00 | 4,05 | 4,09 | 4,08 | |
| втор-Бутанол | 1,54 | 1,52 | 1,54 | 1,55 | 1,55 | 1,58 | 1,58 | 1,59 | |
| Изобутанол | 1,80 | 1,75 | 1,77 | 1,80 | 1,83 | 1,84 | 1,83 | 1,84 | |
| Изопентанол | 1,72 | 1,67 | 1,71 | 1,76 | 1,75 | 1,79 | 1,79 | 1,77 | |

Из табл. 3 следует, что значения K для спиртов нормального и изомерного строения различаются. Максимальные различия наблюдаются через 46 с после ввода пробы, поэтому это время выбрано в качестве одного и оптимального для сканирования сигналов сенсоров при анализе смесей.

Оценена метрологическая надежность выбранного критерия для шести исследуемых спиртов по сигналам сенсоров с УНТ и фуллеренами после 46 с сорбции. Рассчитанные значения K и погрешности его измерения приведены в табл. 4.

Для смеси спиртов нормального и изомерного строения K изменяется в диапазоне, ограниченном значениями относительных коэффициентов эффективности сорбции, характерными для присутствующих в смеси спиртов. Для спиртов нормального строения K имеет значения, близкие к 4, с увеличением разветвленности алкильного радикала относительные коэффициенты эффективности сорбции резко уменьшаются, с

увеличением числа звеньев в углеродной цепи – снижаются. Значение K для смесей линейно зависит от соотношения содержаний спиртов нормального и изомерного строения в смеси. Такая зависимость позволяет детектировать в смеси спирты изомерного строения при их концентрации не менее 3 % от общего содержания спиртов в пробе и оценить соотношение спиртов нормального и изомерного строения.

Таблица 4. Значения K и Δ для анализируемых спиртов ($n = 5$, $P = 0,95$)

| № измерения Сорбат | K | | | | | Δ , % |
|-----------------------|------|------|------|------|------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Этанол | 4,26 | 4,45 | 4,48 | 4,48 | 4,28 | 2,7 |
| Изопропанол | 1,89 | 2,11 | 2,15 | 2,25 | 2,21 | 7,1 |
| н-Бутанол | 4,10 | 4,01 | 4,08 | 4,12 | 3,98 | 1,7 |
| втор-Бутанол | 1,43 | 1,47 | 1,72 | 1,75 | 1,55 | 17,7 |
| Изобутанол | 1,84 | 1,82 | 1,70 | 1,82 | 1,85 | 13,0 |
| Изопентанол | 1,75 | 1,94 | 1,84 | 1,64 | 1,80 | 6,7 |

Правильность способа детектирования спиртов изомеров в смеси проверена методом «введено-найдено». Для этого получены сигналы сенсоров и рассчитаны значения K при анализе равновесных газовых фаз над этанолом, изобутанолом и их смесью (объемное соотношение спиртов – 1:1). В табл. 5 приведены экспериментально полученные и расчетные значения K для данных систем.

Таблица 5. Экспериментально полученные и расчетные значения K при детектировании этанола, изобутанола и их смеси сенсорами с УНТ № 5 и фуллеренами

| Анализируемая система | K | | Δ , % |
|-----------------------|-------------|--------|--------------|
| | Эксперимент | Расчет | |
| Этанол | 4,37 | 4,39 | 0,46 |
| Изобутанол | 1,85 | 1,84 | 0,54 |
| Смесь | 3,27 | 3,12 | 4,8 |

Установлено, что экспериментальные значения K для идентифицируемых спиртов близки к расчетным.

Таким образом, установлено, что особенности сорбции изомеров спиртов на УНМ можно применить для их определения в смесях с помощью массива из двух пьезосенсоров, модифицированных углеродными наноматериалами.

Достоинствами сенсоров с УНМ являются: хорошая воспроизводимость откликов сенсоров и быстрота сорбции и десорбции (время получения отклика – 45 – 50 с). Время восстановления системы определяется регенерацией сенсора и ячейки после сорбции и составляет не более 1 мин.

Список литературы

1.ГОСТ Р 51786 – 2001. Водки и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности.

2. Савчук С. А. Контроль качества и идентификация подлинности коньяков хроматографическими методами // Методы оценки соответствия. – 2006. – № 9. – С. 30 – 37.

3. Сотников Е. Е. Газохроматографическое определение вредных веществ в воде и воздухе после предварительного концентрирования // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т. 53, № 3. – С. 323-328.

4. Кучменко Т. А. Применение метода пьезокварцевого микровзвешивания в аналитической химии. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. технол. акад. – 2001. – 280 с.

5. Giselle J.-C., Jordi R., Ruis F. X. Gas sensors based on nanostructured materials // Analyst. – 2007. – Т. 132, № 11. – С. 1083 – 1099.

6. Шогенов Ю. Х., Кучменко Т. А., Гражулене С. С., Редькин А. Н. Применение углеродных нанотрубок для формирования сорбционных покрытий масс-чувствительных пьезосенсоров // Нанотехнологии. – 2008. – № 4. – С. 40 – 46.

Шогенов Юрий Хажсетович – аспирант 2 года обучения кафедры аналитической химии ГОУВПО «ВГТА», Воронеж

Кучменко Татьяна Анатольевна – д.х.н., профессор, зав. кафедрой аналитической химии ГОУВПО «ВГТА», Воронеж, тел.: (4732) 55-07-62

Гражулене Светлана Степановна – д.х.н., профессор, зав. лабораторией ИПТМ РАН, Черноголовка, тел: (496) 524-40-30

Shogenov Yuriy H. - the post-graduate student 2 years of training of analytical chemistry department of Voronezh state technological academy, Voronezh, e-mail:

Shogenov_Yura@mail.ru

Kuchmenko Tatyana A. – doctor of chemistry, professor, head of analytical chemistry department of Voronezh state technological academy, Voronezh, e-mail: tak@vgta.vrn.ru

Grazhulene Svetlana S. - doctor of chemistry, professor, head of laboratory IPTM of the Russian Academy of Science., e-mail: grazhulene@iptm-hpm.ac.ru



УДК 577.152.1: 579

Особенности серного метаболизма и филогенетический анализ хроматограмм нуклеотидных последовательностей гена 16S rRNA у *Azospirillum thiophilum* sp. nov.

Лавриненко К.С., Гриднева Е.В., Логинова О.О., Сыров В.М., Грабович М.Ю.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Черноусова Е.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пуцино

Поступила в редакцию 13.05.2009 г.

Аннотация

Исследован серный метаболизм штамма BV-S^T, выделенного из мата умеренно - термального сульфидного источника Северного Кавказа. Методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена 16S rRNA с последующим анализом полученных хроматограмм показано, что штамм BV-S^T близок филогенетически к представителям класса α - *Proteobacteria* к роду азотфиксирующих микроорганизмов *Azospirillum*. Принимая во внимание морфологические особенности и уровень сходства гена 16S рPHK, штамм BV-S^T был предложен в качестве нового вида рода *Azospirillum* - *Azospirillum thiophilum* sp. nov. Впервые показано, что представитель рода *Azospirillum* - *A. thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T способен к литогетеротрофному росту в присутствии тиосульфата. Методом полимеразной цепной реакции с последующим электрофоретическим анализом ПЦР продукта обнаружен функциональный ген *nifH*, что указывает на способность *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T к азотфиксации.

Ключевые слова: *Azospirillum thiophilum* sp. nov., серный метаболизм, литогетеротрофный рост, филогенетический анализ, ген 16S rRNA, ген *nifH*.

The sulfur metabolism of a strain BV-S^T isolated from a mat collected at an outflow of a moderately thermal sulfide spring of the Northern Caucasus was investigated. The sequencing of 16S rRNA gene with the following analysis of the received chromatograms has shown that the strain BV-S^T is closely related to the genus of the associative *Azospirillum* bacteria. Take into consideration the morphological and physiological properties and a level of 16S rRNA gene similarity, the strain BV-S^T was proposed as a new species *Azospirillum thiophilum* sp. nov. For the first time a member of the genus *Azospirillum* was shown to be capable of lithoheterotrophic growth with the reduced sulfur compounds. The oxidation of thiosulfate is connected with the respiratory chain functioning as shown by an inhibitor analysis. The PCR method with the following gel electrophoresis of PCR product has shown that *Azospirillum thiophilum* sp. nov. strain BV-S^T is capable of nitrogen fixation.

Key words: *Azospirillum thiophilum* sp. nov., sulfur metabolism, lithoheterotrophic growth, phylogenetic analysis, gene 16S rRNA, gene *nifH*

Введение

Бесцветные серобактерии являются гетерогенной группой и относятся к различным таксонам, но они обладают одним общим свойством - способны

вовлекать в метаболические процессы, восстановленные соединения серы и откладывать элементарную серу внутри клеток в их присутствии.

Группа бесцветных серобактерий с каждым годом пополняется новыми представителями, которые ранее считали типичными органогетеротрофными бактериями. Развитие в сероводородных биотопах гетеротрофных организмов может индуцировать у них способность к литотрофному росту, и в присутствии сульфидов откладывать элементарную серу внутри клеток. Ранее такой тип адаптации к сероводородным биотопам был обнаружен у *Leucothrix mucor*, *Sphaerotilus natans* [1]. В связи с этим, целью наших исследований была идентификация и изучение серного метаболизма у diaзотрофного штамма BV-S^T, выделенного из серного мата, обнаруженного на выходе умеренно-термального сероводородного источника «Бесстыжие ванны», г. Пятигорск, Ставропольский край.

Материалы и методы

Для выделения штамма BV-S^T использовали полужидкую среду PSS следующего состава: (NH₄)₂SO₄ – 1,0 г/л, CaCl₂ · 2H₂O – 0,03 г/л, MgSO₄·7H₂O – 1,0 г/л, тиосульфат натрия – 1г/л, сукцинат натрия – 1,0 г/л, пептон – 2,0 г/л, дистиллированная вода – 1л, набор витаминов и микроэлементов [2], агар – 1,7 г/л с добавлением суспензии FeS [3].

Определение S₂O₃²⁻, S₄O₆²⁻ при их совместном присутствии в среде проводили методом раздельного иодометрического титрования [4].

Элементарную серу внутри клеток идентифицировали по характерному светопреломлению в проходящем поляризованном свете.

ДНК выделяли фенольным методом [5], в сочетании с процедурой замораживания-оттаивания биомассы [6]. Ген 16S рРНК амплифицировали с праймерами 27f и 1492g согласно протоколу [7]. Амплификацию фрагмента гена *nifH* проводили с использованием пары вырожденных праймеров F1- *nifH*-3r (табл.1) отработанных Федоровым и др [8]. Амплификацию проводили на приборе GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, USA).

Продукты амплификации подвергали электрофорезу в 1%-ном агарозном геле и окрашивали этидиум бромидом. В качестве электрофоретического буфера использовали 0.5x трис-боратный буфер (10x ТБЭ буфер: 0.89 М трис-НСl (108 г/л); 0.89 М борная кислота (55 г/л); 20 мМ ЭДТА (9.3 г/л)).

После электрофоретического разделения полосы ДНК визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете.

Определение нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК проводили с праймерами 27f, 1100g, 785f и 1492g на секвенаторе CEQ2000XL (Beckman Coulter, USA). Нуклеотидную последовательность гена *nifH* определяли с помощью праймера F1. Полученные хроматограммы анализировали с помощью программы Chromas 1.45. Отредактированные нуклеотидные последовательности фрагментов генов 16S рРНК и *nifH* были сравнены с последовательностями генов 16S рРНК и *nifH* из банка генов национального центра биологической информации с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST/>). Выравнивание нуклеотидных последовательностей и построение матрицы сходства проводили в программе CLUSTAL X.

Определение ферментативной активности проводили в супернатанте из двухсуточной культуры в середине фазы экспоненциального роста. Активность тиосульфатоксидоредуктазы (КФ 1.8.2.2) [9], сульфитоксидоредуктазы (КФ

1.8.3.1)[10] определяли спектрофотометрически в супернатанте по скорости восстановления $K_3[Fe(CN)_6]$ и цитохрома *c* в присутствии окисляемого субстрата. Спектрофотометрические исследования с использованием $K_3[Fe(CN)_6]$ и цитохрома *c* проводили при длине волны (λ) 420 и 550 нм, соответственно.

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе

| Название праймера | 5' - 3' последовательность | Специфичность |
|-------------------|----------------------------|-----------------|
| 27 F | AGAGTTTGATCCTGGCTCAG | ген 16S рРНК |
| 1492 R | TACGGYTACCTTGTACGACTT | |
| 785 F | GGMTTAGATACCTGGTAGTCC | |
| 1100 R | GGGTTGCGCTCGTTG | |
| F | TAYGGIAARGGIGGIATIGGIAARTC | ген <i>nifH</i> |
| <i>nifH</i> -3r | TTGTTGGCIGCRTASAKIGCCATT | |

АФС-редуктазу (КФ 1.8.99.2) определяли в реакционной среде того же состава, что и для сульфитоксидазы, но с добавлением аденозинмонофосфата (АМФ – 1 мкмоль/л) [11].

Активность *роданазы* (КФ 2.8.1.1) определяли по видоизмененной методике Sorbo [12] по образованию тиоционата, который определяли колориметрическим методом. Активность фермента учитывали в супернатанте по скорости образования тиоционата [13] колориметрическим методом на спектрофотометре СФ-26 при $\lambda=460$ нм.

Скорость потребления кислорода при дыхании суспензии клеток определяли при помощи закрытого электрода Кларка и регистрировали на полярографе «Рекорд-4» (совместное производство Института биофизики РАН и СКБ, Пущино). Регистрацию полярограмм производили по общепринятой методике. Результаты рассчитывали по программе «Рекорд - 4» [14]. В опытах использовали клетки из фазы экспоненциального роста в среде, содержащей 0,2г лактата, 0,2г пептона и 1г тиосульфата в 1л; концентрация тиосульфата в ячейке составляла 12 ммоль/л. Скорость дыхания на тиосульфате определялась за вычетом эндогенного дыхания и химического окисления тиосульфата.

Для изучения особенностей функционирования ЭТЦ у исследуемых бактерий были использованы следующие ингибиторы (мкмоль/л): HQNO (ингибитор флавинохинон-цитохром *c* - участка) - 0,1; антимицин А (ингибитор цитохром в участка) – 0,5; ClCCCP (разобщители окислительного фосфорилирования) 0.06, ротенон (ингибитор NADH) – 50,0, KCN – 10,0.

Результаты и их обсуждение

Штамм BV-S^T был выделен из материала серного мата, обнаруженного на выходе умеренно-термального сульфидного источника «Бесстыжие ванны». Источник располагался в г. Пятигорске Ставропольского края и характеризовался слабой минерализацией (1.4-1.6 г/см²), температурой 28⁰С, слабощелочной рН среды (7.8), концентрацией S/S²⁻ 1.5 – 2 мг·л⁻¹ и концентрацией кислорода – 2-2.5 мг/л. Пробу материала серного мата инокулировали в полужидкую PSS среду,

содержащую FeS. В микроаэробной зоне бактерии росли в виде пленки, расположенной на расстоянии около 3 – 5 мм от поверхности среды [15].

Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК

Молекулярно-генетический анализ выявил наличие 2 копий рибосомных генов 16S рРНК в геноме штамма BV-S^T. На хроматограмме секвенированного фрагмента гена 16S рРНК в 21 позиции наблюдался двойной пик, соответствующий нуклеотидам Т и А (рис.1). Принято считать, что мультикопийность рибосомного оперона обуславливает метаболическую гибкость и как следствие эффективную адаптацию организма к условиям внешней среды. Недавние исследования по изучению почвенных бактерий показали, что количество рибосомных оперонов в геномах членов почвенного бактериального сообщества коррелирует со скоростью адаптации к изменению источников питания. После внесения в почву нового субстрата состав менялся таким образом, что среднее количество копий рибосомных оперонов в геноме у членов сообщества увеличивалось с 1-4 до 5-7. Вероятно, подобная реакция являлась экологической стратегией изменения состава природных бактериальных популяций в ответ на изменения условий питания [16, 18]. В частности, у *E.coli* для поддержания оптимального роста на сложных питательных средах требуется только 5 из 7 рибосомных оперонов, а все 7 оперонов необходимы для быстрой адаптации к новым источникам питания и температурным условиям [17, 18]. Так же, преимущественная однокопийность рибосомных оперонов архей объясняется приспособлением к существованию в узко специализированных экологических нишах [18].

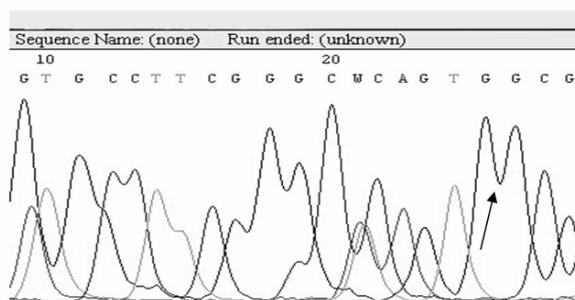


Рис.1 Хроматограмма секвенированного продукта полимеразной цепной реакции, полученного при амплификации гена 16S рРНК с помощью праймеров 27f и 1492r. Стрелкой отмечено присутствие двойного пика в 21 позиции, соответствующего нуклеотидам Т и А (W)

Была определена почти полная нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК (около 1400 нк) у штамма BV-S^T. Штамм BV-S^T оказался близок филогенетически к роду ассоциативных азотфиксирующих микроорганизмов *Azospirillum* в пределах класса α - *Proteobacteria* и имел 97,7% сходства с видом *Azospirillum doebereinae*. Принимая во внимание морфо-физиологические особенности (данные не представлены в статье) и уровень сходства гена 16S рРНК, штамм BV-S^T был предложен в качестве нового вида рода *Azospirillum* - *Azospirillum thiophilum* sp. nov.

Фиксация молекулярного азота

Мы заметили, что штамм BV-S^T способен к росту на среде, не содержащей источника азота. Для оценки способности штамма BV-S^T к азотфиксации была проведена амплификация гена *nifH*, кодирующего Fe – белок нитрагеназы. Ген *nifH*

является маркером азотфиксации и на настоящий момент сформирована представительная база данных, содержащая последовательности *nifH* - генов бактерий из различных мест обитания [8].

Проведенный ПЦР-анализ ДНК с *nifH* ген-специфичными праймерами и последующий электрофорез продуктов реакции в 1% агарозном геле с этидиум бромидом показал наличие одной полосы на гель-электрофореze размером 480 п.н. (рис.2). Поскольку при проведении ПЦР анализа нами использовались вырожденные праймеры, возникает необходимость достоверно убедиться, что полученный ПЦР-продукт является участком гена кодирующего Fe - белок Nif H нитрогеназы. Для этого полученный ПЦР-продукт секвенировали. Было установлено, что он имеет 96,8 % сходства с участком гена *nifH*, кодирующего Fe – белок NifH нитрогеназы *Azospirillum doebereinae*. Помимо этого данная последовательность ПЦР-продукта имела высокий процент сходства с последовательностями *nifH* - генов разных организмов. Это позволяет утверждать, что штамм BV-S^T способен к азотфиксации.

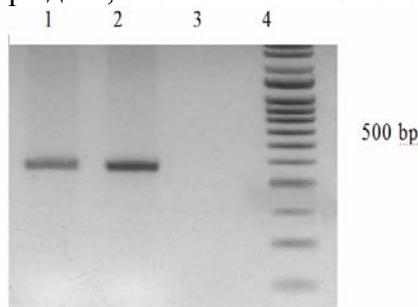


Рис. 2. Выявление функционального гена *nifH*, у *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T

Дорожка 1 – ПЦР с ДНК штамма BV-S; дорожка 2 – ПЦР с ДНК культуры, для которой ранее была отмечена способность к азотфиксации; дорожка 3 – контрольная ПЦР без ДНК – матрицы; дорожка 4 – маркер длины фрагментов ДНК

Окисление серных соединений. Серный метаболизм

Показано, что *Azospirillum thiophilum* sp. nov. способен к окислению восстановленных соединений серы. В присутствии сульфидов может откладывать глобулы элементарной серы внутри клеток.

Основное внимание было сфокусировано на изучении роли восстановленных соединений серы в метаболизме выделенного штамма. Принимая во внимание низкое содержание кислорода в воде источника, в дальнейшей работе было определено влияние кислородного режима на процессы метаболизма тиосульфата у штамма BV-S^T.

A. thiophilum sp. nov. штамм BV-S^T не был способен к окислению тиосульфата в среде в отсутствие используемого органического субстрата. Его окисление в культуральной среде происходило только при одновременном внесении лактата (или сукцината). Анализ продуктов окисления тиосульфата показал, что штамм BV-S^T практически полностью окисляет тиосульфат до тетраионата в эквимольном соотношении (рис. 3).

Окисление серных соединений в культуре *A. thiophilum* sp. nov. сопровождается увеличением урожая клеток в 1,2 раза (рис.4) и увеличению скорости роста и времени генерации.

Показано влияние кислородного режима культивирования на скорость окисления тиосульфата *A. thiophilum* sp. nov. В аэробных условиях роста скорость окисления составила 93 мг/л S/S₂O₃, а в микроаэробных - 250 мг/л S/S₂O₃ (рис.3).

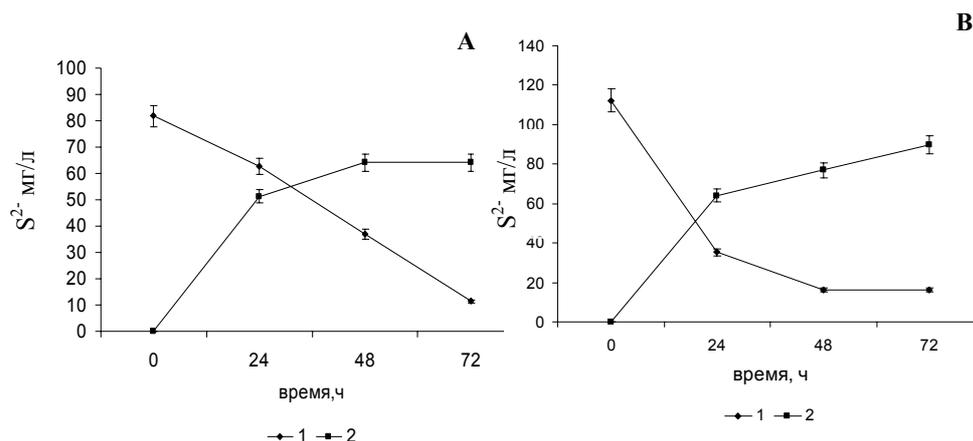


Рис. 3 Динамика окисления тиосульфата и накопление продуктов его окисления *A.thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T. А - при 20 % содержании кислорода в газовой фазе, В – при 5 % содержании кислорода в газовой фазе; 1 – S/S₂O₃, 2 – S/S₄O₆. Среда культивирования содержала 1 г/л тиосульфата натрия и 25 мг/л органических соединений лактата/ сукцината натрия

Учитывая высокую скорость окисления тиосульфата и наличие тетратионата в качестве конечного продукта можно предположить ферментативный характер окисления восстановленных серных соединений клетками штамма BV-S. У исследуемого штамма была определена активность ключевых ферментов диссимиляционного серного метаболизма. В аэробных условиях роста активность *тиосульфатоксидоредуктазы* составила 135,1 – 763,2 нмоль (мин · мг белка). Активности *сульфитоксидоредуктазы* и АФС–редуктазы не было обнаружено. У штамма BV-S^T определена активность *роданазы* (80 нмоль (мин · мг белка)), которая участвует лишь в подготовительном серном метаболизме, расщепляя тиосульфат до сульфит - аниона и S⁰, и не связана с функционированием ЭТЦ.

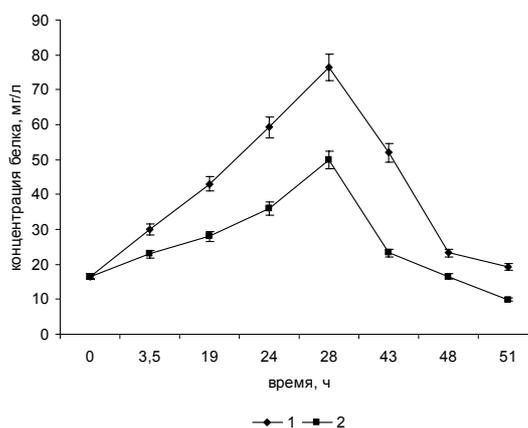


Рис.4 Влияние кислородного режима на рост *A. thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T. 1 – при 20 % содержании кислорода в газовой фазе, 2 – при 5 % содержании кислорода в газовой фазе клеток на среде без тиосульфата

Для выяснения роли серных соединений в энергетическом метаболизме *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамма BV-S^T и для определения места передачи электронов от восстановленных соединений серы (доноров электронов) в ЭТЦ было

исследовано влияние тиосульфата и ингибиторов дыхательной цепи на интенсивность дыхания клеточной суспензии *A. thiophilum* sp. nov. BV-S^T.

Для опытов по изучению способности *A. thiophilum* sp. nov. к дыханию на тиосульфате с помощью полярографического метода использовали суспензию клеток, выращенных на питательной среде с лактатом, тиосульфатом и пептоном. Интенсивность дыхания на тиосульфате в аэробных условиях роста суспензии клеток в среднем составляет 2,4 - 8 нмоль/(мин·мг белка), а в микроаэробных – 67 - 300 нмоль/(мин·мг белка). Эндогенное дыхание на тиосульфате оказалось чувствительным к действию ротенона, ингибирование составило 42,6 - 60% в аэробных и микроаэробных условиях. Ингибиторный эффект HQNO и антимицина А на скорость дыхания суспензии клеток, выращенных в микроаэробных условиях составил 53,4 и 37%, соответственно (табл.2). Окисление тиосульфата чувствительно к разобшителям дыхания и окислительного фосфорилирования – С1СССР. При внесении разобшителя скорость дыхания возрастала в 2,4 раза, что непосредственно указывает на сопряженность процесса окисления тиосульфата с функционированием ЭТЦ. KCN (10мкМ) ингибирует скорость потребления кислорода клетками на 85% - 100%, что указывает на присутствие терминальной оксидазы *aa₃*- типа. Применение ингибиторного анализа позволяет предположить, что процесс окисления тиосульфата сопряжен с функционированием ЭТЦ и электроны поступают в ЭТЦ на уровне убухинон – цит b – цит c участок. Таким образом, впервые показано, что штамм BV-S способен использовать тиосульфат как донор электронов в ЭТЦ, что указывает на возможность литотрофного роста.

Таблица 2. Влияние ингибиторов на тиосульфатзависимое дыхание суспензии клеток *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T, культивируемых в микроаэробных условиях роста

| Скорость потребления кислорода, нмоль/(мин·мг белка) (за вычетом контролей K ₁ и K ₂) | Концентрация ингибитора (мкмоль/л) | Изменение скорости дыхания после внесения ингибитора, нмоль/(мин·мг белка) | Процент ингибирования, % |
|--|------------------------------------|--|--------------------------|
| 67,40 | HQNO (0,1) | 32,22 | 52,2 |
| 58,03 | HQNO (0,1) | 27,03 | 53,4 |
| 300,40 | Антимицин А (0,5) | 189,25 | 37 |
| 161,00 | KCN (10) | 0 | 100 |
| 108,58 | KCN (10) | 2,17 | 98 |

Концентрация тиосульфата 12 ммоль/л; K₁ – химическое окисление; K₂ – эндогенное дыхание

Заключение

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, позволяет рассматривать культуру BV-S^T в составе рода *Azospirillum* как представителя нового вида – *Azospirillum thiophilum* sp. nov. Методом секвенирования гена 16S рРНК с последующим анализом полученной хроматограммы была показана мультикопийность рибосомного оперона в геноме *Azospirillum thiophilum* sp. nov. При этом на хроматограмме секвенированного фрагмента гена 16S рРНК в 21 позиции наблюдался двойной пик, соответствующий нуклеотидам Т и А. Согласно нашим и литературным данным, подобная

мультикопийность рибосомного оперона обуславливала метаболическую гибкость и эффективную адаптацию организма к нехарактерному для diaзотрофных ассоциативных представителей рода *Azospirillum* сероводородному биотопу.

Методом полимеразной цепной реакции с последующим электрофоретическим анализом ПЦР продукта обнаружен функциональный ген *nifH*, что указывает на способность *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T к азотфиксации, характерной для рода *Azospirillum*. Но в отличие от известных представителей *Azospirillum*, *Azospirillum thiophilum* sp. nov. был способен откладывать глобулы элементарной серы внутри клеток в присутствии сульфидов.

Был исследован серный метаболизм diaзотрофной бактерии *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T. Нам впервые удалось показать, что diaзотрофный штамм *Azospirillum thiophilum* sp. nov. способен использовать энергию окисления восстановленных соединений серы в энергетическом метаболизме. Это подтверждается высокой активностью тиосульфатоксидоредуктазы, а так же тем, что окисление соединений серы сопряжено с функционированием ЭТЦ.

Применение ингибиторного анализа показало, что электроны от тиосульфата поступают в ЭТЦ на уровне убихинон – цит b – цит c участок. Предполагается присутствие терминальной оксидазы aa₃-типа. Установлено, что основным фактором, определяющим тип метаболизма у *Azospirillum thiophilum* sp. nov. штамм BV-S^T в присутствии восстановленных соединений серы, является концентрация кислорода. В микроаэробных условиях в значительной степени происходит увеличение скорости окисления восстановленных соединений серы и интенсивности дыхания на тиосульфате, а также происходит индукция синтеза фермента серного метаболизма – тиосульфатоксидоредуктазы.

Список литературы

- 1.Гриднева Е.В. Экофизиология литотрофных сероокисляющих представителей рода *Sphaerotilus* – обитателей сульфидных источников Северного Кавказа. / Е.В. Гриднева, М.Ю. Грабович, Г.А. Дубинина и др./ Микробиология, 2009, том 78, №1, с. 1-9
- 2.Pfennig N.D. Uber das vitamin B₁₂ - bedurfuis phototropher Schwefelbakterien / N.D. Pfennig, K.D. Lippert // Arch. microbiol. - 1966. - Vol. 55, № 1. - P. 245-256.
- 3.Caraway B.H. Aerotaxis in *Spirillum volutans* / B.H. Caraway, N.R. Krieg // Can J Microbiol. - 1974. - Vol. 20. - P. 1367 – 1377.
- 4.Дубинина Г.А Методы изучения водных микроорганизмов/ Г.А.Дубинина, С.И. Кузнецов. – М.: Наука, 1989. – 288с.
- 5.Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Struhl K. (1994). *Current protocols in Molecular Biology*. NY: John Wiley and Sons.
- 6.Bej, A.K., Mahbubani, M.H., Dicesare, J.L. & Atlas, R.M. (1991). Polymerase chain reaction-gene probe detection of microorganisms by using filter-concentrated samples. *Appl Environ Microbiol* 57, 3529–3534.
- 7.Lane, D. G. (1991). Nucleic acids techniques in bacterial systematics, pp.115-175. Edited by E. Stackebrandt and M. Goodfellow. Chichester, United Kingdom: John Wiley.
- 8.Fedorov, D.N., Ivanova, E.G., Doronina, N.V. & Trotsenko, Yu. A. (2008). A new system of degenerative oligonucleotide primers for *nifHD* genes detection and amplification. *Microbiology* 77, 286-288.
- 9.Кретович В.Л. Обмен азота в растениях/ В.Л. Кретович; АН СССР, ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева.- М.: наука,1972.-527с.

10. Крылова Н.Б. Роль микроэлементов в азотфиксации/ Н.Б. Крылова- изд-во; АН СССР, сер. биол., №5,1962.-718с.
11. Манорик А.В. Методы получения и очистки бесклеточных азотфиксирующих препаратов из различных азотфиксирующих организмов/ А.В. Манорик, Е.П. Старченков, В.К. Даценко; АН СССР, ин-т физиологии растений.- Киев: Наука думка. 1971.-71с.
12. Мишустин Е.Н. Биологическая фиксация атмосферного азота/ В.К. Шильникова - М.,1968.-С.32-37.
13. Олейников Р.Р. Физиолого-биохимические особенности клубеньковых бактерий разной азотфиксирующей активности: автореф. дис....канд. биол. наук/ Р.Р. Олейников - М.: ин-т микробиологии АН СССР , 1971.25с.
14. Шольц К.Ф. Ячейка для амперометрического определения кислорода / К.Ф. Шольц, Д.Н. Островский // Методы современной биохимии. - М., 1975. - С. 52-58.
15. Лавриненко К.С. Неассоциированный diaзотрофный представитель рода *Azospirillum*- *Azospirillum thiophilum* sp. nov., выделенный из умеренно-термального сероводородного источника Ставропольского края. / К.С. Лавриненко, Е.В. Гриднева, Е.Ю. Черноусова и др. // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов, выпуск 10, ВГУ, 2008. – С. 133-141.
16. Klappenbach J.A., Dunbar J.M., Schmidt T.M. rRNA operon copy number reflects ecological strategies of Bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2000. V. 66. P. 1328-1333
17. Condon C., Liveris D., Squires C., Shwarts I., Squires C.L. rRNA operon multiplicity in *Escherichia coli* and the physiological implications of *rrn* inactivation // J. Bacteriol. 1995. V. 177. P. 4152-4156
18. Турова Т.П. Мультикопийность рибосомных оперонов прокариот и ее влияние на проведение филогенетического анализа // Микробиология. 2003. Т. 72, №4, с. 437-452

Лавриненко Ксения Сергеевна - аспирант, кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Университетская площадь, Воронеж, тел. (4732) 900-800

Черноусова Елена Юрьевна - аспирант, кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН, Пушкино

Гриднева Елена Васильевна - аспирант, кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж

Логинова Ольга Олеговна - студент, кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж

Сыров Владимир Михайлович - студент, кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж;

Грабович Маргарита Юрьевна – проф, д.б.н., кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж

Lavrinenko Ksenia S. - graduate student, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh, e-mail: lavksen@mail.ru

Chernousova Elena Yu. - graduate student, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino

Gridneva Elena V. - graduate student, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh

Loginova Olga O. – student, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh

Sirov Vladimir M. – student, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh;

Grabovich Margarita Yu. – professor, Doctor of Biology, voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh



УДК 544.777

Поведение сшитого полиакриламида в растворах низкомолекулярных электролитов

Кавалерская Н.Е., Ферапонтов Н.Б.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Поступила в редакцию 15.09.2009 г.

Аннотация

Экспериментально изучено взаимодействие полиакриламида (ПААм), сшитого N,N'-метиленабисакриламидом, с водяным паром, водой и водными растворами NaCl, Na₂SO₄, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄ и сахарозы разных концентраций. Установлена зависимость степени набухания геля полиакриламида от активности воды. Получены кинетические зависимости изменения степени набухания гранул ПААм в растворах сахарозы разных концентраций. Показано, что при одинаковой активности воды сшитый полиакриламид по-разному набухает в растворах разных веществ. Проанализированы возможные причины такого поведения.

Ключевые слова: гель полиакриламида, набухание, кинетика.

The interaction of polyacrylamide cross-linked by N, N'-methylenebisacrylamide (PAAm) with water vapor, water and water solutions of NaCl, Na₂SO₄, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄ and sucrose of different concentration experimentally has been studied. Dependence of degree of swelling of polyacrylamide gel from activity of water is established. Kinetic dependences of change of degree of swelling of PAAm granules in solutions of sucrose of different concentration are received. It is shown that at identical activity of water cross-linked polyacrylamide differently swells in solutions of different substances. The possible reasons of such behaviour are analysed.

Key words: polyacrylamide gel, swelling, kinetics.

Введение

Сшитый полиакриламид является одним из самых востребованных и широко используемых полимеров. Интерес к нему вызван строением полиакриламида, благодаря которому он проявляет гидрофильность, при этом оставаясь неионогенным полимером. Сшитый ПААм представляет собой полимер, в котором полиакриламидные цепи сшиты N,N-метиленабисакриламидом. В растворах амидная группа проявляет слабоосновные свойства за счет неподеленной пары электронов на атоме азота. Сшитый ПААм, набухший в воде или водном растворе, представляет собой полимерный гель. Образование геля происходит за счет взаимодействия полярной амидной группы, которая остается неионогенной, с растворителем. Свойства этой группы имеют важное прикладное значение, поскольку, входя в состав пептидов и белков-соединений, которые имеют фундаментальное значение для всех известных видов жизни, она вносит значительный вклад в их свойства [1].

ПААм является нетоксичным веществом, поэтому его гель часто используют в медицине в качестве биоматериала и в качестве носителя для лекарственных препаратов.

В концентрированных растворах сильных кислот и гидроксидов щелочных металлов амидные группы могут гидролизироваться [2], однако в растворах других соединений они достаточно устойчивы и не вступают в обменные реакции с растворенными веществами. Несмотря на это степень набухания сшитого ПААм в растворах солей и других соединений может заметно различаться. В работе оптическим методом [3], разработанными для изучения строения и свойств гелей полимеров, было исследовано поведение сшитого полиакриламида в растворах различных низкомолекулярных соединений (НМС). Для экспериментов были взяты НМС, что позволило исследовать влияние различной природы катиона и аниона, а также влияние концентрации раствора на степень набухания геля и количество растворенных веществ в нем.

Эксперимент

Методика получения гранулированного сшитого ПААм

Сшитый гранулированный ПААм получали радикальной сополимеризацией в дисперсионной среде (толуол). Необходимость разработки специальной методики получения сшитого ПААм была связана с тем, что сшитый полиакриламид, имеющийся в продаже, содержит в своем составе высокий процент карбоксильных или иных полярных групп, наличие которых мешало бы выполнению поставленных задач.

Синтез сшитого ПААм с 3% сшивкой (ПААм-3), рассчитанной исходя из количества сшивающего агента по отношению к количеству акриламида, проводили следующим образом. Вначале готовили исходный раствор мономеров и инициатора. В стакане на 200 мл в 76 мл воды растворяли 20 г акриламида (ПААм) в качестве мономерного составляющего, 1,34 г N,N'-метиленабисакриламида (BIS) в качестве сшивающего агента и 0,64 г персульфата аммония, который выполняет роль инициатора. После полного растворения компонентов смеси, раствор охлаждали на бане со льдом. Отдельно готовили раствор активатора радикальной полимеризации (0,6 г сульфита калия в 4 мл воды).

Для получения полимера в виде гранул в трехгорлую колбу объемом 500 мл, снабженную термометром и механической мешалкой, заливали 250 мл толуола, применяемого в качестве дисперсионной среды. После охлаждения смеси мономеров и инициатора до 273-278 К, в нее приливали 1 г стабилизатора дисперсионной системы, в качестве которого применялся Span-80. Затем в смесь приливали раствор активатора, перемешивали в течение 10-15 с. и вливали в колбу с толуолом и интенсивно работающей мешалкой. Следили за тем, чтобы размер диспергированных капель был оптимальным. Температура реакционной смеси не превышала 313 К. Полимеризацию, сопровождающуюся перемешиванием, проводили в течение 2х часов. После этого, полимер многократно декантировали водой в стакане, отделяя таким образом от органической дисперсионной среды, затем промывали гексаном и помещали в воду. Полученный полиакриламидный гель представлял собой прозрачные гранулы диаметром $D = 0,2 - 2$ мм.

По этой же методике получали ПААм с 6% сшивки (ПААм-6). В этом случае в исходный раствор мономеров добавляли 2,68 г сшивающего агента. Кроме того, был синтезирован ПААм с 3% сшивкой, но из более (в 2 раза) разбавленного

раствора (ПААм-3р). Этот синтез проводили, растворяя исходные мономеры в удвоенном количестве воды. Результаты потенциометрического титрования показали отсутствие в полученных полимерах карбоксильных групп.

Методика изучения набухания гелей оптическим методом.

Использование в работе оптического метода [2,4] позволило с высокой точностью определять изменение размера гранул полимера, находящихся непосредственно в анализируемом растворе. Установка для проведения эксперимента (рис. 1) состоит из ячейки, микроскопа, цифрового фотоаппарата, персонального компьютера (ПК) с поддержкой USB и соединительного шнура для передачи данных в реальном времени с фотоаппарата на жесткий диск ПК. В качестве источника света в приборе используется сверхъяркий зеленый светодиод, установленный под предметным столиком микроскопа. Программная часть состоит из двух приложений для ПК: программы для получения изображения с фотоаппарата и программы обработки измерений, хранящейся в графическом файле.

Отобранные гранулы полимера сферической формы (обычно 5 штук), находящиеся в равновесии с водой, помещали каждую в свою ячейку и заливали водой. Выдерживали гранулы в растворе в течение 1 часа. Затем планшет с ячейками накрывали покровным стеклом и устанавливали на предметном столике микроскопа так, чтобы изображение измеряемой гранулы находилось в центре экрана цифрового фотоаппарата. Точность определения размера гранулы зависит от качества изображения (резкости, выдержки и яркости), которые устанавливали вручную. При этом разброс результатов, который в основном определяет ошибку, не превышал 0,3%. Полученный снимок сохраняли на жестком диске ПК. Объем гранулы определяли с помощью установленной в ПК программы. Его вычисляли на основании измерения площади изображения гранулы на дисплее цифрового фотоаппарата.

После окончания измерений из ячеек удаляли воду и заливали гранулы раствором электролита известной концентрации. Выдерживали гранулы в растворе до установления равновесия между гранулой и раствором исследуемого электролита и затем проводили новые измерения. Для сопоставления результатов, полученных на гранулах разного исходного размера, использовали их относительные объемы:

$$V_{\text{отн}} = V_i / V_0$$

где: V_i – объем гранулы в растворе i -ой концентрации; V_0 – объем гранулы в воде.

Получаемые значения не зависят от исходных размеров гранул, и их можно сравнивать между собой. Результаты расчетов заносили в таблицы, которые вошли в базу данных прибора.

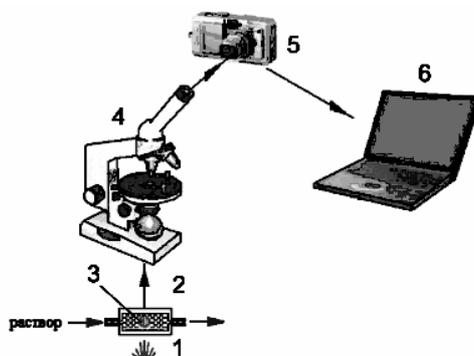


Рис. 1. Схема прибора: 1 – источник света; 2 – ячейка; 3 – гранула; 4 – микроскоп; 5 – цифровой фотоаппарат; 6 – компьютер

Методика изучения кинетики набухания оптическим методом.

Эксперимент проводили с использованием прибора, описанного выше. Гранулу полиакриламидного геля предварительно приводили в равновесие с водой и измеряли ее объем. Затем заливали раствором сахарозы известной концентрации и измеряли в нем объем гранулы каждую минуту в течение часа. После этого гранулу, приведенную в равновесие с раствором сахарозы, переносили в ячейку с водой и также измеряли ее объем каждую минуту в течение часа. Для эксперимента были отобраны гранулы, диаметр которых в воде был около 1 мм.

Обсуждение результатов

Изучение геля ПААм оптическим методом

На начальном этапе работы проводили исследование кинетики установления равновесия между внешним раствором и гранулой полиакриламидного геля. В качестве растворенного НМС была выбрана сахароза. Использование такого объекта, имеющего достаточно большой размер молекулы, позволило установить время, необходимое для приведения гранул в равновесие с растворами НМС. Результаты исследования скорости набухания геля ПАА в растворах сахарозы приведены на рис. 2, 3.

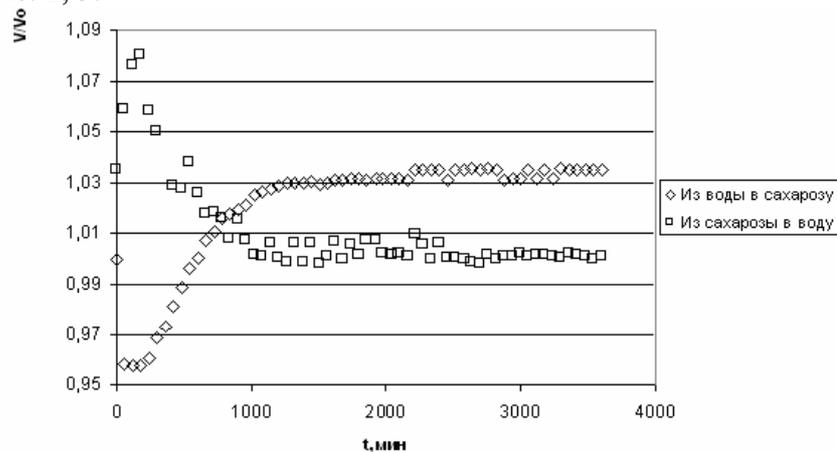


Рис. 2. Кинетика набухания ПАА в 0.25н растворе сахарозы

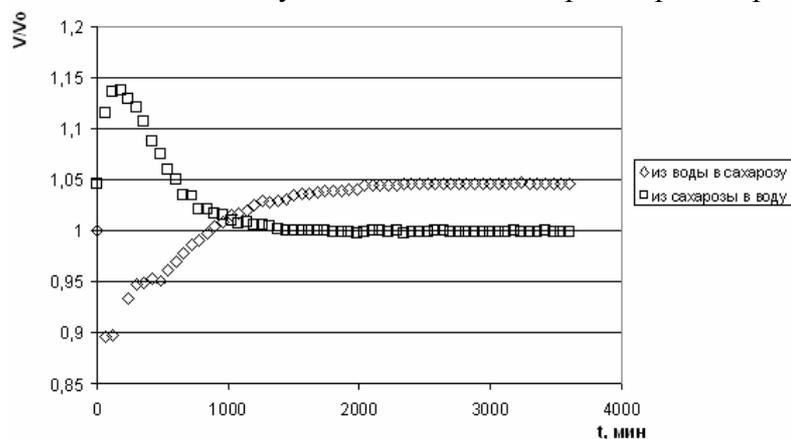


Рис. 3 Кинетика набухания ПАА в 0.5 н растворе сахарозы

Из них следует, что для установления равновесной степени набухания гранулы в растворе требуется порядка 30-35 минут, т.к. при этом времени относительный объем гранулы выходит на плато. Полученный результат учитывали при проведении дальнейших экспериментов. Следует обратить внимание на интересную форму зависимости набухания гранул от времени. Хорошо видно, что вначале объем гранулы скачком изменяется, а затем плавно приходит к равновесному значению.

На следующем этапе было изучено влияние концентрации раствора сахарозы и сшивки ПААм на степень набухания геля ПААм в растворах сахарозы. Было проведено измерение изменения относительного объема гранул в растворах сахарозы различной концентрации для ПААм-3 и для ПААм-6. Результаты проведенных измерений приведены на рис. 4.

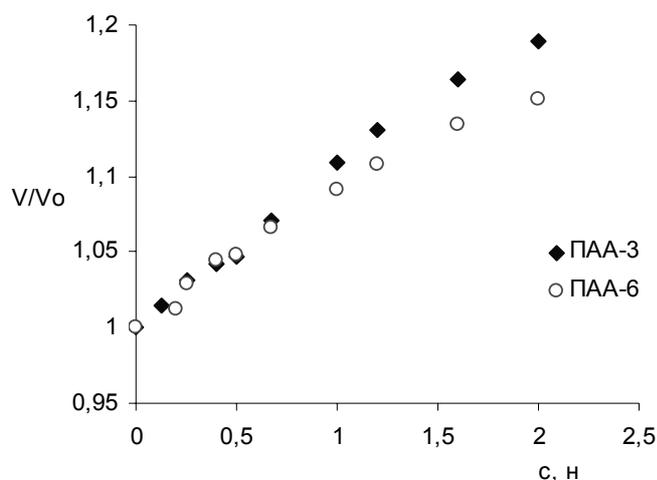


Рис. 4. Изменение равновесных значений относительного объема гранул ПААм геля с 3% и 6% сшивки в зависимости от концентрации раствора сахарозы

Нетрудно заметить, что в растворах этого НМС относительный объем гранул всегда больше, чем в чистой воде. Вероятно, это связано с тем, что спиртовые группы сахарозы способны образовывать водородные связи с амидными группами полимера. Это становится возможным за счет перераспределения электронной плотности и образования частичного положительного заряда на атоме азота, как это показано на рис. 5. Проникая внутрь гранулы, молекула сахарозы не только образует водородные связи, но и несет с собой молекулы воды, т.к. является гидратированной.

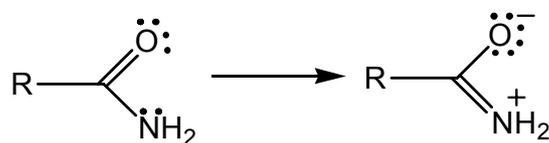


Рис. 5. Мезомерное строение ПААм

Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о том, что гель ПААм-3 набухает в концентрированных растворах сахарозы сильнее, чем гель ПААм-6. Для измерений, проводимых оптическим методом, лучшие результаты дают образцы, имеющие наибольшую разницу в объемах гранул в растворе, поэтому в качестве объекта дальнейшего исследования была выбрана именно эта модификация полимера.

В растворах электролитов гель ПААм ведет себя иначе. В этом случае достаточно четко прослеживается влияние на степень набухания геля как природы катиона, так и природы аниона растворенного вещества. Зависимости относительного объема гранул ПААм-3 от концентрации раствора для некоторых электролитов представлены на рис. 6. В экспериментах были использованы растворы электролитов, значения концентраций и активностей воды в которых приведены в табл. 1.

Таблица 1. Концентрации и активности растворов низкомолекулярных соединений, выбранных для проведения оптических экспериментов

| Растворы | | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| NaCl | | | | | | | |
| C, н | 0,04 | 0,13 | 0,25 | 0,50 | 1,01 | 2,01 | 4,03 |
| a _w | 1,00 | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,93 | 0,83 |
| Na ₂ SO ₄ | | | | | | | |
| C, н | 0,08 | 0,16 | 0,31 | 0,62 | 1,25 | 2,5 | - |
| a _w | 0,998 | 0,996 | 0,993 | 0,988 | 0,977 | 0,957 | - |
| NH ₄ Cl | | | | | | | |
| C, н | 0,13 | 0,32 | 0,95 | 1,59 | 2,22 | 3,17 | - |
| a _w | 0,99 | 0,99 | 0,97 | 0,95 | 0,92 | 0,88 | - |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | | | | | | | |
| C, н | 0,13 | 0,30 | 0,90 | 1,50 | 2,10 | 3,00 | - |
| a _w | 0,995 | 0,992 | 0,983 | 0,973 | 0,962 | 0,944 | - |
| Сахароза | | | | | | | |
| C, н | 0,12 | 0,25 | 0,50 | 0,67 | 1,00 | 1,60 | 2,00 |

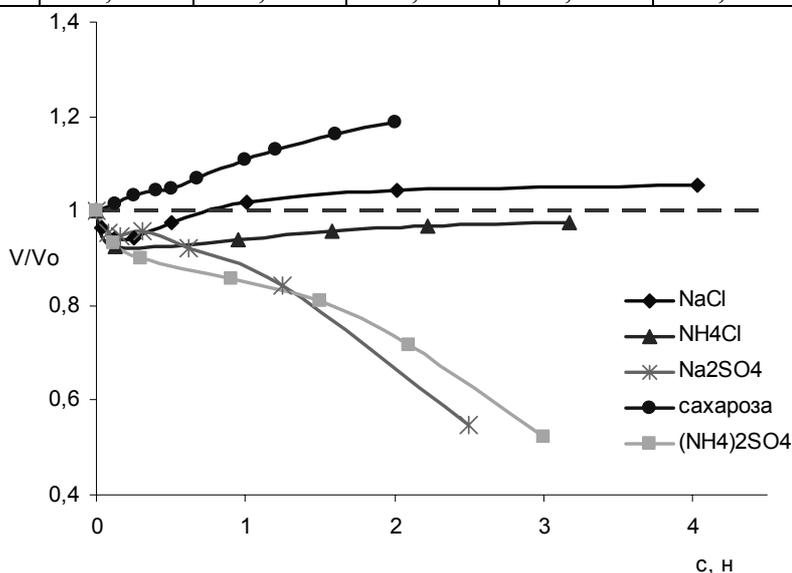


Рис. 6. Влияние концентрации раствора на изменение относительного объема гранул ПААм-3 в растворах различных низкомолекулярных соединений

Из результатов, приведенных на рис. 6, видно, что как природа, так и концентрация растворенного вещества влияют на поведение полиакриламидного геля, причем по-разному. Существует несколько причин, по которым может наблюдаться такое влияние. Перечислим некоторые из них. Во-первых, это изменение активности воды в растворе электролита по сравнению с чистой водой.

Во-вторых, это взаимодействие полимера с растворенными веществами, в результате которого, в зависимости от природы растворенного вещества, могут как разрываться водородные связи между полимерными цепями, так и образовываться новые между полимером и растворенным веществом. Количество таких связей зависит от природы и концентрации растворенного вещества и влияет на степень набухания геля.

Из результатов, приведенных на рис. 6, видно, что в растворах сахарозы увеличение ее концентрации приводит к увеличению числа разорванных водородных связей между полимерными цепями и, соответственно, к увеличению степени набухания геля. Сравнение влияния на объем геля ионов Na^+ и NH_4^+ говорит о том, что на разрыв водородных связей большее влияние оказывают ионы Na^+ . Что касается анионов, то известно [5], что SO_4^{2-} - группы способны образовывать водородные мостики между OH - группами органических молекул. Вероятно, это и приводит к тому, что в растворах сульфатов степень набухания геля ПААм заметно ниже, чем в растворах хлоридов. Однако, для того, чтобы точно установить, которая их причин вносит более весомый вклад, необходимо провести еще серию экспериментов.

Заключение

В работе приведена методика синтеза гранулированного сшитого ПААм. Оптическим методом исследованы некоторые свойства гелей этого полимера.

Изучена кинетика набухания геля ПААм в растворах сахарозы. Установлено, что этот процесс имеет сложный характер, что подтверждается экспериментальной зависимостью степени набухания полимера от времени. Не исключено, что такое протекание процесса связано с различием в вязкостях воды и растворов сахарозы, однако этот вывод требует дополнительной проверки. Исследовано влияние количества сшивающего агента на степень набухания геля ПААм в растворах сахарозы. Установлено, что, как и для других сшитых полимеров, увеличение количества сшивающего агента приводит уменьшению степени набухания в растворах одинакового состава. Кроме того, в работе изучено влияние природы и концентрации некоторых низкомолекулярных соединений на степень набухания геля ПААм. Показано, что на эту величину оказывает влияние как природа катиона, так и природа аниона. Однако и этот вопрос требует более глубокого исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой научно-технической программы – грант 2006-РП-112.0/001/0052 и РФФИ – грант 05-03-32297.

Список литературы

1. Островский В.Е., Кадышев Е.А. Использование данных о системе ПАА-вода для анализа структуры равновесно обводненной дезоксирибонуклеиновой кислоты. // Журн. физ. химии. 2000. Т. 74. № 7. С. 1242-1252.
2. Куренков В.Ф. Водорастворимые полимеры акриламида. // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 5. С. 48-53

3.Ферапонтов Н.Б., Рубин Ф.Ф., Ковалева С.С. Безреагентный способ определения содержания компонентов в растворе и устройство для его осуществления.// Патент РФ № 228250. 29 апреля 2005 г. БИ № 24. 27 августа 2006 г.

4.Ферапонтов Н.Б., Ковалева С.С., Рубин Ф.Ф. Определение природы и концентрации растворенных веществ методом набухающей гранулы// Журн. аналит. химии. 2007. Т.62. №10. С.1028-1033.

5.Aquilanti V., Cappelletti D., Pirani F. Range and strength of interatomic forces: dispersion and induction contributions to the bonds of dications and of ionic molecules.// Chemical Physics. 1996. V. 209. P. 299-311.

Кавалерская Наталья Евгеньевна – аспирант, химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, тел.: (495) 939-40-19

Ферапонтов Николай Борисович – Ведущий научный сотрудник, д.х.н., химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Kavalerskaya Natalya E – Postgraduate student, Chemistry Department, Moscow State University, Moscow e-mail: nattrii@rambler.ru

Ferapontov Nikolay B. – Leading researcher, Doctor of Science, Moscow State University, Chemistry Department, Moscow



УДК 541

Приближенная математическая модель массопереноса и сорбции в химическом концентраторе-сенсоре для инструментального анализа

Золотарев П.П.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

Поступила в редакцию 10.03.2009 г.

Аннотация

Рассмотрена приближенная модель массопереноса и сорбции в химическом концентраторе - сенсоре для рентгенофлуоресцентного анализа растворов при постоянной концентрации целевых компонентов в потоке. Модель может быть использована для нахождения основных массообменных параметров такого сорбционного сенсора.

Ключевые слова: химический сенсор, сорбция, массоперенос

Approximated model of mass-transfer and sorption in chemical concentrator – sensor for x-ray fluorescence analysis of solutions at fixed concentrations of target components in flow is considered. The model can be applied for computation of main mass-exchange parameters of such a sorption sensor.

Key words: chemical sensor, sorption, mass transfer

Введение

Сорбционные концентраторы могут быть использованы как принципиально важные части аналитических приборов нового поколения для определения малых концентраций компонентов в растворах, в том числе, в поточном анализе [1]. Они представляют собой миниатюрные устройства, содержащие сорбционно-активный слой для концентрирования определяемых компонентов. При использовании рентгенофлуоресцентного анализа такие устройства выполняют роль сенсоров, дающих при облучении вторичное рентгеновское излучение высокой интенсивности, позволяющее повысить на несколько порядков чувствительность анализа. Принципиально важное значение при использовании таких аналитических инструментов имеет кинетика массообменных процессов, в связи с чем представляется важным обсуждение теоретических моделей для сорбционных сенсоров [2].

Простейшая линейная одномерная модель массопереноса

Сорбционные сенсоры представляют собой многоканальные поликапиллярные структуры, в которых каждый из сотен тысяч микроканалов содержит одну микрогранулу сорбента. Микрогранулы сосредоточены в одном из торцов поликапиллярной трубки и образуют активный сорбционный слой [1]. Кинетическая модель процессов массообмена может быть построена с учетом схемы одной из множества одинаковых, параллельно расположенных элементарных ячеек накопительной системы, представляющей собой перевернутый «микроколодец» с раствором, в котором свободно перемещается гранула сорбента. Для простоты теоретического описания единичная ячейка может быть перестроена так, как показано на рис.1, с характерными геометрическими параметрами: на продольной координате x , $x = 0$ соответствует границе внешнего потока раствора, а $x = H$ - границе между внутренним раствором и сорбционным слоем. Последний представляется в виде цилиндрической таблетки толщиной R , у которой боковая и одна из торцевых поверхностей непроницаемы.

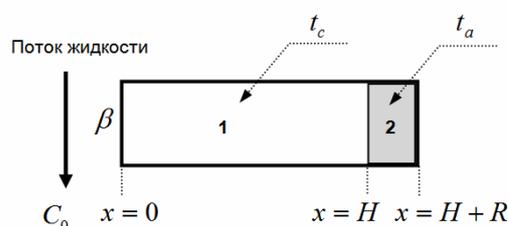


Рис.1. Схема элементарной ячейки сорбционного сенсора. 1 – капиллярный канал с анализируемым раствором; 2 - сорбент

В соответствии с [2] применим упрощенную модель массопереноса:

$$\frac{\partial c'}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c'}{\partial x^2}, \quad 0 \leq x \leq H, \quad (1)$$

$$c'(x,0) = 0, \quad -D \left. \frac{\partial c'}{\partial x} \right|_{x=0} = \beta [c'(0,t) - c_0], \quad (2)$$

где $c'(x,t)$ - локальная концентрация определяемого компонента в канале, t - время, D - коэффициент диффузии компонента в жидкости, β - коэффициент массопереноса компонента на внешней границе сенсора (при $x = 0$). Предполагается, что массообмен осуществляется в общем случае с конечной скоростью.

Для гранулы сорбента в сенсоре в согласии с рис.1 будем иметь следующие уравнения и условия:

$$\frac{\partial a'}{\partial t} = D_a \frac{\partial^2 a'}{\partial x^2}, \quad H \leq x \leq H + R, \quad (3)$$

$$a'(x,0) = 0, \quad \left. \frac{\partial a'}{\partial x} \right|_{x=H+R} = 0, \quad (4)$$

где $a'(x,t)$ - локальная концентрация, D_a - коэффициент внутренней диффузии компонента в фазе сорбента.

На границе гранулы сорбента ($x = H$) выполняются следующие условия сопряжения:

$$a'(H, t) = \Gamma c'(H, t), \quad D_a \frac{\partial a'}{\partial x} \Big|_{x=H} = D \frac{\partial c'}{\partial x} \Big|_{x=H}, \quad (5)$$

где $\Gamma = Const$ - коэффициент распределения (коэффициент Генри) для линейной изотермы сорбции (линейное приближение приемлемо для микрокомпонентов).

Условие (4) представляет собой условие отсутствия потока вещества на границе зерна сорбента, примыкающего к конечному торцу сенсора. Второе условие (5) представляет собой условие равенства диффузионных потоков определяемого компонента на границе зерна сорбента и внутреннего раствора.

В рассматриваемой модели характерные времена диффузионного процесса в канале ($0 \leq x \leq H$) и в сорбенте ($H \leq x \leq H + R$), а именно, t_c и t_a , запишутся следующим образом:

$$t_c \approx H^2/D, \quad t_a \approx R^2/D_a \quad (6)$$

В нашем случае $D \approx 10^{-5}$ см²/с, $D_a \approx 10^{-8}$ см²/с, $H \approx 10^{-1}$ см, $R \approx 8 \cdot 10^{-4}$ см [1]. Таким образом, наш случай характеризуется тем, что $t_a \ll t_c$, а коэффициент внешнего массопереноса β произволен. В дальнейшем влияние внешнего массопереноса будем характеризовать безразмерным параметром $Bi = \beta H/D$.

Приближения для предельного случая

При $t_a \ll t_c$ и произвольном значении критерия $Bi(\beta)$ с хорошим приближением можно рассматривать такой предельный случай: $t_a \rightarrow 0$, t_c - конечно и $t_\beta \propto H/\beta$ - конечно. Тогда можно считать, что $a'(x, t) \approx a'(t) = \langle a' \rangle$, где $\langle a' \rangle$ - средняя по зерну сорбента концентрация сорбата в момент времени t .

В указанном случае вместо уравнения (3) и условий (4) и (5) будем иметь:

$$V \frac{d\langle a' \rangle}{dt} = -SD \frac{\partial c'}{\partial x} \Big|_{x=H}; \quad \frac{d\langle a' \rangle}{dt} = -\frac{D}{R} \frac{\partial c'}{\partial x} \Big|_{x=H}; \quad \langle a'(0) \rangle = 0 \quad (7)$$

Здесь $V = SR$ - объем зерна сорбента, S - площадь торцевой поверхности.

Можно также записать:

$$\langle a'(t) \rangle = \Gamma c'(H, t), \quad \frac{d\langle a' \rangle}{dt} = \Gamma \frac{\partial c'}{\partial t} \Big|_{x=H} \quad (8)$$

В условиях (8) второе соотношение получено простым дифференцированием первого условия по времени.

Сравнивая выражения (7) и (8), получаем условие (при $t_a \ll t_c$ и $x = H$):

$$\Gamma \frac{\partial c'}{\partial t} \Big|_{x=H} = -\frac{D}{R} \frac{\partial c'}{\partial x} \Big|_{x=H} \quad (9)$$

Таким образом, в указанном предельном случае задача для концентрации $c'(x, t)$ полностью выделяется и описывается уравнением и условиями (1), (2) и (9). Кинетическая кривая будет в этом случае выражаться, согласно определению, следующим образом:

$$F(t) = \langle a'(t) \rangle / a_0 = c'(H, t) / c_0 \quad (10)$$

Для удобства введем далее следующие безразмерные переменные и параметры:

$$\eta = x/H, \quad \tau = tD/H^2 = t/t_c, \quad c(\eta, \tau) = c'/c_0 \quad (11)$$

Тогда вместо уравнений и соотношений (1), (2), (9) и (10) будем иметь:

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 c}{\partial \eta^2}, \quad 0 \leq \eta \leq 1, \quad (12)$$

$$c(\eta, 0) = 0, \quad \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} = -Bi[c(0, \tau) - 1], \quad \rho \left. \frac{\partial c}{\partial \tau} \right|_{\eta=1} = - \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=1}, \quad (13)$$

$$\rho = \Gamma \frac{R}{H} = \Gamma \delta, \quad F(\tau) = c(1, \tau) \quad (14)$$

Таким образом, при $t_a \ll t_c$ и произвольном значении $\beta(Bi)$ вместо полной задачи (1)-(5), описывающей массообмен в сорбционном сенсоре, будем иметь задачу для концентрации $c = c'/c_0$ в области $0 \leq x \leq H$, которая в безразмерном виде формулируется как уравнения и условия (12) и (13). После решения этой задачи, используя последнее соотношение (14), находим выражение для кинетической кривой $F(\tau)$.

Приближенное решение

Рассмотрим теперь приближенное решение обсуждаемой модели (12),(13). В этом решении скорость распространения «диффузионной волны» считается конечной. Поэтому решение может быть условно разбито на два этапа. Первый этап – существенно нестационарный – начинается при $\tau = 0$ и заканчивается при $\tau = \tau^*$, когда диффузионная волна дойдет до границы $\eta = 1$ ($x = H$). На этом этапе, как нетрудно видеть, вместо уравнений и условий (12),(13) можно приближенно написать:

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 c}{\partial \eta^2}, \quad 0 \leq \eta \leq 1, \quad 0 \leq \tau \leq \tau^*, \quad (15)$$

$$c(\eta, 0) = 0, \quad \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} = -Bi[c(0, \tau) - 1], \quad \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=1} = 0$$

Задача (15) эквивалентна задаче теплопроводности для пластины толщиной $2H$ (точнее, ее первому этапу), решение которой подробно описано и изложено в виде таблиц и графиков [3] (в качестве примера). Как следует из этого решения, величина τ^* зависит от параметра Bi и некоторой величины c^* - «условного нуля» концентрации: $\tau^* = f(Bi, c^*)$. При фиксированном значении c^* величина τ^* увеличивается с уменьшением Bi ; она минимальна при наиболее интенсивном внешнем массообмене, когда $Bi \rightarrow \infty$. С увеличением c^* время τ^* также увеличивается.

На указанном этапе основная проблема состоит в выборе реалистичного значения величины c^* . Это можно сделать различными способами.

Мы поступим следующим образом. Рассмотрим предельный случай $Bi \rightarrow \infty$, и будем искать решение методом интегральных соотношений [4-6]. Конкретная процедура состоит в том, что приближенно считаем:

$$c(\eta, \tau) = A_1(\tau) + B_1(\tau) \cdot \eta + E_1(\tau) \cdot \eta^2, \quad 0 \leq \tau \leq \zeta(\tau), \quad c(\eta, \tau) = 0, \quad \zeta(\tau) \leq \eta \leq 1, \quad (16)$$

$$c(0, \tau) = 1, \quad c(\zeta(\tau), \tau) = 0, \quad \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=\zeta(\tau)} = 0 \quad (17)$$

Здесь $\zeta(\tau)$ - неизвестная заранее подвижная граница, на которой выполняется второе и третье уравнение из условий (17).

Для определения неизвестной величины $\zeta(\tau)$ используем интегральное соотношение:

$$\frac{d}{dt} \int_0^{\zeta(\tau)} c d\eta = - \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} \quad (18)$$

которое получается интегрированием основного дифференциального уравнения (12) по области $0 \leq \tau \leq \zeta(\tau)$.

Процедура решения уравнений (16)-(18) подробно описана ранее [4-6]. Решение приводит к соотношениям:

$$\tau = \zeta^2/12 \quad \text{откуда следует} \quad \tau_* = 1/12 \approx 0,08 \quad (19)$$

Приведенное решение обладает достаточной для практических целей точностью [4-6]. Используя его и решение указанной выше задачи теплопроводности для пластины [3], имеем: $c^* \approx 0,03$. Исходя из этого значения и используя результаты численных расчетов для пластины при различных Bi [3], можно представить зависимость τ^* от Bi в виде таблицы.

Таблица 1. Зависимость τ^* от Bi при фиксированном значении $c^* \approx 0,03$

| Bi | ∞ | 4 | 1 | 0,4 | 0,2 | 0,1 |
|--------------|----------|------|------|------|------|------|
| τ^* | 0,08 | 0,11 | 0,15 | 0,20 | 0,30 | 0,45 |
| $\tau^{*,'}$ | 0,08 | 0,12 | 0,17 | 0,22 | 0,29 | 0,38 |

Третья строка в этой таблице составлена из результатов расчетов τ^* по приближенной формуле:

$$\tau^{*,'} = \tau^{*,\infty} + b/\sqrt{Bi}, \quad b = 0,09, \quad \tau^{*,\infty} = \tau^* \Big|_{Bi=\infty} \quad (20)$$

Как видно из приведенной таблицы в диапазоне значений Bi от ∞ до 0,1, аппроксимация τ^* приближенной формулой (20) может быть признана удовлетворительной.

Если из эксперимента становится известной величина τ^* , то число Bi можно найти, строя с помощью приведенной таблицы график зависимости $\tau^* = \varphi(1/Bi)$ или используя приближенную формулу (20).

На втором этапе, который может быть назван условно «этапом выравнивания концентрации c » и который начинается при $\tau = \tau^*$ ($\tau^* \leq \tau \leq \infty$), приближенно ищем решение задачи (12),(13) в квазистационарном виде:

$$c(\eta, \tau) = A_2(\tau) + E_2(\tau) \cdot \eta \quad (21)$$

Это означает, что зависимость c от η соответствует стационарному уравнению диффузии, но коэффициенты A_2 и E_2 считаются зависящими от τ . Они должны удовлетворять граничным условиям (13) (при $\eta = 0$ и $\eta = 1$), что может быть записано в виде:

$$\left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} = -Bi[c(0, \tau) - 1], \quad \rho \left. \frac{\partial c}{\partial \tau} \right|_{\eta=1} = - \left. \frac{\partial c}{\partial \eta} \right|_{\eta=1} \quad (22)$$

После подстановки выражения (21) в (22) и некоторых преобразований получаем:

$$A_2(\tau) = 1 + \frac{E_2(\tau)}{Bi}, \quad \frac{dE_2}{d\tau} = - \frac{Bi}{\rho(Bi+1)} E_2(\tau) \quad (23)$$

Начальное условие для дифференциального уравнения (23) получается из соотношения:

$$c(1, \tau^*) = 0 \quad (24)$$

С учетом выражения (21) и первого из соотношений (23) это дает:

$$E_2(\tau^*) = -1/[1 + (1/Bi)] \quad (25)$$

Интегрируя дифференциальное уравнение (23) с учетом (25), получаем:

$$E_2(\tau) = -\frac{1}{1 + (1/Bi)} \exp\left[-\frac{Bi(\tau - \tau^*)}{\rho(1 + Bi)}\right] \quad (26)$$

Тогда, имеем:

$$c(1, \tau) = \begin{cases} 0, & 0 \leq \tau \leq \tau^* \\ 1 + E_2(\tau)[1 + (1/Bi)], & \tau \geq \tau^* \end{cases} \quad (27)$$

Используя соотношение (14) для кинетической кривой $F(\tau)$ в рассматриваемом приближении находим:

$$F(\tau, Bi) = \begin{cases} 1 - \exp\left[-\frac{Bi \cdot (\tau - \tau^*)}{\rho(1 + Bi)}\right], & \tau \geq \tau^* \\ 0, & 0 \leq \tau \leq \tau^* \end{cases} \quad (28)$$

Если обозначить $\tau_1 = \tau - \tau^*$, то вместо (28) получаем:

$$F(\tau, Bi) = 1 - \exp\left[-\frac{Bi \cdot \tau_1}{\rho(1 + Bi)}\right], \tau \geq \tau^* \quad (29)$$

При $[Bi \cdot \tau_1 / \rho(1 + Bi)] \ll 1$ вместо (29) будем иметь приближенную линейную зависимость:

$$F(\tau, Bi) \approx \frac{Bi \cdot \tau_1}{\rho(1 + Bi)} \quad (30)$$

Важно отметить, что протяженность линейного участка (30) по времени увеличивается с уменьшением критерия Bi .

Если известна величина ρ , то выражения (28)-(30) могут быть использованы для нахождения числа Bi из опытных данных.

В заключение укажем, что полученное приближенное решение может быть усовершенствовано для малых величин τ с помощью преобразования Лапласа, как это делалось ранее для более простых случаев [3]. Используя уравнение (12) и условия (13) и (14) переходим от кинетической кривой $F(\tau)$ к ее изображению по Лапласу:

$$F(S) = \int_0^{\infty} e^{-S\tau} F(\tau) d\tau \quad (31)$$

Как видно из таблицы 1, в которой показаны зависимости $\tau^* = f(Bi)$, при $0,1 \leq Bi \leq \infty$, величины τ^* существенно меньше 1. Малые значения τ в изображении соответствуют большим значениям S . Если удастся представить $F(S)$ в виде ряда, все члены которого, кроме первого ($F_1(S)$), малы при больших значениях S , то можно приближенно считать: $F(S) \approx F_1(S)$. Переходя от изображения к оригиналу, получаем приближенно: $F(\tau) \approx F_1(\tau)$ при малых значениях τ .

Список литературы

1. Хамизов Р.Х., Груздева А.Н., Мясоедова Г.В., Кумахов М.А., Золотарев П.П. Сорбц. хроматографич. процессы, 2005, т. 5, № 4, с. 448 – 460.
2. Груздева А.Н, Токмачев М.Г., Тихонов Н.А., Хамизов Р.Х., Сорбц. хроматографич. процессы, 2008, т. 8, № 2, с. 202-209.
3. Лыков А.В., Теория теплопроводности. М., Высшая школа, 1967, с.191-216.
4. Чарный И.А. Подземная гидродинамика, М., Гостоптехиздат, 1963, с.272-297.
5. Гудман Т. В сб. «Проблемы теплообмена», М., Атомиздат, 1967, ч.1, с.41-61
6. Беляев Н.М., Рядно А.А. Методы нестационарной теплопроводности. М., Высшая школа, 1978, с.204-221.

Золотарев Павел Петрович – д.х.н., профессор, лаборатория стабильных изотопов химфака МГУ. Т. (495)9391087(p.)

Zolotarev Pavel P. – Dr.Sc., professor, laboratory of stable isotopes, chemical faculty, Moscow state university, e-mail:



УДК 541.182.023.4`2/.3.644:546.82

О свойствах поверхности титаногелей

Семушин В.В., Печенюк С.И.

Учреждение Российской Академии наук Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева Кольского научного центра, Апатиты

Поступила в редакцию 8.04.2009 г.

Аннотация

Методом адсорбции гидроксильных групп определены величина рН истинной точки нулевого заряда (4.82 ± 0.05) и удельная поверхность свежеосаждённого титаногеля, равная $1219 \text{ м}^2/\text{г}$. Исходя из величины удельной поверхности, рассчитан средний эффективный диаметр дисперсных частиц свежеосаждённого титаногеля, равный 5 нм. Выявлено отсутствие влияния фонового электролита типа 1:1 на адсорбционную ёмкость титаногеля по ОН-группам. В ходе старения в 0.25 М растворе NaCl в области значений рН 8.5 ± 0.5 в течение 2-4 лет титаногель с сорбированными катионами цветных металлов в незначительной степени кристаллизуется с образованием брукита. Удельная поверхность титаногеля при старении уменьшается до $200\text{-}500 \text{ м}^2/\text{г}$, в зависимости от природы адсорбированных катионов. Библиография - 14 ссылок.

Ключевые слова: титаногель, точка нулевого заряда, удельная поверхность, адсорбция гидроксильных групп, сорбированные катионы, старение.

The value of pristine point of zero charge (4.82 ± 0.05) and specific surface area ($1219 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) for freshly prepared oxyhydroxide titanium(IV) gel have been determined by hydroxo group adsorption method. The average effective diameter (5 nm) of gel dispersed particles has been calculated out of the specific surface area value. It was found that background electrolyte of 1:1 type does not influenced on titanogel adsorption capacity of OH-groups. During the ageing in 0.25 M NaCl solution at pH 8.5 ± 0.5 titanogels with adsorbed nonferrous metal cations weakly crystallize into brookite. The specific surface area decreases during the ageing to $200\text{-}500 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ depending on adsorbed cation nature. References – 14.

Key words: titanogels, point of the zero charge, specific surface, adsorption of hydroxyl groups, adsorbed cations, ageing.

Введение

Оценка величин удельной поверхности ($S_{\text{уд}}$) аморфных гидрогелей оксигидроксидов (ОГ) металлов является достаточно трудной задачей. Это обусловлено тем, что большинство известных способов измерения $S_{\text{уд}}$ высокодисперсных веществ основано на адсорбции из газовой фазы и непригодно для применения в случае влажных образцов. Для измерения адсорбции газов (паров) образцы предварительно высушивают [1], в результате чего величины $S_{\text{уд}}$ могут сильно изменяться по сравнению с исходным, влажным образцом. Тонкая структура, которой обладают гидрогели, после такой обработки утрачивается [2]. Результаты традиционных методов измерения $S_{\text{уд}}$ аморфных ОГ металлов зависят от способов и

конкретной методики их обработки [3]. Измерения адсорбции из растворов дают более надежные данные по определению $S_{уд}$ в таких системах. Оценка величины $S_{уд}$ по размерам частиц геля [3] недостаточно точна, так как не учитывается внутренняя поверхность частиц. Наиболее достоверные результаты может дать метод, основанный на адсорбции частиц с простым составом, малыми размерами и устойчивой структурой, концентрацию которых в растворе можно определять легко, точно и быстро. В случае гидрогелей ОГ металлов такими частицами являются ОН-группы. В нашей предыдущей работе [4] на основании величин сорбции ОН-групп определены удельные поверхности образцов свежесажженных гидрогелей ОГ Fe^{III} , Cr^{III} , Zr^{IV} , In^{IV} , полученных при различных рН осаждения ($pH_{ос}$) и отмытых от маточного раствора, и показано, что их $S_{уд}$ не зависит от $pH_{ос}$.

В настоящей работе этим же методом определили $S_{уд}$ свежесажженного гидрогеля ОГ Ti^{IV} . Согласно [4], определение $S_{уд}$ гидрогелей требует предварительного определения $pH_{ТНЗ}$, что также было выполнено. Кроме того, исследовали влияние времени и адсорбированных катионов цветных металлов (КЦМ) на состав и свойства титаногеля. На основании полученной величины $S_{уд}$ рассчитали средний эффективный диаметр дисперсных частиц свежесажженного титаногеля.

Эксперимент

Для получения титаногеля использовали метод быстрого щелочного гидролиза [5] реактивного $TiCl_4$ (фирма Merck-Schuchardt, плотность 1.728 г/л). Нужную aliquоту $TiCl_4$, (в пределах 0.008-0.004 моль) быстро разбавляли водой до ~ 50 мл и при постоянном перемешивании и рН-метрическом контроле с помощью лабораторного рН-метра «рН 211 Hanna Instruments» с комбинированным электродом «НН 1131В Hanna Instruments» нейтрализовали 2 М раствором NaOH до установления в суспензии заданного значения рН осаждения ($pH_{ос}$), устойчивого в течение ~ 5 мин. Осадок ОГ отделяли от маточного раствора и трижды промывали H_2O декантацией с применением центрифугирования, каждый раз в течение 5 мин при $n=2000$ об/мин. Отмытый образец использовали для экспериментов. Все эксперименты проводили при температуре $22 \pm 1^\circ C$.

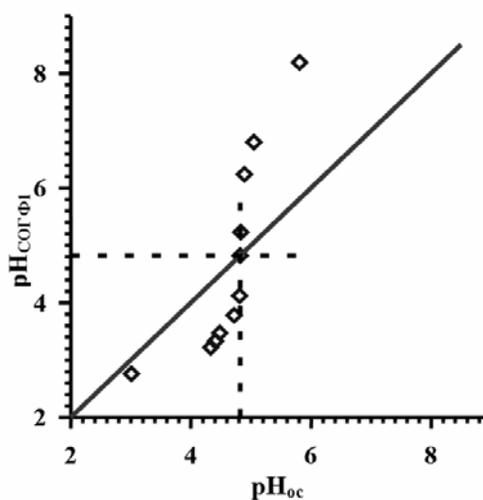


Рис. 1. Определение истинного $pH_{ТНЗ}$ свежесажженного титаногеля

Определение истинной $pH_{ТНЗ}$ свежееосаждённого титаногеля. Для определения истинной $pH_{ТНЗ}$ титаногель осаждали при различных значениях pH . Полученный гель отмывали декантацией, как описано выше, затем измеряли pH суспензии отмытой гелевой фазы ($pH_{СОГФ}$). По полученным данным строили график зависимости $pH_{СОГФ}$ от $pH_{ос}$. По графику определили точку, в которой $pH_{ос}$ было равно $pH_{СОГФ}$ (рис.1). Это значение $pH_{ос}$ составило 4.82 ± 0.05 . Образцы с таким $pH_{ос}$ титровали по методу Паркса [6] при трех различных значениях ионной силы раствора. Потенциометрическое титрование проводили на том же pH -метре и с тем же электродом, в кварцевой ячейке полуоткрытого типа, в токе аргона. Осадок титаногеля, полученный, как описано выше, суспендировали в 50 мл дистиллированной воды и синхронно продували аргоном суспензию и 150 мл раствора электролита в течение ~ 1 часа для удаления растворенного CO_2 . Затем суспензию геля вносили в раствора электролита ($NaCl$), так чтобы в конечном объеме суспензии концентрация электролита составляла 1.0, 0.1 и 0.01 моль/л. Для установления первоначального значения pH при титровании добавляли строго определенное и во всех случаях для данной серии образцов одинаковое количество раствора бескарбонатной щелочи, и титровали суспензию 0.1 N раствором HCl (фиксанал), фиксируя значения pH , соответствующие исходной точке и каждой добавленной порции титранта. Время установления кислотно-основного псевдоравновесия (псевдоравновесие, поскольку гель – неравновесная фаза) “гель - раствор” для каждой серии образцов составляло не более 3 минут. Каждому опыту по титрованию образца геля соответствовал холостой опыт титрования электролита в тех же условиях. Количество избыточно адсорбированных H_3O^+ и OH^- определяли путем сравнения pH суспензии ($pH_{сусп.}$) и pH раствора в холостом опыте (pH_0) при данном объеме титранта. Величину $pH_{ТНЗ}$ находили графически (как точку пересечения графиков зависимостей $pH_{сусп.}$ vs $V_{титр}$ и $pH_{эл}$ vs $V_{титр}$) и расчетным способом. **Эксперименты показали, что титрование обратимо, следовательно, образцы в процессе титрования щелочью практически не изменяются.** (Обратимость титрования означает, что при обратном титровании щелочного раствора кислотой с добавлением эквивалентных количеств кислоты и при прямом титровании щелочью получают одинаковые значения pH , в результате чего кривые прямого и обратного титрования совпадают. Из этого следует, что титрование щелочью не вызывает необратимых изменений образца). Результаты титрования показали, что полученные величины $pH_{ТНЗ}$ соответствуют 4.82 и не зависят от величины ионной силы; следовательно, это значение соответствует величине истинной $pH_{ТНЗ}$.

Оценка удельной поверхности титаногеля. Величины адсорбции OH^- -групп определяли титрованием суспензии гидрогеля раствором $NaOH$. Титрование проводили с помощью лабораторного иономера «И-160М», в кварцевой ячейке полуоткрытого типа, в токе аргона, с комбинированным электродом «HI 1131В Hanna Instruments» (калибровка проводилась по двум буферным растворам с pH 10.01 и 12.45), погруженным в реакционную смесь. В качестве фонового электролита использовали 0.1M растворы $NaCl$ и $NaNO_3$. Значение pH , установившееся после совмещения раствора электролита и суспензии, принимали за начальную точку кривой титрования. Затем добавляли порциями раствор 0.15 N $NaOH$, каждый раз выдерживали систему в течение 3-15 минут до установления постоянного значения pH . Аналогично титровали соответствующий объём фонового электролита. Концентрацию адсорбированных гидроксильных ионов ($A_{OH}/г\text{-ион}\cdot г^{-1}$) рассчитывали по формуле

$$A_{OH} = ([OH]_0 - [OH]_{равн.}) \cdot V_{сусп.} / m_{геля} \quad (1),$$

где $[\text{OH}]_0/\text{г-ион}\cdot\text{л}^{-1}$ – концентрация ОН-групп в холостом растворе, $[\text{OH}]_{\text{равн.}}/\text{г-ион}\cdot\text{л}^{-1}$ – равновесная концентрация ОН-групп в суспензии.

Измерения рН дают не истинные значения концентрации OH^- , а значения активности a_{OH} , поэтому учитывали коэффициенты активности ОН-групп. Кроме того, в области $\text{pH} > 12$ добавление новых небольших порций раствора щелочи вызывает очень малые изменения рН, что снижает точность измерений в этой области. Контролировали также показания комбинированного электрода, находящегося в щелочном растворе в течение длительного времени.

Таблица 1. Данные рН-метрического титрования суспензии в 0.1М растворе NaCl для расчёта величины адсорбции (A) ОН-групп на свежесажённом титаногеле с $\text{pH}_{\text{ос}} 6.22$

| $V_{\text{титр}}/\text{мл}$ | $[\text{OH}]_0/\text{г-ион}\cdot\text{л}^{-1}$ | $\text{pOH}_{\text{сусп}}$ | $(a_{\text{OH}})_{\text{равн.}}/\text{г-ион}\cdot\text{л}^{-1}$ | γ_{OH} | $[\text{OH}]_{\text{равн.}}/\text{г-ион}\cdot\text{л}^{-1}$ | $A_{\text{OH}}/\text{г-ион}\cdot\text{г}^{-1}$ |
|-----------------------------|--|----------------------------|---|----------------------|---|--|
| 0 | 0.00000 | 7.58 | 0 | 1 | 0.00000003 | 0.00000 |
| 1 | 0.00079 | 7.01 | 0.0000001 | 0.939 | 0.0000001 | 0.00048 |
| 2 | 0.00157 | 6.26 | 0.0000005 | 0.968 | 0.000001 | 0.00096 |
| 3 | 0.00235 | 5.65 | 0.0000022 | 0.979 | 0.000002 | 0.00144 |
| 4 | 0.00312 | 4.97 | 0.000011 | 0.984 | 0.000011 | 0.00191 |
| 5 | 0.00388 | 4.31 | 0.000049 | 0.985 | 0.000050 | 0.00237 |
| 6 | 0.00463 | 3.7 | 0.00020 | 0.98 | 0.00020 | 0.00275 |
| 7 | 0.00538 | 3.27 | 0.00054 | 0.978 | 0.00055 | 0.00301 |
| 8 | 0.00612 | 2.98 | 0.00104 | 0.974 | 0.00107 | 0.00317 |
| 9 | 0.00685 | 2.79 | 0.00162 | 0.965 | 0.00168 | 0.00326 |
| 10 | 0.00757 | 2.65 | 0.00224 | 0.966 | 0.00232 | 0.00333 |
| 11 | 0.00829 | 2.54 | 0.00288 | 0.96 | 0.00300 | 0.00337 |
| 12 | 0.00900 | 2.45 | 0.00352 | 0.961 | 0.00366 | 0.00342 |
| 13 | 0.00970 | 2.38 | 0.00420 | 0.962 | 0.00436 | 0.00343 |
| 14 | 0.01040 | 2.31 | 0.00488 | 0.97 | 0.00502 | 0.00347 |
| 15 | 0.01109 | 2.26 | 0.00553 | 0.966 | 0.00573 | 0.00348 |
| 16 | 0.01178 | 2.21 | 0.00621 | 0.966 | 0.00643 | 0.00349 |
| 17 | 0.01246 | 2.16 | 0.00685 | 0.967 | 0.00709 | 0.00352 |
| 18 | 0.01313 | 2.12 | 0.00752 | 0.966 | 0.00778 | 0.00352 |
| 19 | 0.01379 | 2.09 | 0.00811 | 0.962 | 0.00843 | 0.00355 |
| 20 | 0.01445 | 2.06 | 0.00875 | 0.964 | 0.00908 | 0.00357 |
| 21 | 0.01511 | 2.03 | 0.00938 | 0.957 | 0.00980 | 0.00354 |

Как и в работе [4], на основании величин α_{OH} и $[\text{OH}]_{\text{равн.}}$, полученных в контрольных экспериментах, рассчитывали коэффициенты активности (γ_{OH}). Используя их для построения калибровочного графика, определяли γ_{OH} соответствующие любой величине α_{OH} в исследуемом интервале рН. Пример расчета при корректировке кривых рН-метрического титрования для получения изотермы адсорбции приведен в табл. 1. На рис. 2 представлены примеры полученных изотерм адсорбции ОН-групп на образцах титаногеля с различными значениями $\text{pH}_{\text{ос}}$, а в табл. 2 – величины предельной адсорбции A_{OH} .

Системы для изучения процесса старения готовили следующим образом. В сосуд с ~ 1л дистиллированной воды последовательно вносили навеску NaCl и аликвоту раствора адсорбата, рассчитанные так, чтобы концентрация катиона адсорбата в конечном объёме системы «адсорбент + адсорбат + электролит» (1.5л) составляла 15-30 мг/л, концентрация электролита – 0.25 моль/л, и 0.25 л суспензии, содержащей 0.02 моля адсорбента, и доводили объём системы до 1.5 л. Адсорбент с

pH_{oc} 8.5 получали, как описано выше. В качестве адсорбатов использовали растворы солей CuSO₄, NiSO₄, KCr(SO₄)₂, Cd(NO₃)₂. После того, как суспензию адсорбента вносили в раствор электролита с адсорбентом, корректировали значение величины pH снова до 8.5. Полученную систему в закрытом для предотвращения испарения полиэтиленовом сосуде выдерживали при комнатной температуре (18±5C°) и периодическом встряхивании в течение 2-4 лет. Для сравнения были выполнены аналогичные эксперименты по старению адсорбента, свободного от адсорбата.

Таблица 2. Зависимость адсорбционной ёмкости ($A_{(n)pr, Г-ион/г^{-1} \cdot 10^3}$) титаногелей по OH-группам от pH_{oc} в 0.1N растворах фоновых электролитов NaCl (1) и NaNO₃ (2) (* значение pH для состаренного образца)

| pH _{oc} | | 4.25 | 4.72 | 4.84 | 5.16 | 5.72 | 6.20 | 6.22 | 6.24 | 7.50 | 8.49 | 8.50* | 8.56 |
|--------------------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
| A _{(n)pr} | 1 | 4.30 | 4.10 | - | 3.81 | 3.62 | 3.56 | 3.51 | - | 2.66 | - | 0.78 | 1.70 |
| | 2 | - | - | 3.89 | - | - | - | - | 3.48 | - | 2.07 | 0.85 | - |

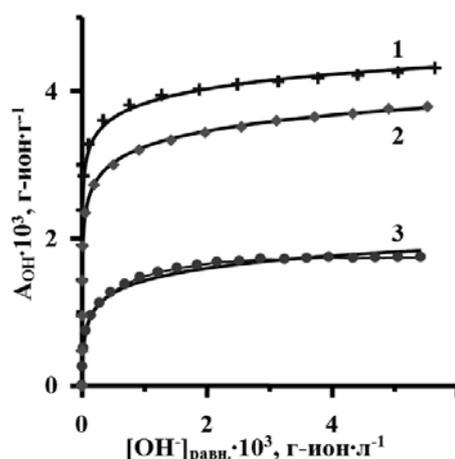


Рис.2. Изотермы адсорбции OH-групп (A_{OH}) на поверхности свежесоздаваемых ОГ Ti^{IV} при pH_{oc} 4.81(1) и 8.56 (3) в 0.1M растворе NaCl; pH_{oc} 6.24 (2) в 0.1M растворе NaNO₃. $[OH]_{равн.}$ – равновесная концентрация OH-групп в суспензии

По окончании выдержки твердую фазу отделяли от раствора путём декантации с последующей трехкратной отмывкой адсорбента от раствора фонового электролита. Затем отмывку суспензию геля разбавляли до 250 мл и измеряли pH_{соф}, результаты представлены в табл.3.

Таблица 3. Влияние адсорбированных КЦМ на адсорбционную ёмкость по OH-группам состаренных титаногелей (pH_{oc} 8.5, выдержка в 0.25M, эксперимент в 0.1M растворе NaCl)

| Образцы | pH _{соф} | A _{OH} , г-и/г·10 ⁵ |
|-----------|-------------------|---|
| Ti/0 св.* | 8.50 | 204 |
| Ti/0 | 8.96 | 80 |
| Ti/Cu | 8.59 | 170 |
| Ti/Ni | 8.04 | 100 |
| Ti/Cr | 8.79 | 80 |
| Ti/Cd | 9.16 | 61 |

(*Ti-гель свежесоздаваемый (8.50 → 8.37 → 8.50 в таб. 3 и 4)

Из полученной суспензии отбирали аликвоты, соответствующие ~ 0.008 моля ОГ для экспериментов по определению pH_{тнз} и величины адсорбции OH-групп.

Часть адсорбента отделяли от раствора и определяли брутто-состав гидрогеля (табл. 4), как описано в работах [7, 8]. Для этого навески гелей сначала сушили до постоянной массы при 110⁰С, определяя количество интермицеллярной воды x , после чего прокаливали при 1000⁰С в течение 2 часов, определяя количество конституционной воды y .

Таблица 4. Содержание воды в выдержанных ОГ Ti(IV) с адсорбированными ЦМ, $[\text{TiO}_2 \cdot y\text{H}_2\text{O}] \cdot x\text{H}_2\text{O}$

| Адсорбированные катионы | – св.* | – | Cu ²⁺ | Ni ²⁺ | Cr ³⁺ | Cd ²⁺ | |
|-----------------------------------|--------|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| Продолжительность выдержки, суток | 0 | 1546 | 1027 | 1037 | 1044 | 1040 | |
| Содержание воды | x | 130.58 | 72.39 | 76.62 | 85.35 | 81.87 | 82.72 |
| | y | 0.67 | 0.50 | 1.15 | 1.12 | 0.83 | 1.19 |
| | $x+y$ | 131.25 | 72.89 | 77.77 | 86.47 | 82.70 | 83.91 |

Результаты и их обсуждение

Полученные изотермы адсорбции ОН-групп использовали для определения величин (псевдо)равновесной адсорбции $A_{(n)p}$ гидроксильных ионов. Изотермы по форме представляют собой так называемые изотермы высокого сродства, или Н-типа [9], большинство из них хорошо описываются логарифмической зависимостью по уравнению $y=a \cdot \ln(x)+b$ (рис. 2). Мы называем равновесную концентрацию ОН-групп (псевдо)равновесной лишь потому, что аморфные гидрогели – это термодинамически неравновесные фазы, в результате чего вся система в целом не равновесна, а устанавливающееся между аморфным гелем и раствором щелочи равновесие – кажущееся (псевдоравновесие), хотя оно и существует в течение длительного времени. К участку кривой, предшествующему перегибу, и к участку с незначительным изменением A_{OH} проводили касательные (рис. 3). Из точки пересечения этих касательных опускали перпендикуляр на ось ординат и определяли значение $A_{(n)p}$. Строили график зависимости $A_{(n)p}$ от pH_{oc} геля (рис. 4). Эта зависимость, как и зависимости $pH_{ТНЗ}$ геля от pH_{oc} [10], является линейной. Это доказывает, что изменение A_{OH} определяется только изменением заряда, а не величины поверхности.

По мере увеличения pH_{oc} величины A_{OH} титаногелей снижаются (табл. 2). Известно [10], что гидрогели ОГ имеют истинную точку нулевого заряда поверхности, которая соответствует определенному pH_{oc} ($pH_{ТНЗ}$), не зависит от концентрации электролита и суспензии и является постоянной для данного исходного соединения и данной ионной среды. Очевидно, что гидрогели, полученные при более низких pH_{oc} , чем истинная $pH_{ТНЗ}$, имеют положительный заряд поверхности, и часть ОН-групп расходуется на нейтрализацию этого заряда. В результате полученные значения A_{OH} и $S_{уд}$ оказываются завышенными. Наоборот, если pH_{oc} гидрогеля выше, чем соответствует истинной $pH_{ТНЗ}$, то его поверхность будет уже частично занята адсорбированными ОН-группами, и значения A_{OH} и $S_{уд}$ будут занижены. Следовательно, достоверные величины A_{OH} и $S_{уд}$ получаются тогда, когда pH_{oc} соответствуют истинному значению $pH_{ТНЗ}$ гидрогеля в данном электролите, т.е. адсорбция происходит на незаряженной поверхности. Мы нашли, что незаряженная поверхность соответствует pH_{oc} 4.82±0.05; исходя из этого, по графику зависимости $A_{(n)p}$ от pH_{oc} Ti-геля определили значение A_{OH} , которое

соответствует полному заполнению адсорбционного слоя ОН-группами и составляет $4,05 \cdot 10^{-3}$ г-ион/г (рис. 2). Расчёт $S_{уд}$ выполняли как в работе [4]:

$$S_{уд} = S_{ОН} A_{ОН} N_A / 10^{20} \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}, \quad (2)$$

где $S_{ОН}$ – посадочная площадка ОН-группы $\sim 50 \text{ \AA}^2$ [4], N_A – число Авогадро и $1 \text{ м}^2 = 10^{20} \text{ \AA}^2$. Полученное $S_{уд}$ для титаногеля сравнили с соответствующими значениями для гидрогелей, исследованных в работе [4]:

| | Ti | Cr | Fe | Zr | In |
|---|------|--------|--------|--------|--------|
| $S_{уд}, \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$ | 1219 | 930[4] | 585[4] | 420[4] | 240[4] |
| $\Xi(\text{OH})_n$ | | | | | |

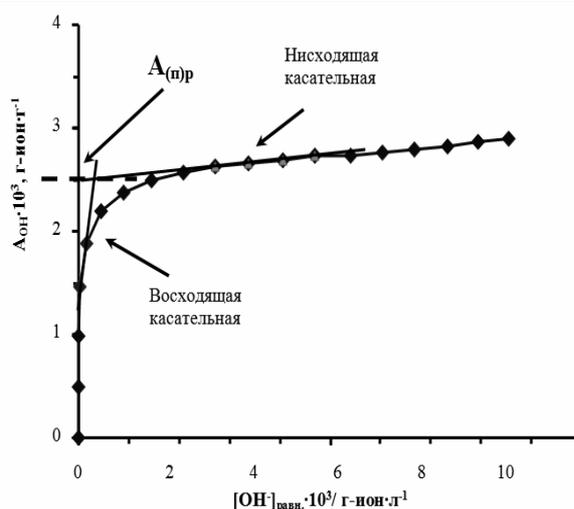


Рис. 3. Графическое определение (псевдо)равновесной адсорбции $A_{(п)р}$ по изотерме адсорбции ОН-групп на поверхности ОГ Ti^{IV}

Видно, что у титаногеля наблюдается максимальное значение удельной поверхности в приведённом ряде исследованных ОГ. Значения $A_{ОН}$ титаногеля при различных $\text{pH}_{ос}$, определённые в 0.1N растворе NaNO_3 лежат на той же прямой, что и в хлоридном фоне. Это говорит об отсутствии влияния фонового электролита типа 1:1 на адсорбционную ёмкость титаногеля.

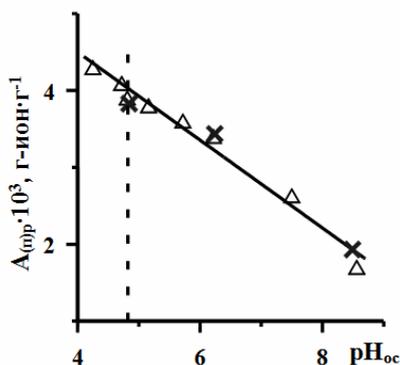


Рис. 4. Зависимость предельной величины адсорбции ОН-групп ($A_{(п)р}$) на гидрогеле Ti^{IV} от его $\text{pH}_{ос}$. Фоновый электролит Δ - 0.1N NaCl; \times - 0.1N NaNO_3

Анализ таблицы 3 показывает, что адсорбционная ёмкость титаногеля при старении и под действием адсорбированных КЦМ снижается. Это происходит, по-видимому, вследствие процессов оляции и оксоляции [11]. Эти процессы приводят к увеличению степени полимеризации, молекулярной массы гидролитических полимеров и укрупнению частиц ОГ, чем можно объяснить сокращение удельной поверхности. По данным рентгенофазового анализа наблюдается начальная стадия

кристаллизации титаногеля по типу брукита и в случае с примесным катионом хрома при старении дополнительно к брукиту появляется анатаз. Начальное значение pH всех систем находилось в щелочной области (pH 8.5); согласно работе [12], переход $Ti(OH)_4$ в TiO_2 в щелочной области тормозится инертным электролитом $NaClO_4$. В нашем случае $NaCl$, очевидно, также можно считать инертным электролитом, о чем говорит обратимость титрования, и чем можно так же объяснить слабо выраженную степень кристаллизации титаногеля.

Адсорбированные КЦМ при старении влияют на адсорбционную ёмкость Тi-геля по ОН-группам в различной степени, в зависимости от природы катиона (рис. 5) Кривая для свежесажденного гидрогеля на рис. 5 не приведена, чтобы не усложнять рисунок, т.к. А в этом случае достигает $4 \cdot 10^{-3}$ г-ион/г. Так, видно, что наибольшую ёмкость по ОН-группам сохраняет гель с адсорбированными катионами меди, возможно, за счет того, что при внедрении Cu^{2+} образуется некристаллизирующийся гель ОГ меди, который может препятствовать кристаллизации и, соответственно, сокращению поверхности. Адсорбционные ёмкости состаренных титаногелей с адсорбированными катионами хрома, кадмия и никеля и свободного от адсорбата геля очень близки по величине. Состаренный титаногель можно считать находящимся в точке нулевого заряда, рассчитанные значения удельной поверхности составили (m^2/g): $Ti_{cb}0$ – 1219; $Ti/0$ - 241; Ti/Cu - 512; Ti/Ni - 302; Ti/Cr - 242; Ti/Cd - 183.

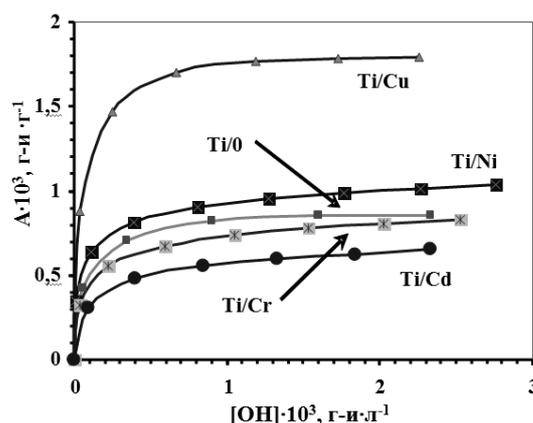


Рис. 5 Влияние КЦМ на адсорбционную ёмкость титаногеля после совместного старения

Данные, приведенные в таблице 4, показывают, что все состаренные титаногели содержат меньше интермицеллярной воды, чем свежесаженный титаногель: наибольшая потеря воды наблюдается в системе без адсорбата, наименьшая – в системе с адсорбированным никелем. В свою очередь, конституционной воды меньше всего в титаногеле, свободном от адсорбата, в остальных случаях её больше ~ в 2 раза, причем системы с КЦМ очень сходны друг с другом. Создается впечатление, что продолжительность старения имеет большее значение, чем природа адсорбированного катиона.

Исходя из величины удельной поверхности, можно рассчитать средний эффективный радиус дисперсных частиц, условно принимая их за сферические. Поскольку $S_{vd}[m^2/m^3]=6D$, а $D=1/d$ [13], где D – дисперсность сферической частицы, d – диаметр сферы. Далее, используем плотность геля, экспериментально определенную в работе [14], равную $1.03 \text{ г/см}^3 = 1.03 \times 10^6 \text{ г/м}^3$. Тогда объем 1 г равен $0.97 \times 10^{-6} \text{ м}^3/\text{г}$, $S_{vd} = 1219/0.97 \times 10^{-6} = 1.257 \times 10^9 \text{ м}^2/\text{м}^3$. $D=0.21 \times 10^9 \text{ м}^{-1}$; $d=1/0.21 \times 10^9 = 4.8 \times 10^{-9} \text{ м} \sim 5 \text{ нм}$

Список литературы

1. Карнаухова А.П. / Адсорбция. Текстура дисперсных и пористых материалов. Новосибирск, Наука. СП РАН. 1999. 470 с.
2. Giessen A.A. van der The structure of iron(III) oxide hydrate gels // J. Inorg. Nucl. Chem. 1966. V.28, N. 10. P. 2125-2159.
3. Davis J.A., Leckie J.O. / Surface ionization and complexation the oxide/water interface. II. Surface properties of amorphous iron oxyhydroxide and adsorption of metal ions // J. Colloid and Interface Sci. 1978. V.67, N. 1. P. 90-107.
4. Печенюк С.И., Матвеев С.И., Семушин В.В. / Оценка удельной поверхности оксигидроксидов по величинам адсорбции ОН-групп // Изв. АН Сер. хим., 2001, 1505.
5. Печенюк С.И., Рогачев Д.Л., Кузьмич Л.Ф., Касиков А.Г. Попова Р.А., Залкинд О.А. Оксигидраты, полученные быстрым гидролизом концентрированных растворов солей Fe(III) // Журн. неорг. химии. 1985. Т.30. № 2. С.311-316.
6. Parks G.A., de Bryun P.L. The zero point of charge of oxides // J.Phys. Chem., 1962 V. 66. P. 967.
7. Печенюк С.И., Семушин В.В. Сорбционные свойства свежесозданных алюмогелей // Изв. РАН. Серия хим. 2003. №1. С.60-64.
8. Печенюк С.И., Кузьмич Л.Ф. Изменение состава гидрогелей оксигидроксидов металлов при старении в растворах электролитов // Журн. неорганической химии. 2000. Т.45, № 9. С.1462-1467.
9. Giles Ch.H., Smith D. / A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical // J. Colloid and Interface Sci. 1974. V.47, № 3. P. 755-765.
10. Печенюк С.И. Сорбционные свойства гидрогелей оксигидроксидов переходных и р-металлов // Изв. АН. Сер. хим. 1999. №2. С. 229-237.
11. Егоров Ю.В., Статика сорбции микрокомпонентов оксигидратами // Атомиздат, Москва, 1975, С. 200.
12. Sugimoto T, Zhou X./ Synthesis of uniform anatase TiO₂ nanoparticles by gel-sol method. 2. Adsorption of OH⁻ ions to Ti(OH)₄ gel and TiO₂ particles // J. Colloid Interface Sci. 2002. V. 252, № 2. P. 347-353
13. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. Москва. Химия. 1982, 400 с.
14. Печенюк С.И., Домонов Д.П., Наконечный В.Н. / Определение размеров частиц в водных суспензиях гидрогелей оксигидроксидов железа(III), индия(III), алюминия, хрома(III), титана(IV) и циркония(IV) // Изв. РАН, Серия хим. 2005. № 5. С. 1083-1088.

Семушин Василий Владимирович – младший научный сотрудник Института химии и технологии редкоземельных элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева

Печенюк София Ивановна – профессор, д.х.н., главный научный сотрудник Института химии и технологии редкоземельных элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева

Semushin Vasily V. junior research fellow
Institute of Chemistry and Technology of rare
Elements and mineral raw Materials of the Name
of I.V.Tananaev, e-mail:
semushin@chemy.kolasc.net.ru

Pechenyuk Sofia I.- The Professor, Doctor of
chemical Sciences, the main scientific employee of
Institute of Chemistry and Technology of rare
Elements and mineral raw Materials of the Name
of I.V.Tananaev



УДК 615.243.014.42:544.032:543.544.943.3

Стабильность противоязвенного средства, содержащего метилметионина сульфат, ранитидина гидрохлорид и метронидазол, определяемая методом тонкослойной хроматографии

Талдыкина А.А., Вергейчик Е.Н., Саушкина А.С.

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Поступила в редакцию 19.03.2009 г.

Аннотация

Методом хроматографии в тонком слое сорбента изучены условия разделения ингредиентов комбинированного лекарственного средства противоязвенного действия, содержащего ранитидина гидрохлорид, метронидазол и метилметионина сульфат (витамин U), и продуктов их деструкции с целью определения сроков годности. Установлено, что модельная смесь, содержащая метилметионина сульфат, ранитидина гидрохлорид и метронидазол, стабильна в течение 1,5 лет при хранении в темном сухом месте в хорошо закупоренных склянках темного стекла при температуре $(20\pm 2)^\circ\text{C}$.

Ключевые слова: стабильность, многокомпонентное противоязвенное средство, тонкослойная хроматография

The method chromatography in a thin layer of a sorbent investigates conditions of division of components of the combined medical product anti-ulcer the action containing ranitidine hydrochloride, metronidazole and methylmethionine sulfate (vitamin U), and their products destruction with the purpose of definition of working lives. It is established, that the modelling mix containing methylmethionine sulfate, ranitidine hydrochloride and metronidazole, it is stable within 1,5 years at storage in a dark dry place in well corked bottles of a dark glass at temperature $(20\pm 2)^\circ\text{C}$.

Key words: stability, multicomponent medicinal form anti-ulcer actions, thin layer chromatography

Введение

В последние годы наметилась тенденция создания комбинированных лекарственных средств противоязвенного действия, влияющих на различные звенья патологического процесса [1,2]. Их особенностью является объединение в одном составе лекарственных веществ с различными физико-химическими свойствами, что оказывает существенное влияние на стабильность лекарственного средства в целом.

Целью данного исследования явилось изучение стабильности комбинированного лекарственного средства противоязвенного действия, содержащего метилметионина сульфат (витамин U), ранитидина гидрохлорид и метронидазол методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ).

Материалы

Объектом исследования служили субстанции метилметионина сульфата, ранитидина гидрохлорида, метронидазола, соответствующие требованиям нормативной документации, и модельная смесь состава: метилметионина сульфата 0,07, ранитидина гидрохлорида 0,03, метронидазола 0,05.

Для исследования использовали хроматографические пластинки «Сорбфил» марки ПТСХ-П-А-УФ (ТУ 26-11-17-89).

Эксперимент

Для контроля появления продуктов разложения при хранении многокомпонентного противоязвенного лекарственного средства предварительно на модельных смесях были изучены условия хроматографирования, позволяющие четко разделять действующие вещества с тем, чтобы исключить наложение продуктов деструкции сопутствующих ингредиентов.

Для исследования готовили 0,02 % растворы стандартных образцов внутреннего стандарта (СОВС) метилметионина сульфата, метронидазола и ранитидина гидрохлорида в 50% спирте этиловом и раствор смеси всех трех лекарственных веществ в том же растворителе с концентрацией 0,02% каждого ингредиента. Полученные растворы наносили на линию старта хроматографической пластинки размером 8x12 см в 4 пятна соответственно по 20 мкл раствора смеси и растворов СОВС. После нанесения растворов пластинку высушивали в сушильном шкафу при 1050С в течение 5 минут и помещали в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную соответствующей системой растворителей.

Изучение свойств действующих веществ позволило выбрать следующие системы растворителей в качестве подвижной фазы [3,4]:

Бутанол – уксусная кислота – вода (6:2:2);

Этилацетат – изопропанол – аммиак (25:15:5);

Хлороформ – этанол – диэтиламин (80:10:10).

После хроматографирования пластинку высушивали в вытяжном шкафу до удаления растворителей. Пятна на хроматограмме детектировали в иодной камере. Для каждого пятна рассчитывали значения R_f (табл. 1).

Таблица 1. Результаты хроматографирования действующих лекарственных веществ в модельных смесях ($n = 6$)

| Система растворителей | Рассчитанные значения R_f лекарственных веществ | | |
|-----------------------|---|------------------------|--------------|
| | Витамин U | Ранитидина гидрохлорид | Метронидазол |
| 1 | 0,64±0,01 | 0 | 0,15±0,01 |
| 2 | - | 0,73±0,01 | 0,12±0,01 |
| 3 | 0,08±0,01 | 0,10±0,01 | 0,57±0,01 |

Приведенные результаты свидетельствуют о наилучшем разделении от сопутствующих ингредиентов метилметионина сульфата (витамина U) в системе 1, ранитидина гидрохлорида – в системе 2, метронидазола – в системе 3. Это позволяет использовать указанные системы для изучения стабильности действующих веществ при совместном присутствии в смеси.

Для выявления продуктов деструкции метилметионина сульфата (витамина U), метронидазола и ранитидина гидрохлорида готовили 0,1% растворы указанных субстанций в 0,1 моль/л растворе хлористоводородной кислоты и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 часов. Полученные растворы разбавляли тем же раствором кислоты хлористоводородной до концентрации 0,02% действующего вещества. Наносили на пластинки для хроматографирования по 20 мкл растворов соответствующих СОВС и растворов СОВС, подвергнутых деструкции указанным выше способом. Хроматографирование и детектирование пятен исходных субстанций и продуктов деструкции проводили аналогично вышеуказанной схеме в системе 1 для метилметионина сульфата, системе 2 – для ранитидина гидрохлорида и системе 3 – для метронидазола.

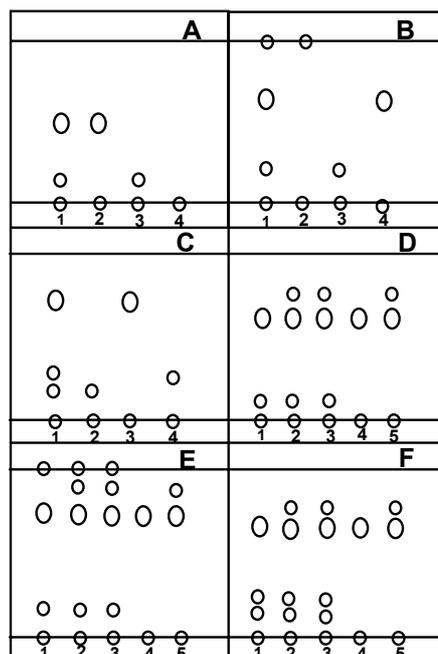


Рис. 1. Хроматограммы: А, D – в системе 1; В, Е – в системе 2; С, F – в системе 3; А, В, С: 1 - модельная смесь; 2 – метилметионина сульфат; 3 – метронидазол; 4 – ранитидина гидрохлорид; D 1 – модельная смесь (исходная); 2 – модельная смесь после хранения при 20⁰С в течение 2 лет; 3 – модельная смесь после хранения при 40⁰С в течение 6 месяцев; 4 – СОВС метилметионина гидрохлорида; 5 - СОВС метилметионина гидрохлорида после деструкции кипячением; E 1 – модельная смесь (исходная); 2 – модельная смесь после хранения при 20⁰С в течение 2 лет; 3 – модельная смесь после хранения при 40⁰С в течение 6 месяцев; 4 – СОВС метронидазола; 5 - СОВС метронидазола после деструкции кипячением; F 1 – модельная смесь (исходная); 2 – модельная смесь после хранения при 20⁰С в течение 2 лет; 3 – модельная смесь после хранения при 40⁰С в течение 6 месяцев; 4 – СОВС ранитидина гидрохлорида; 5 - СОВС ранитидина гидрохлорида после деструкции кипячением.

Как следует из полученных результатов (рис. 1), в процессе деструкции метилметионина сульфата при нагревании появляется дополнительное пятно бледно-желтого цвета со значением Rf около 0,73; метронидазола - в виде пятна с Rf 0,70, для ранитидина гидрохлорида – пятна с Rf 0,86.

Для выявления продуктов деструкции в процессе хранения исследуемые образцы модельной смеси, содержащие метилметионина сульфат (витамин U),

ранитидина гидрохлорид и метронидазол, хранили в хорошо закупоренных склянках темного стекла в темном месте при температуре 20⁰С в течение двух лет и 40⁰С - в течение времени, соответствующего 6; 18 и 24 месяцам хранения. Через каждые 30 суток отбирали пробы образцов и методом тонкослойной хроматографии контролировали в них появление продуктов деструкции.

Навески отобранных образцов массой по 0,1 г взбалтывали соответственно для выделения метилметионина сульфата (витамина U) с 10 мл воды при нагревании до 50⁰С на водяной бане; метронидазола - 10 мл смеси ацетона и этанола (1:1); ранитидина гидрохлорида - 10 мл 0,1 моль/л раствора хлористоводородной кислоты. Полученные растворы фильтровали через бумажный складчатый фильтр и наносили на хроматографические пластинки размером 10x12 см в количестве 20 мкл. Параллельно наносили по 20 мкл 0,2% раствора соответствующего СОВС и раствора СОВС, подвергнутого деструкции при нагревании как указано выше. Пластинки подсушивали на воздухе до полного испарения растворителя и помещали в камеры для хроматографирования, насыщенные парами соответствующей системы. После разделения пластинки высушивали на воздухе в вытяжном шкафу до полного удаления растворителей и детектировали пятна в иодной камере.

Обсуждение результатов

Изучение хроматограмм (рис.) показало, что образцы модельной смеси, хранившиеся при температуре 20⁰С, не содержали продуктов деструкции в течение всего срока наблюдения. Образцы модельной смеси, хранившиеся при температуре 40⁰С, показали для некоторых лекарственных веществ наличие дополнительных пятен к концу срока хранения, соответствующего 18 месяцам хранения в естественных условиях (рис. 1). Так, для метилметионина сульфата (витамин U) появлялось дополнительное пятно бледно-желтого цвета со значением Rf около 0,73. В то же время метронидазол и ранитидина гидрохлорид оказались более устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов. При этом посторонние примеси обнаруживались после срока хранения, соответствующего 24 месяцам хранения при 20⁰С, для метронидазола в виде пятен с Rf 0,70 и для ранитидина гидрохлорида – с Rf 0,86 в образцах, хранившихся при 40⁰С в течение 6 месяцев.

Сравнение полученных результатов показало, что пятна посторонних примесей, выявленных для образцов модельной смеси противоязвенного лекарственного средства и СОВС метилметионина сульфата, ранитидина гидрохлорида и метронидазола после нагревания на водяной бане, имеют практически идентичные значения. Это свидетельствует об образовании одинаковых продуктов деструкции при нагревании и в процессе хранения при воздействии неблагоприятных факторов (температурного режима хранения).

Заключение

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показывают стабильность модельной смеси, содержащей метилметионина сульфат (витамин U), ранитидина гидрохлорид и метронидазол, в течение 1,5 лет при хранении в темном месте в хорошо закупоренных склянках темного стекла при температуре не более 20⁰С.

Список литературы

1. Купянская, В.Н. Обоснование состава и разработка методов стандартизации лекарственной формы на основе облепихового масла: дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.02 / В.Н. Купянская – Пятигорск, 2004. -136 с.
2. Талдыкина, А.А. Разработка методики анализа пятикомпонентной лекарственной формы противоязвенного действия. / А.А.Талдыкина, Е.Н.Вергейчик. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб.науч.тр. – Пятигорск, 2006. – Вып. 61. – С. 305 - 308.
3. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М.Шаршунова, В.Шварц, Ч.Михалец. В 2-х т. – М.: Мир, 1980. – 736 с.
4. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю.Кирхнер. В 2-х т. – М.:Мир, 1981. – 1283 с.

Талдыкина Анна Анатольевна – преподаватель кафедры фармацевтической химии, Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск

Вергейчик Евгений Николаевич – зав. кафедрой фармацевтической химии, Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Саушкина Анна Степановна – доцент кафедры фармацевтической химии, Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Taldykina Anna A. – teacher of the chair of pharmaceutical chemistry, Far Eastern state medical university, Khabarovsk

Vergejchik Evgeniy N. – chief of the chair of pharmaceutical chemistry, Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk

Saushkina Anna S. - associate professor of the chair of pharmaceutical chemistry, Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk