



УДК 541.64:547.82

Изучение свойств монолитных колонок на основе 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола в условиях капиллярной электрохроматографии

Маерле К.В., Павлова Л.А., Даванков В.А.

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

Поступила в редакцию 19.05.2009 г.

Аннотация

В статье представлены результаты изучения свойств новых монолитных полимерных колонок на основе 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола в режиме капиллярной электрохроматографии. Показана высокая эффективность колонок (до 180000 т.т./м) и обнаружено определяющее влияние состава электролита на эффективность разделения компонентов.

Ключевые слова: 4-винилпиридин; монолитные фазы; капиллярная электрохроматография

The results of examining properties of novel monolithic polymeric columns, prepared by the reaction of 4-vinylpyridine with 1,4-bis-(brommethyl)-benzene, in capillary electrochromatography are presented. High efficiency of the columns (up to 180000 plates/m) is shown, as well as the decisive influence of the electrolyte composition on the separation efficiency of the system.

Key words: 4-vinylpyridine; monoliths; capillary electrochromatography

Введение

Использование монолитных стационарных фаз в различных хроматографических системах привлекает внимание все большего числа исследователей и производителей аналитического оборудования [1]. Одна из перспективных областей применения монолитов – капиллярная электрохроматография (КЭХ) [2]. За последние несколько лет разработаны различные методики создания монолитных неорганических и полимерных органических фаз в капиллярных колонках, проведено множество хроматографических исследований по разделению компонентов целого ряда практически значимых объектов [3]. Тем не менее, в настоящее время актуальной задачей остается получение новых полимерных материалов для капиллярной электрохроматографии.

Теоретическая часть

Ранее мы сообщали о получении нового монолитного материала как продукта взаимодействия 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола [4]. В отличие от всех капиллярных монолитов, описанных ранее в литературе, этот продукт имеет высокую плотность положительных зарядов в виде четвертичных пиридиниевых групп в каждом мономерном звене и является первым сверхсшитым гидрофильным высокоосновным анионообменником (рис. 1).

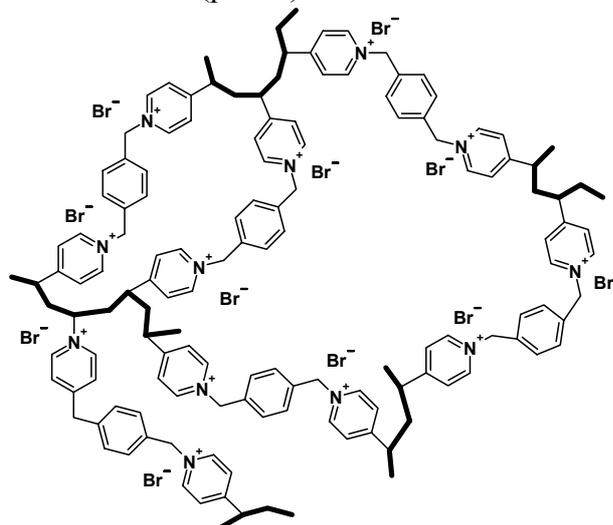


Рис. 1. Фрагмент структуры полимерной сетки

Взаимодействие двух реагентов - винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола проводится непосредственно в кварцевом капилляре при 60°C без добавления каких бы то ни было инициаторов. Реакции алкилирования и полимеризации происходят в присутствии инертных порошков, что приводит к получению монолитов с развитой пористой структурой. Чтобы предупредить перемещение монолита вдоль колонки, его ковалентно связывают со стенками капилляра бифункциональным галогеналкилсиланом.

Продолжительность работы колонок в оптимальных условиях достигает двух месяцев.

Целью настоящей работы является изучение свойств монолитных колонок с полимерным высокоосновным анионитом в режиме КЭХ.

Работа проводилась на отечественном не модифицированном приборе для капиллярного электрофореза «Капель 105» компании «Люмекс». Этот прибор позволяет работать в диапазоне напряжений 1-25 кВ и проводить УФ-детектирование анализируемых компонентов в диапазоне длин волн 190 - 310 нм.

Эксперимент

Реагенты и используемые материалы.

Полый кварцевый капилляр с полиимидным покрытием, внутренний диаметр 75 мкм, внешний диаметр 375 мкм приобретен в Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA).

Приборы.

Эксперименты КЭХ проводились на системе для капиллярного электрофореза «Капель-105» (Россия), оснащенный УФ детектором и системой жидкостного охлаждения колонки. Дегазацию всех растворов проводили в ультразвуковой бане.

Обсуждение результатов

Первым этапом исследований при работе с новым материалом является изучение принципиальной возможности применения данного монолита в КЭХ. В ходе эксперимента определяются сила электроосмотического потока (ЭОП), стабильность системы по электрическому току, эффективность электрохроматографического разделения компонентов на примере смеси стандартных веществ [5].

Следующий этап – определение пористой структуры монолита. К сожалению, многие методы, позволяющие проводить такие исследования для жестких пористых тел, не пригодны для нашего полимера. Обычно исследуются образцы сухого материала. Используемый нами материал относится к сверхсшитым полимерам. Он получен в набухшем состоянии при его высушивании линейные размеры образца уменьшаются почти в два раза. Очевидно, что при этом принципиально изменяется и его пористая структура.

Мы провели определение суммарного объема доступных пор монолита в режиме КЭХ, измеряя скорость перемещения нейтрального неудерживаемого компонента - ацетона от входа в колонку до детектора, т.е. через монолит (рис. 2). А затем, сменив полярность приложенного напряжения, т.е. изменив направление электроосмотического потока, измеряли скорость перемещения этого же компонента от другого конца колонки к детектору, т.е. через незаполненную полимером часть колонки. В обоих случаях, объемная скорость потока электролита одинакова. Используя это обстоятельство, рассчитываем долю порового пространства в монолите (X). Для трех колонок X составил 85 ± 5 % от объема, занимаемого полимером в капилляре.

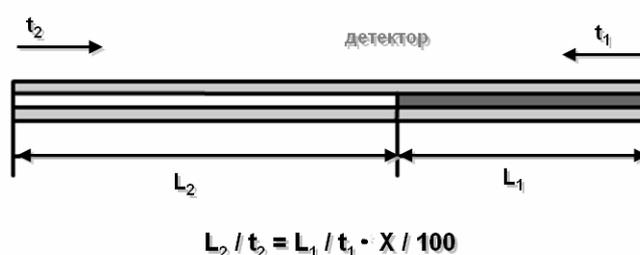


Рис. 2. Схема определения суммарного объема доступных (для ацетона) пор в монолите в режиме КЭХ (L_1 – расстояние от входа до детектора монолитной части колонки, L_2 – расстояние от входа до детектора свободной части колонки, t_1 , t_2 – время прохождения ацетоном дистанции L_1 и L_2 соответственно, X – объемная доля доступных пор монолита в процентах)

Также изучалась зависимость силы тока и скорости электроосмотического потока от концентрации электролита при постоянном напряжении на концах капилляра. Цель данного эксперимента – определить оптимальный состав электролита, при котором формируется достаточно сильный ЭОП, а сила

электрического тока не превышает значений, при которых происходит сильное разогревание колонки и, как следствие, уширение пиков анализируемых веществ на электрохроматограмме. На графике представлены полученные зависимости (рис. 3).

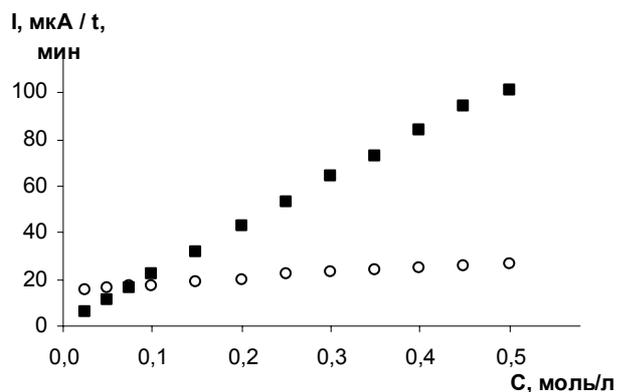


Рис. 3. Зависимость силы тока (■, I, мкА) и времени выхода ацетона (○, t, мин) от концентрации электролита в КЭХ.

Колонка: общая длина колонки - 36 см, длина монолитной фазы - 25 см, эффективная длина колонки (от входа до детектора) - 27 см. Электролит: смесь $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa} = 1:1$ (моль). Напряжение: -7 кВ. Температура: 20 °С

Зависимость силы тока от концентрации электролита прямо пропорциональная, и прямая проходит через начало координат, что вполне закономерно.

С другой стороны, наблюдается небольшое увеличение времени выхода ацетона с ростом концентрации фонового буфера. Увеличение времени выхода ацетона свидетельствует об уменьшении скорости электроосмотического потока. Этот эффект отнюдь не очевиден и для его объяснения надо рассмотреть влияние нескольких факторов. Прежде всего, надо иметь в виду, что поток жидкости в капилляре создается только подвижными противоионами в фазе полимера, т.е. ацетат анионами, нейтрализующими неподвижные положительные заряды полимера, в то время как, электрический ток переносится как этими противоионами, так и свободным электролитом – ацетатом натрия. Поэтому закономерности изменения силы тока и скорости электроосмотического потока принципиально различны. Кроме того, катионы натрия и ацетат-анионы могут переносить (в противоположных направлениях) различное количество воды в зависимости от их электрофоретической мобильности и степени гидратации. С изменением ионной силы раствора, во-первых, по-разному изменяется электрическое сопротивление в свободной и заполненной части капилляра, во-вторых, изменяется степень гидратации всех ионов, в-третьих, изменяется структура двойного электрического слоя и доля противоионов, участвующих в создании электроосмотического потока в монолите. Помимо этого, возможно, проявляется эффект высаливания органического компонента - ацетона из раствора, тогда о несорбируемости ацетона говорить уже не правомерно.

Рассмотрим некоторые из этих факторов более детально.

В электрическом поле градиент электрического напряжения на любом участке полой колонки одинаков. Этой ситуации соответствует линия 1 (рис. 4).

В нашем случае в колонке два фрагмента. Участок с монолитом характеризуется очень высокой концентрацией заряженных ионов и имеет меньшее электрическое сопротивление, чем свободный от монолита участок, заполненный

разбавленным электролитом. Поэтому падение электрического потенциала в свободной части колонки происходит быстрее, и изменение градиента напряжения по длине колонки принимает вид ломанной линии 2. На участок с полимером приходится лишь часть приложенного электрического напряжения и именно эта часть приводит в движение противоионы полимера и с ними - всю водную фазу. При увеличении концентрации электролита разница в электрическом сопротивлении первого и второго участков уменьшается. При выравнивании электросопротивления двух участков капилляра зависимость сглаживается, приближаясь к прямой линии. В некоторых случаях может реализоваться ситуация с выпуклой зависимостью (линия 3) падения потенциала по длине капилляра, когда общая концентрация подвижных ионов в фазе полимера за счет Доннановского ионного исключения оказывается ниже их концентрации во внешнем растворе. Однако, скорость перемещения подвижных противоионов (и, следовательно, скорость электроосмотического потока) должна быть пропорциональна градиенту электрического напряжения в монолитной части колонки. Соответственно, увеличение концентрации электролита должно было бы приводить к росту скорости электроосмотического потока, а мы наблюдаем на практике противоположную тенденцию. Причина этого явления кроется в строении двойного электрического слоя в фазе полимера.

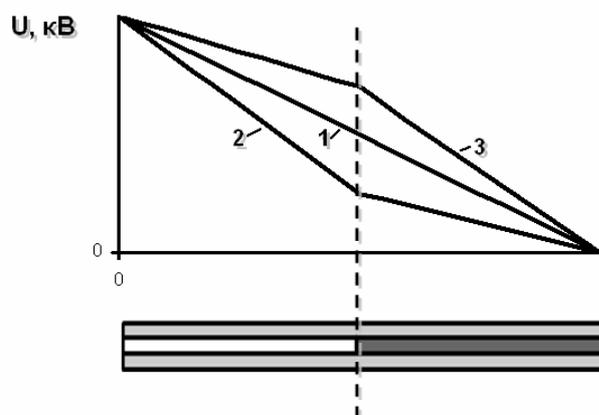


Рис. 4. Изменение градиента электрического напряжения в капиллярной колонке (1 – для колонки без полимера, 2 и 3 – для колонки с монолитом при увеличении концентрации электролита)

Полимерная матрица несет положительные заряды. Противоионы – ацетат анионы располагаются в водной фазе вблизи полимерных цепей. Функция распределения противоионов от расстояния до поверхности полимера в случае низкой ионной силы электролита имеет пологий характер (рис. 5 а). В случае высокой ионной силы противоионы «прижимаются» к поверхности и их концентрация в растворе падает более круто при удалении от каркаса полимера (рис. 5 б).

В этой модели электрического слоя (ДЭС) принимается, что та часть противоионов, которая расположена близко к неподвижной фазе, прочно удерживается полимером. Только другая, диффузная часть противоионов подвижна, и именно она увлекает за собой жидкую фазу, т.е. создает электроосмотический поток. Суммарное количество противоионов всегда постоянно, но их доля в диффузной части двойного электрического слоя больше при низкой ионной силе раствора. Поэтому увеличение концентрации электролита должно приводить к уменьшению скорости электроосмотического потока. По-видимому, в нашем случае именно этот фактор (из многих факторов) является определяющим, и

электроосмотический поток возрастает при малых концентрациях фонового электролита. Эта ситуация крайне выгодна, так как одновременно с быстрым падением силы тока значительно уменьшается тепловыделение в колонке.

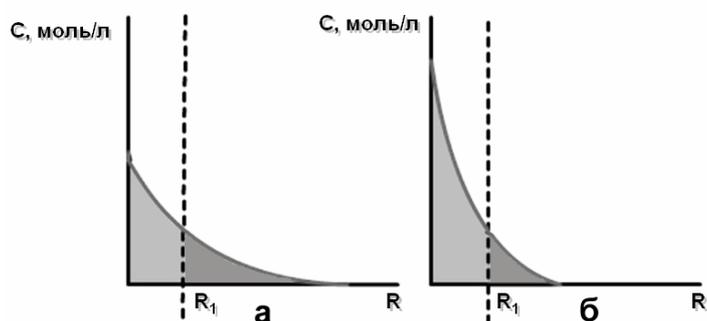


Рис. 5. Зависимость концентрации противоионов от расстояния до каркаса полимера (ионная сила электролита на левом графике меньше, чем на правом).
При $R > R_1$ формируется диффузная часть ДЭС

Крайне существенно оценить влияние природы электролита на хроматографические характеристики разделения стандартной смеси веществ. В качестве стандартной использовали смесь водных растворов ацетона, тиомочевины, нитробензола и фенола. Эксперимент проводили на колонке с укороченной монолитной фазой длиной всего пять сантиметров.

Проведение анализа с использованием в качестве электролита 1М уксусной кислоты не позволило разделить все компоненты исследуемой смеси. Тиомочевина и нитробензол выходят одним пиком между пиками ацетона и фенола (рис. 6 а).

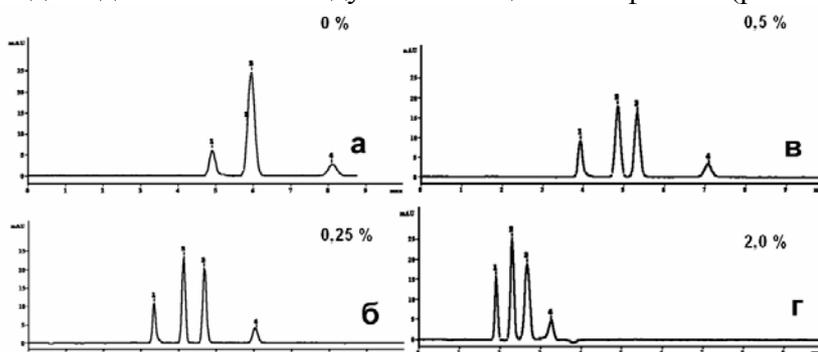


Рис. 6. Влияние добавки азотной кислоты к электролиту на основе уксусной кислоты. 1 – ацетон, 2 – тиомочевина, 3 – нитробензол, 4 – фенол.

Колонка: $L_{\text{общ}}$ - 30 см, $L_{\text{мон}}$ - 5 см, $L_{\text{эфф}}$ - 9 см. Электролит: 1 М смесь $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{HNO}_3$ (объем. %). Напряжение: 3 кВ. Длина волны: 254 нм.

Результат разделения заметно улучшился при введении в электролит небольшой добавки азотной кислоты. Это хорошо видно на представленных хроматограммах (рис.6). При 0,5 процентной добавке (по объему) 1М азотной кислоты к 1М уксусной кислоте количество теоретических тарелок для той же колонки по пику нитробензола резко возросло до величины 180000 на метр. Для сравнения отметим, что это раза в три лучше, чем у колонок в ВЭЖХ. Пики нитробензола и тиомочевины разделяются полностью, при этом время анализа значительно уменьшается.

Влияние состава электролита на характеристики колонки рассмотрели более детально. Оказалось, что при замене электролита с чистой уксусной кислоты на

кислоту с добавкой нитрат аниона для достижения равновесия требуется промывка колонки приблизительно 10 кратным объемом электролита. Исходя из характера изменения силы тока во времени и вида хроматограммы, можно сделать заключение, что ацетат ионы в фазе полимера заменяются на более прочно удерживаемые нитрат ионы.

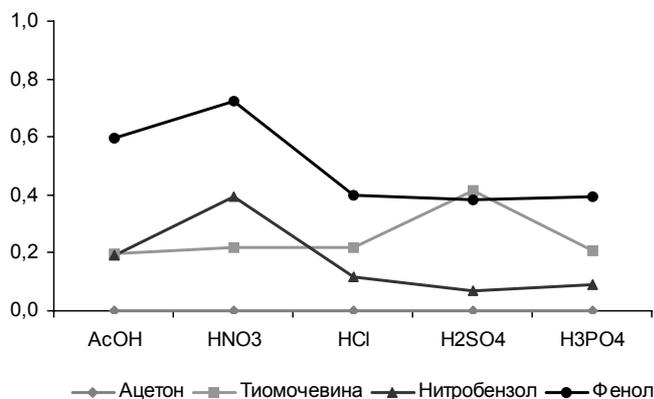


Рис. 7. Коэффициент емкости стационарной фазы для различных анализируемых веществ.

Колонка: $L_{\text{общ}}$ - 30 см, $L_{\text{мон}}$ - 5 см, $L_{\text{эфф}}$ - 9 см. Электролит: 1 М смесь CH_3COOH с добавкой 1Н кислоты (2% по объему).
Напряжение: 5 кВ. Длина волны: 254 нм

Помимо нитрат-анионов было интересно исследовать влияние добавок других анионов, а именно, хлорида, сульфата, фосфата в виде соответствующих кислот.

Результаты оказались весьма неожиданными: природа дополнительного вводимого аниона сильно влияет на удерживание анализируемых веществ полимером (ацетон по-прежнему принимаем за неудерживаемый анализируемый компонент). При введении в качестве добавки хлоридного аниона вместо нитратного пики нитробензола и тиомочевины также разделяются, но теперь первым из колонки выходит нитробензол. В присутствии сульфат-аниона перекрываются пики фенола и тиомочевины, а нитробензол выходит очень быстро (рис. 7).

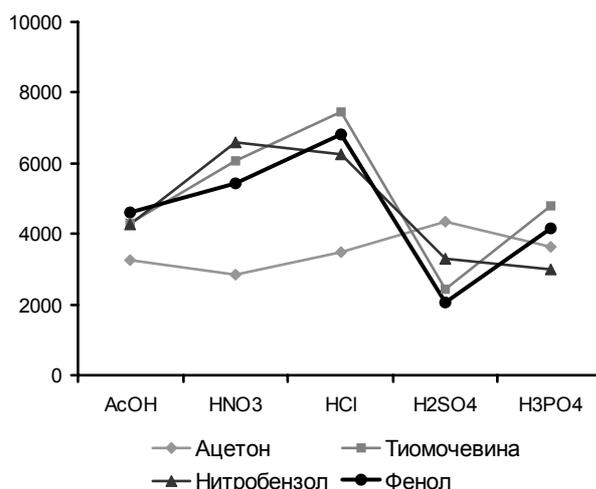


Рис. 8. Число теоретических тарелок колонки (см. рис 7) при добавлении 2% (объемных) минеральных кислот к 1М уксусной кислоте.

Изучение различных композиций электролитных систем на основе органической кислоты (уксусной) с добавками минеральных кислот показало, что

введение небольших количеств нитратных и хлоридных ионов резко увеличивает эффективность разделения исследуемых нейтральных органических веществ. Число теоретических тарелок колонки для выбранных компонентов изучаемой смеси изменяется в зависимости от состава электролита, что показано на рис. 8.

Природа этих интересных и крайне необычных явлений требует досконального изучения.

На данном этапе выявлена возможность получения высокоэффективных монолитных полимерных фаз для КЭХ, а управление процессами разделения путем простой замены аниона в электролите еще более расширяет круг возможностей электрохроматографического процесса.

Заключение

Колонки с монолитной сверхсшитой поливинилпиридиниевой фазой позволяют в режиме КЭХ проводить высокоэффективное разделение смеси нейтральных и слабокислых органических соединений при длине монолита 10 см и меньше.

Показана определяющая роль состава электролита на эффективность разделения исследованных компонентов.

Список литературы

1. Svec F. My favorite materials: Porous polymer monoliths// J. of Separation Science. 2009. V.32. No.1. P. 3-10.
2. Gusev I., Huang X., Horváth C. Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography// J. Chromatogr. A. 1999. V.855. Iss.1. P.273-290.
3. Svec F., Huber C. Monolithic materials: promises, challenges, achievements// Analytical Chemistry. 2006. V.78. No.7. P. 2100-2107.
4. Павлова Л.А. и др. Новый тип сорбционной монолитной фазы на основе N-алкилированного 4-винилпиридина для капиллярной электрохроматографии// Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып.5. С. 707-716.
5. Spegel P., Schweitz L., Andersson L., Nilsson S. Novel vinylpyridine based cationic MIP monoliths for separation in CEC// Chromatographia. 2009. V.69. No.3/4. P. 277-284.

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

Павлова Людмила Александровна – к.х.н., ст. научный сотрудник лаб. стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН, Москва

Даванков Вадим Александрович – д.х.н., профессор, зав. лаб. стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН Москва, тел: (499) 135-92-54

Maerle Kirill V. - post-graduate (student), Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow, e-mail: kmaerle@mail.ru

Pavlova Ludmila A. – Ph.D., senior researcher, Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes INEOS RAS, Moscow

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



УДК 536.66 + 661.183.12

Тепловые эффекты сорбции на ионообменных материалах (обзор)

Бондарева Л.П., Перегудов Ю.С., Овсянникова Д.В., Астапов А.В.

ГОУВПО «Воронежская государственная технологическая академия», Воронеж

Поступила в редакцию 13.05.2009 г.

Аннотация

Проанализировано современное состояние экспериментального определения тепловых эффектов сорбции на ионообменных материалах. Рассмотрены варианты конструкционного решения калориметрических установок и способы определения энтальпий ионообменной сорбции из водных растворов. Приведены основные результаты измерения термохимических характеристик поглощения из растворов ионов различной природы на катионообменниках, полиамфолитах и анионообменниках.

Ключевые слова: энтальпия, калориметрия, ионный обмен

The modern condition of experimental definition of thermal effects of sorption on ion exchangers is analyzed. Some variants of the constructional decision of calorimetric installations and ways of definition of enthalpies of ion exchange sorption in water solutions are considered. The basic results of measurement of thermochemical characteristics of absorption from solutions of ions of the various nature on cation exchangers, poliamfolites and anion exchangers are resulted.

Key words: enthalpy, calorimetry, an ionic exchange

Типы калориметрических установок

Термохимия поверхностных явлений позволяет наиболее точно и однозначно определить энергетические характеристики процессов взаимодействия веществ, в частности при образовании связей различной природы между сорбентом и сорбатом. Определение тепловых эффектов, сопровождающих процессы ионного обмена, может быть проведено по влиянию температуры на константу ионообменного равновесия, а также прямыми калориметрическими измерениями.

О правильности применения уравнения Вант-Гоффа для расчета тепловых эффектов обмена может свидетельствовать сравнение этих величин с величинами, измеренными калориметрическим путем. При этом получаются близкие значения тепловых эффектов. Такие сравнения проводились в работах [1-3], однако в них были изучены энтальпии обмена на сульфокатионитах, в простых системах, не осложненных комплексообразованием или другими необменными взаимодействиями. В работах [4, 5] указывается, что хотя из результатов измерения сорбции, проведенных при различных температурах, возможно определить значения

энтальпии, этот способ может давать ошибочные результаты, особенно в сложных гетерогенных системах. Изучение сорбции при различных температурах и параллельные калориметрические исследования могут дать полезную информацию о преобладающих факторах в процессе сорбции.

Целью калориметрического исследования равновесных реакций является независимое определение теплоты реакции и констант равновесия, либо определение теплоты реакции при известных константах [6]. Калориметрия — один из наиболее общих методов исследования, поскольку практически любая химическая реакция сопровождается определенным тепловым эффектом. Особенностью калориметрии, отличающей ее от иных методов, где измеряемые свойства системы не изменяются во времени, является возможность проводить измерения именно в момент протекания реакции. Такое различие проявляется и в основных уравнениях, описывающих калориметрический метод [7]. Путем калориметрических измерений можно определить константы равновесия и изменение энтальпии процессов, а также изменение энтальпии при известных константах. Поскольку измеряемое калориметрически количество теплоты строго пропорционально изменениям в количестве молей вещества в ходе реакции, а последние линейно связаны с изменениями концентраций, то калориметрические данные можно использовать для расчета констант равновесия [8].

В зависимости от назначения оболочки, окружающей калориметрическую систему, их делят на калориметры с изотермической и адиабатической оболочками. Различаются эти два типа классического калориметра способами учета поправки на теплообмен.

Калориметры с изотермической оболочкой

В классических калориметрах этого типа калориметрическая система окружена со всех сторон оболочкой, температура которой поддерживается постоянной в течение всего калориметрического опыта. Теплообмен калориметрической системы с изотермической оболочкой должен подчиняться закону охлаждения Ньютона, на основании которого рассчитывают поправку на теплообмен [9].

Схема изотермической оболочки и одного из вариантов конструкционного решения калориметра приведена на рис. 1 [10]. Калориметрическая установка состоит из выполненных в одном корпусе изотермической оболочки с калориметрической ячейкой, термостата и блока питания. Изотермической оболочкой 1 служит тщательно изолированный от теплообмена с внешней средой цилиндрический латунный сосуд, заполненный дистиллированной водой. Боковая поверхность и днище сосуда покрыты теплоизолирующим материалом 2. В центре изотермической оболочки в специальных кронштейнах закреплена калориметрическая ячейка 3. Под ней на плоском днище оболочки в герметичном латунном чехле помещен вращающийся постоянный магнит привода магнитной мешалки калориметрического сосуда 4. Перемешивание воды в изотермической оболочке осуществляется пропеллерной мешалкой 5. На дне изотермической оболочки смонтированы: нагреватель 6 форсированного вывода оболочки на режим, гильза с термостатируемыми постоянными сопротивлениями измерительной схемы калориметра 7 и датчик температуры изотермической оболочки 8. Термометрическая чувствительность калориметра составляет 10^{-5} К, измерение сопротивления термистора производится при помощи мостовой схемы, герметичность калориметра обеспечивается тефлоновой прокладкой на крышке калориметра.

Данная конструкция успешно применяется для измерения тепловых эффектов комплексообразования и сорбции при длительности процессов, не превышающих 60-

70 мин. Измерение тепловых эффектов длительно протекающих реакций требует корректировки изменения температуры и внесения поправки на теплообмен калориметра с изотермической оболочкой за время протекания процесса.

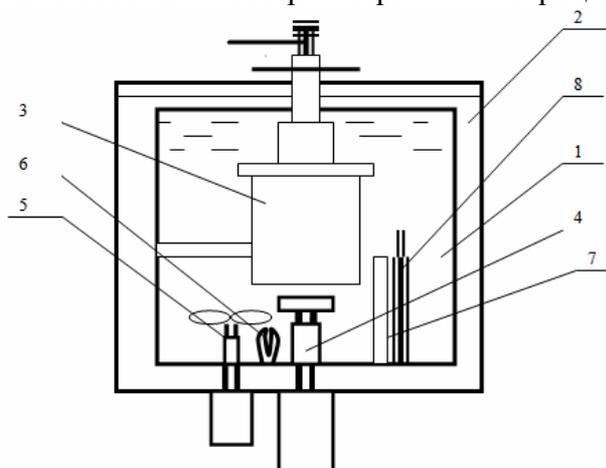


Рис. 1. Схема установки калориметра с изотермической оболочкой (пояснения в тексте)

Для определения тепловых эффектов реакций, в том числе сорбции вещества из растворов, на описанной калориметрической установке, взвешивают навеску сорбента, запаивают его в стеклянные ампулы. Закрепляют ампулу в кассете и устанавливают ее в калориметрический сосуд, в который затем вносят раствор сорбируемого вещества – сорбтива, герметично закрывают, устанавливают его в калориметрическую ячейку. Термостатируют при заданной температуре до установления теплового равновесия, затем включают автоматизированную схему измерения температуры и тепловой калибровки калориметра для непрерывного фиксирования температуры в калориметрической ячейке. Разбивают ампулу с сорбентом, смешивая порцию сорбента с раствором сорбтива, при этом автоматически происходит запись изменения температуры в ходе химической реакции и передача данных в персональный компьютер типа IBM.

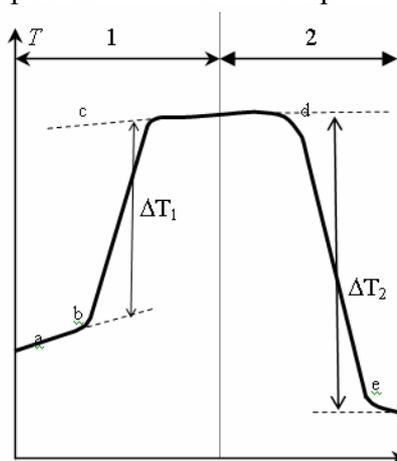


Рис. 2. Пример изменения температуры в ходе опыта в ячейке калориметра переменной температуры с изотермической оболочкой. *ab, cd, ef* - базовая прямая линия; *bc* - линия подъема температуры при калибровке; *de* - линия снижения температуры в результате сорбционного процесса

Тепловую калибровку калориметра осуществляют обычно до начала реакции. По результатам опыта строят кривую изменения температуры в калориметрической ячейке (рис. 2), которая разделяется на температурный ход тепловой калибровки калориметра (1) и на температурный ход сорбции (2). Определяют изменение температуры в калориметрическом сосуде при калибровке (ΔT_1) и при добавлении порции сорбента (ΔT_2), используя специальный алгоритм обработки результатов измерений, рассчитывают тепловой эффект реакции сорбции для порции сорбента (Q_1 , Дж)

$$Q_1 = IU\tau_n(\Delta T_2/\Delta T_1),$$

где I – заданная при тепловой калибровке сила тока, А; U – заданное при тепловой калибровке напряжение, В; τ_n – время тепловой калибровки, с. Тепловое значение калориметра ($IU\tau_n/\Delta T$) определяли как среднеарифметическое между 4-6 опытами.

Калориметры с адиабатической оболочкой

В адиабатических калориметрах калориметрическая система помещена в оболочку, температура которой поддерживается равной температуре калориметрической системы в течение всего опыта. Если это условие строго соблюдается, то можно считать, что теплообмен калориметра с окружающей средой во время всего опыта отсутствует. В калориметрических опытах даже при равенстве температур калориметра и оболочки часто имеет место небольшой ход температуры калориметра.

В качестве примера адиабатического калориметра для прецизионного измерения энтальпий смешения двух растворов можно привести установку Прозена и Кильдея [11]. Калориметрический сосуд, объемом 300 см³, помещают в две адиабатические оболочки. Вторым реагентом заполняют герметично запаянные ампулы объемом 3 см³, оба реагента приводят в контакт и перемешивают при помощи вертикальной мешалки. По всей внешней поверхности обеих оболочек расположены нагреватели, поддерживающие адиабатические условия, внешняя адиабатическая оболочка находится в изотермической оболочке. Температуру в ходе калориметрического опыта измеряют платиновым термометром сопротивления. Данная конструкция не очень удачна для измерения тепловых эффектов комплексообразования и ионного обмена из-за значительной разницы объемов двух сосудов и способа перемешивания реагентов.

Другой адиабатический калориметр сконструирован в лаборатории термохимии МГУ [12]. Он позволяет точно измерять малые тепловые эффекты при значительном времени реакции (до нескольких часов) и предназначен в основном для работы с неводными растворителями.

По техническому исполнению калориметрические измерения можно разделить на три группы [8]:

- а) калориметрия с постадийным добавлением реагентов;
- б) метод непрерывного титрования;
- в) калориметрия в проточной ячейке.

Согласно данным Воробьева В.Ф. [13] создано шесть различных конструкций калориметров, позволяющих изучать любые процессы в жидкой фазе:

1. Герметичный, качающийся калориметр для измерения энтальпий растворения и энтальпий реакций в растворах. Оболочка этого калориметра может работать как в изотермическом, так и в адиабатическом режиме.

2. Герметичный калориметр с термисторами, магнитной мешалкой и изотермической оболочкой для измерения энтальпий растворения и энтальпий реакций в растворах.

3. Герметичный калориметр с германиевым термометром сопротивления, магнитной мешалкой и адиабатической оболочкой для измерения энтальпий растворения плохорастворимых веществ и других медленно протекающих процессов в растворах.

4. Качающийся калориметр для измерения энтальпий разбавления с двумя герметичными отделениями в калориметрическом сосуде.

5. Герметичный калориметр с адиабатической оболочкой для измерения теплоемкости жидкостей.

6. Высокотемпературный теплопроводящий калориметр для измерения энтальпий растворения веществ в расплавах при высоких температурах.

Все классические калориметры имеют температурную чувствительность порядка 10^{-5} К и калориметрическую чувствительность около 10^{-3} Дж.

В настоящее время ввиду объективно и субъективно сложившейся ситуации калориметрические измерения проводятся в ограниченном числе научных групп. Наиболее крупная научная школа сохранена в Иваново в Институте химии растворов РАН и Ивановском государственном химико-технологическом университете. Исследования проводятся на прецизионных калориметрах растворения изопериболического типа с точностью регистрации теплового эффекта опыта $\approx 0,01$ Дж; калориметрах растворения с точностью регистрации теплового эффекта от 0,01 до 0,05 Дж, позволяющих измерять теплоты растворения твердых и жидких веществ в различных органических растворителях. На дифференциальном автоматическом калориметре титрования (ДАКТ) проводятся определения термодинамических характеристик процессов молекулярного комплексообразования (изменения энтропии, энтальпии, термодинамической устойчивости комплексов при одновременном и последовательном присоединении молекулярных лигандов); определения молярных энтальпий смешения жидкостей; определения интегральной и дифференциальной теплот адсорбции.

Для центра химико-технологических исследований Алма-Аты сконструирован низкотемпературный адиабатический калориметр [14], в Белорусском Государственный университете проводятся аналогичные исследования с применением высокотемпературного адиабатического калориметра [15]. Метод термохимического исследования полимерных составов впервые был предложен А. А. Тагер, и в последующем, нашел широкое применение для исследования пластичности, устойчивости полимерных систем, для этого в Уральском государственном университете определяют теплоты растворения и взаимодействия полимеров на изотермическом калориметре [16]. Классический калориметр типа Кальве был использован как основной метод контроля формирования неорганических нанотрубок широкого применения [17].

Таким образом, наиболее часто для исследования сорбционных процессов применяются два типа калориметров: герметичный жидкостный калориметр, работающий в изопериболическом режиме, и теплопроводящий калориметр. Оба указанных типа имеют свои преимущества и недостатки. Первый тип удобно применять для сорбционных процессов, длительность которых не превышает 1,5 часов. Теплопроводящие калориметры пригодны для более длительных процессов, а чувствительность их несколько уступает чувствительности калориметров первого типа.

Дифференциальный теплопроводящий микрокалориметр МИД-200

Принцип действия микрокалориметра промышленного производства МИД-200 идентичен стандартному микрокалориметру Кальве [7, 18]. Микрокалориметр подобной конструкции позволяет проводить исследования количества теплоты растворения и смешения, химических реакций в жидкой фазе, а также ионообменных и биохимических процессов. Микрокалориметр состоит из четырех частей: блока измерения, блока управления, блока терморегулирования и регистрирующего устройства. Чувствительность микрокалориметра 5×10^{-6} Вт. Объем ячеек (рабочей и сравнения) 100 см^3 . В калориметре имеется система качания, позволяющая производить инициирование реакций.

Исследуемый образец размещают в рабочей ячейке, в ячейку сравнения – полученные предварительно продукты исследуемой реакции. Обе ячейки, находящиеся в измерительном блоке, окружены термоэлектрическими тепломерами, включенными навстречу друг другу (рис. 3). На тепломерах, в результате выделения измеряемым объектом тепла, возникает перепад температур, который преобразуется в термо-ЭДС [18], которая регистрируется вольтамперометром.

Рабочая ячейка имеет плавающую лодочку, благодаря которой во время термостатирования компоненты реакции разделены. Смешение реагентов происходит с помощью системы качания, соединенной с блоком управления. Запись величины теплового потока начинают в момент смешения компонентов.

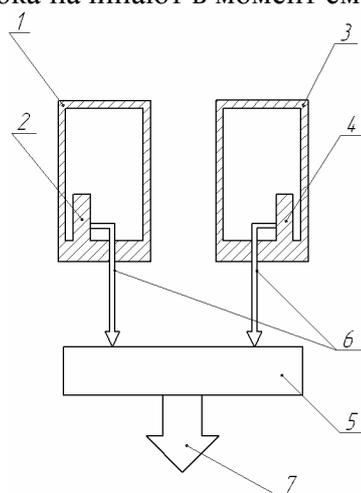


Рис. 3. Схема дифференциального теплопроводящего калориметра
1, 3 – калориметрические системы, 2, 4 – калориметрические ячейки для исследуемого образца и образца сравнения, 5 – устройство для сравнения тепловых потоков, 6 – тепловые потоки, выходящие из калориметрических систем, 7 – дифференциальный тепловой поток

Величину теплового эффекта (Q) за время протекания процесса определяют с помощью цифрового интегратора (рис. 4), количество тепла, выделившегося или поглощенного в результате реакции, устанавливают отношением показания интегратора к калибровочному числу ячейки. Последнее измеряется после каждого эксперимента из градуировочного опыта (калибровки), оно является индивидуальной характеристикой ячейки. Диапазон точно измеряемого количества теплоты лежит в интервале ± 50 Дж, в случае выхода за его пределы нарушается термостатированность ячеек [6].

Температуру термостатирования ячеек выставляют дискретно, через $0,1^\circ$. Погрешностью статирования составляет не более $\pm 0,5^\circ\text{C}$. Выход на заданную температуру и её поддержание обеспечивается специальными блоками термостатирования и терморегулирования. Разность в чувствительности двух ячеек, рабочей и холостой, отнесенная к их средней чувствительности, не превышает 10%. Микрокалориметр считается вышедшим на рабочий режим по дрейфу нулевой линии, если в течении 1 часа потенциал на милливольтметре не меняется более чем на 4 мкВ. Чувствительность измерительной схемы составляет $1 \text{ мВт}/^\circ\text{C}$.

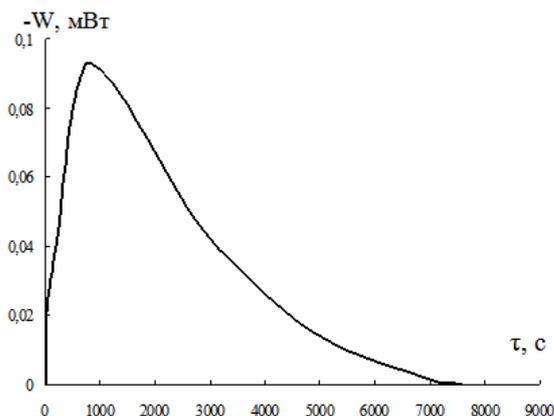


Рис. 4. Пример термокинетической кривой, полученной на теплопроводящем микрокалориметре МИД-200

Для калибровки микрокалориметра МИД-200 используют принцип «калибровки по отклонению», который заключается в том, что в рабочую камеру калориметра подается постоянная тепловая мощность без эффекта Пельтье. При установившемся тепловом режиме наблюдается постоянное и устойчивое показание милливольтметра. Определение чувствительности рабочей ячейки производится по формуле:

$$A = U_{\text{вых}} - \frac{U_{01} - U_{02}}{2}$$

где $U_{\text{вых}}$ – напряжение выходного сигнала при установившемся режиме калибровки, U_{01} и U_{02} – смещение нулевой точки в начале и конце калибровки [19].

Проверка точности измерений микрокалориметра, как и любого другого калориметра, проводится по теплоте растворения KCl марки «осч» в воде. Погрешность измерения количества теплоты химической реакции определяют как разность между показаниями поверяемого калориметра и табличного теплового эффекта ($\Delta H_{\text{таб}}$). Результаты определения интегральной теплоты растворения хлорида калия согласуются с литературными данными в пределах ошибки 1 %.

Высокая термостабильность микрокалориметра и надежность его электрической схемы позволяют проводить измерения малых значений тепловых эффектов с высокой точностью.

Экспериментальное моделирование определения тепловых эффектов сорбции

Прямые калориметрические измерения несравнимо точнее всех косвенных расчетов энтальпий реакций. Однако использование калориметрического метода

связано с рядом ограничений: во-первых, его можно применять только для реакций с быстро устанавливающимся равновесием, во-вторых, необходимо знать состав равновесного раствора и его термодинамические характеристики (константы кислотно-основного равновесия, гидратации, а иногда и устойчивости). Второе условие особенно важно для реакций комплексообразования с полидентатными лигандами, в этом случае трудности интерпретации калориметрических измерений часто вызываются неполнотой протекания реакций комплексообразования в растворе, ступенчатым комплексообразованием, наложением окислительно-восстановительных взаимодействий и влиянием ряда других факторов. Многие ученые [8, 20], в том числе К. Б. Яцимирский, автор первой в мире монографии по термохимии комплексных соединений [21] считают, что использование метода прямой калориметрии позволяет более точно установить энтальпию процесса, чем при исследовании зависимости констант от температуры.

Измеренное количество теплоты с поправкой на теплоту разбавления ($Q_{\text{изм}} - Q_{\text{разб}}$) для любого процесса можно представить в виде суммы энтальпий образования ($\Delta_f H$) с массовыми коэффициентами, равными мольным разностям между концентрациями реагентов в исходном и конечном состояниях. Основное уравнение для обработки данных калориметрических измерений с учетом автопротолиза растворителя имеет вид [8]

$$Q_{\text{изм}} - Q_{\text{разб}} = \sum_{j=1}^n \left\{ [A_j]_0 V_0 - [A_j](V_0 + V) \right\} \Delta_f H + \Delta m_s \Delta_s H,$$

где V_0 – объем исходного раствора; V – объем реагента; Δm_s – изменение количества растворителя; $\Delta_s H$ – теплота образования растворителя.

В большинстве случаев процессы ионообменной сорбции имеют сложный характер. Известно [22-24], что перераспределение веществ между фазами раствора и ионообменника происходит не только в результате ионного обмена, но и в результате необменного поглощения. Бифункциональные соединения могут взаимодействовать друг с другом, с растворителем и фазой ионообменника различными способами, включающими одновременно электростатические, гидрофобные и гидрофильные эффекты. Кроме того, в присутствии катионов переходных, редкоземельных металлов возможно комплексообразование ионов с функциональными группами сорбента на поверхности и в фазе ионообменника.

В общем случае изменение энтальпии при обмене ионов ($\Delta_{\text{об}} H$) различной природы из водных растворов определяется энергией взаимодействия поглощаемых веществ и ионита ($\Delta_c H$), гидратацией ($\Delta_r H$) и дегидратацией ($\Delta_{\text{дег}} H$) функциональных групп сорбента и катиона, энергией деформации полимерной сетки ($\Delta_{\text{конф}} H$) при образовании сорбционных центров, кроме того существенные вклады могут вносить энергия депротонирования ионообменника ($\Delta_{\text{лпр}} H$), электростатические взаимодействия электрического поля депротонированного ионообменника с коионами и противоионами ($\Delta_{\text{э.в}} H$) и смачивание поверхности сорбента ($\Delta_{\text{см}} H$). Такого рода ионообменные процессы сопровождаются незначительными эндотермическими эффектами. Если же сорбция ионов сопровождается комплексообразованием, то к перечисленным составляющим сорбции добавляется энергия образования комплексных соединений ($\Delta_{\text{ком}} H$), а иногда и соединений хелатного типа ($\Delta_{\text{хел}} H$), тогда изменение энтальпии сорбции имеет достаточно высокие экзотермические значения.

В настоящем обзоре будут описаны способы определения тепловых эффектов

- ионообменной сорбции;

- ионообменной сорбции, сопровождающейся необменными взаимодействиями в фазе ионообменника и межчастичными взаимодействиями в растворе;
- ионообменной сорбции, сопровождающейся комплексообразованием в фазе ионообменника;
- ионообменной сорбции, сопровождающейся комплексообразованием как в фазе ионообменника, так и в равновесном растворе;
- на водорастворимых полиэлектролитах и полиамфолитах.

Измерение тепловых эффектов ионообменной сорбции

Взаимодействие катионов с катионообменниками обычно изучают при концентрации, обеспечивающей достижение полной обменной емкости сорбента по данному веществу. В калориметрическую ячейку помещают раствор сорбтива, а в лодочку, свободно плавающую на поверхности или ампулу, вносят навеску воздушно сухого ионообменника. Ячейку сравнения в дифференциальном калориметре заполняют аналогично дистиллированной водой, затем обе ячейки помещают в измерительный блок. После термостатирования проводят иницирование реакции и регистрируют показания прибора.

Если интенсивность теплового потока процесса характеризует термокинетическая кривая, которая описывает зависимость теплоты поглощения или теплоты выделения от времени $W = f(\tau)$ (см. рис. 4), то значения энтальпии смешения рассчитывают по формуле:

$$\Delta H = \frac{\sum W \cdot A}{\nu}$$

где $\sum W$ – суммарное показание интегратора (мВт); A – калибровочное число калориметра; ν – количество сорбата, (ммоль).

Тепловые эффекты ионного обмена, сопровождающиеся необменной сорбцией

В работах [25, 26] было показано, что при поглощении аминокислот ионитами наблюдается сверхэквивалентная сорбция. Представим энтальпию взаимодействия ионообменников с анионами аминокислот как сумму энтальпии ионообменной сорбции ($\Delta_{ис}H$) и энтальпии неионообменной сорбции ($\Delta_{нс}H$):

$$\Delta_c H = \Delta_{ис}H + \Delta_{нс}H. \quad (1)$$

Авторы работы [27] отмечают, что взаимодействие ионообменников и сложных органических ионов определяется сосуществованием различного рода взаимодействий: электростатического кулоновского взаимодействия и энергетически относительно слабого взаимодействия (диполь-ионного, диполь-дипольного, образования водородных связей, гидрофобного взаимодействия):

$$\Delta_{ис}H = \Delta_{ди}H + \Delta_{дд}H + \Delta_{вс}H + \Delta_{гв}H$$

При изучении систем анионит - ион аминокислоты необходимо учитывать несколько сильных и слабых межмолекулярных взаимодействий, которые и оказывают влияние на величину $\Delta_c H$. Когда концентрация анионов аминокислот в растворе мала, то, очевидно, преобладает доля $\Delta_{ис}H$, что сопровождается ростом $\Delta_{вз}H$. С увеличением концентрации аминокислоты, когда большинство доступных функциональных групп ионитов прореагировало, то растет доля слабых взаимодействий ($\Delta_{нс}H$).

Тепловые эффекты ионного обмена с комплексообразованием в фазе сорбента

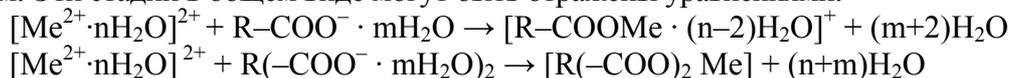
Метод определения тепловых эффектов образования комплексов на полиамфолитах довольно сильно отличается от рассмотренного выше способа. В. Д.

Копылова предложила считать энтальпию сорбции ($\Delta_c H$) суммой энтальпий ряда независимых процессов [28]:

$$\Delta_c H = \Delta_{xc} H + \Delta_{дег} H + \Delta_r H + \Delta_d H + \Delta_x H$$

то есть суммой энтальпий образования химических связей ($\Delta_{xc} H$); энтальпии дегидратации депротонированных функциональных групп и вытеснения противоионов ($\Delta_{дег} H$); энтальпии вытеснения низкомолекулярных лигандов или растворителя из первой координационной сферы ионов металла-комплексообразователя ($\Delta_r H$); энтальпии деформации полимерной сетки при образовании координационных центров ($\Delta_d H$). В случае присутствия в системе хелатных комплексов к вышеперечисленным вкладам добавляется энтальпия образования хелатных структур ($\Delta_x H$) [29]. В исследованиях [30, 31] отмечается, что после окончания процесса сорбции катионов полиамфолитом наблюдается незначительный тепловой эффект, сопровождающий продолжительные конформационные изменения ионита. Кроме того малоинтенсивный тепловой поток может обуславливаться процессом гидролиза соответствующей солевой формы [31].

Если процесс сорбции ионов переходных металлов складывается из параллельно идущих стадий, то каждая дает определенный вклад в энтальпию процесса в целом. Эти стадии в общем виде могут быть отражены уравнениями:



Как следствие указанных процессов энтальпия процесса сорбции гидратированных ионов 3d-металлов (например, Cu^{2+} , Zn^{2+}) определяется энтальпией образования комплексов с функциональными группами ($\Delta_{ком} H$) и энергетическими затратами системы, связанными с дегидратацией катионов металла ($\Delta_{дег.мет} H$), функциональных групп ионообменника ($\Delta_{дег.ион} H$). При взаимодействии иона металла с двумя функциональными группами к этому добавляются затраты на деформацию полимерных цепей для образования координационных центров, диктуемых электронной конфигурацией ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} ($\Delta_{деф} H$), т.е.

$$\Delta_{сор} H = \Delta_{ком} H - (\Delta_{дег.мет} H + \Delta_{дег.ион} H + \Delta_{деф} H)$$

Как следует из экспериментальных данных, экзотермический эффект образования полимерного комплекса перекрывается энергетическими затратами системы, связанными с дегидратацией ионов и изменением конформаций полимерных цепей – для всех исследованных концентраций процесс сорбции ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} является эндотермическим, несмотря на то, что процесс образования низкомолекулярных оксалатов является экзотермическим [32].

Тепловые эффекты обмена на водорастворимых полиэлектролитах

При смешении растворов полиэлектролита и электролита происходит электростатическое взаимодействие противоположно заряженных ионов и функциональных групп полиэлектролита. Это приводит к снижению заряда полимерной цепи и, как следствие, изменению её конформации. Известно, что электростатическое взаимодействие сопровождается выделением энергии ($-\Delta_{эл.вз} H$), а изменение конформаций полимерной цепи – поглощением энергии ($+\Delta_{конф} H$).

При расчете энтальпии реакции взаимодействия ($\Delta_{вз} H$) с участием раствора полиэлектролита необходимо учитывать энтальпию разбавления полиэлектролита ($\Delta_{раз.пэ} H$) и электролита ($\Delta_{раз.эл} H$) при их смешении и энтальпия процесса в целом определяется суммой указанных эффектов:

$$\Delta_{вз} H = \Delta_{см} H - (\Delta_{раз.пэ} H + \Delta_{раз.эл} H).$$

Энтальпия разбавления полиэлектролитов также включает несколько величин энтальпий: диссоциации ($\Delta_{\text{дис}}H$), гидратации (Δ_rH), которая в свою очередь состоит из гидратации ионов, полиионов, изменения структуры воды, и конформационных изменений полиионов [33].

Тепловые эффекты реакций на водорастворимых поликомплексонах

Для определения энтальпии взаимодействия поликомплексонов, то есть полимерных бифункциональных соединений, с ионами переходных металлов проводят смешение растворов поликомплексона с растворами солей металлов. Измерения проводят при различном соотношении лиганд (L): ион металла (Me^{2+}), которое варьируется концентрацией катиона [34]. При определении энтальпии комплексообразования в отдельных опытах экспериментально находят энтальпии разведения ($\Delta_{\text{раз}}H$) растворов нитратов металлов, энтальпии диссоциации ($\Delta_{\text{дис}}H$) и гидратации (Δ_rH) поликомплексонов, энтальпии неэлектростатических макромолекулярных и макроионных взаимодействий ($\Delta_{\text{физ}}H$). Данная величина находится в пределах ошибки калориметрических опытов 0,2 – 0,8 Дж. Таким образом, энтальпия процесса определяется:

$$\Delta_{\text{ком}}H = \Delta_{\text{вз}}H - (\Delta_{\text{раз}}H + \Delta_{\text{дис}}H + \Delta_rH + \Delta_{\text{физ}}H)$$

Все калориметрические измерения проводят при постоянной ионной силе, поддерживаемой нитратом калия или перхлоратом калия. Влияние ионной силы на величину энтальпии комплексообразования определяют смешением в калориметрической ячейке раствора поликомплексона с растворами, содержащими одинаковое количество ионов переходных металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+} и Fe^{3+}) и различные концентрации нитрата калия. Предварительно определяют энтальпия взаимодействия KNO_3 с поликомплексом. Результаты измерений приведены в таблице 1. Обнаружено, что влияние ионной силы на энтальпию взаимодействия катионов с поликомплексом незначительно.

Таблица 1. Влияние ионной силы (I , KNO_3) на энтальпию взаимодействия (ΔH , кДж/моль) полиэтиленаминометилфосфоновой кислотой (ПЭАФ) с нитратами металлов в соотношении 1:1

I	KNO_3	$Cu(NO_3)_2$	$Zn(NO_3)_2$	$Fe(NO_3)_3$
0,5	-12,03	3112	2228	588
1,0	-9,46	3113	2229	587
1,5	-2,08	3115	2230	587

Для определения роли анионов в величинах тепловых эффектов реакций проведены опыты по измерению энтальпии взаимодействия поликомплексонов с различными солями меди. Полученные значения различались не только по величине, но и по знаку (таблица 2), поэтому рекомендуется для калориметрических измерений использовать нитратные растворы, в которых анион обладает минимальными акцепторными свойствами.

Таблица 2. Влияние природы аниона на энтальпию комплексообразования Δ_kH , кДж/моль иона меди(II) с ПЭАФ

Δ_kH	$Cu(NO_3)_2$	$CuSO_4$	$CuCl_2$	$Cu(CH_3COO)_2$
ЭДФ	229,2	773,9	-139,9	-40,14
ТДФ	87,9	676,3	986,9	267,0

Особенностью современных экспериментальных работ по термохимии реакций комплексообразования является изучение соединений со сложными органическими лигандами, в том числе с циклическими комплексонами [35, 36] и, как указано в обзоре [37], определение тепловых эффектов комплексообразования в широком интервале температур и значений ионной силы.

Результаты калориметрических исследований ионного обмена

Метод калориметрии применяется в практике научных исследований для измерения тепловых эффектов, сопровождающих процесс ионного обмена, что в свою очередь позволяет выяснить термодинамические характеристики и установить природу происходящих при этом явлений [19]. Следует подчеркнуть информативность этого метода в изучении процессов сорбции как для определения энтальпии процесса в целом, так и для выявления факторов, влияющих на энергетику процесса в различные стадии сорбции. Ионообменные процессы сопровождаются незначительными величинами энергетических эффектов, которые к тому же растянуты во времени [38].

Тепловые эффекты процессов сорбции Cu^{2+} , Ni^{2+} и Co^{2+} на аминотетраацетатном полиамфолите марки АНКФ-1 определены в работе [39] и составляют $-118,50$ Дж/мг-экв для Cu^{2+} , $4,41$ Дж/мг-экв для Ni^{2+} и $-6,96$ Дж/мг-экв Co^{2+} . Экзотермичность процесса сорбции ионов меди(II) на АНКФ-1 объясняется значительным вкладом координационного взаимодействия ионов Cu^{2+} с азотом пиколиновых групп полиамфолита, поскольку обмен с фосфоновыми группами является эндотермическим процессом, а реализация координационной связи с азотом – экзотермическим эффектом [40]. Сорбция ионов Ni^{2+} и Co^{2+} также происходит в результате их электростатического взаимодействия с фосфоновыми группами и координационного – с азотом.

В работах Копыловой В. Д. уделено большое внимание определению тепловых эффектов взаимодействия низкоосновного анионообменника АН-31 с медью(II) [41], АН-40, АН-25, АН-23 со сложными анионными комплексами меди(II) [42], а также АН-31, АН-221, АН-25, АН-251 с катионами меди(II), кобальта(II), никеля(II).

Влияние степени заполнения ионообменников (\bar{X}) АНКФ-80-7п и АНКФВ-80-7п на тепловой эффект сорбции ионов Cu^{2+} , Ni^{2+} и Co^{2+} определено в работе [43]. Обнаружено, что наибольшее теплопоглощение наблюдается при малых степенях заполнения ионообменника сорбирующимся ионом, в этом случае ионы металлов сорбируются двумя функциональными группами соседних цепей или взаимодействуют с одной функциональной группой выступающей в качестве три- или тетраденатного лиганда [44]. Увеличение теплового эффекта сорбции ионов Co^{2+} и Ni^{2+} по сравнению с Cu^{2+} на АНКФ можно соотнести с образованием полиядерных структур и ростом доли электростатического взаимодействия при сорбции Co^{2+} и Ni^{2+} на полиамфолите.

Автор работы [45], посвященной термохимии сорбции переходных металлов комплексообразующими ионитами пришел к аналогичному выводу. Отмечено, что поскольку для ионов меди(II) характерна связь с азотом, то тепловой эффект сорбции Cu^{2+} ниже, чем Co^{2+} и Ni^{2+} на азотфосфорсодержащем полиамфолите (АДФ) в широком интервале степеней заполнения и лишь при высоких значениях $\bar{X} \rightarrow 1$ наблюдается нарастание экзотермичности обмена. Величина энтальпии сорбционного процесса возрастает в ряду Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , что соответствует ряду

Ирвинга-Уильямса, но отмечено несоответствие положения Cu^{2+} и Zn^{2+} в этих рядах. Для сорбции цинка(II) тепловой эффект минимален, а медь(II) поглощается с большей теплоотдачей, чем марганец(II). В работе [18] предложена модель двухступенчатого сорбционного процесса, на основании которой выведено уравнение позволяющее рассчитать энтальпию сорбции.

В ходе взаимодействий ионитов с катионами металлов с помощью прямой калориметрии можно определить один из характеристических термодинамических параметров – энтальпию процесса (ΔH), чему посвящены работы [46 – 51]. В [48] определена энтальпия сорбции ионов меди(II) сульфокатионитами, содержащими различное количество ДВБ. Для этого использовали сшитые сульфокатиониты с содержанием кросс-агента 2 и 8 % и полистиролсульфокислоту – водорастворимый аналог КУ-2. Установлено, что введение ДВБ в матрицу сульфокатионита влияет на энергетику ионообменного процесса, особенно это проявляется при переходе от водорастворимого полиэлектролита к сшитому.

В исследовании [50] установлено, что процесс сорбции ионов меди(II) на КБ-2 и КБ-2э является эндотермическим; энтальпия и термокинетика процесса сорбции в определенной степени зависит от природы и количества используемого в процессе синтеза мостикообразователя. Для исследованных систем по знаку термоэффекта процесс сорбции можно разделить на две стадии: первая очень непродолжительная стадия (до 1 мин) является экзотермической с очень быстрым затуханием экзотермического эффекта и вторая стадия (основная) – эндотермическая, которая продолжается 6-8 часов с максимальным тепловым эффектом на 1-3 минуте. Эндотермичность второго периода свидетельствует о том, что энергетические эффекты, связанные с затратами системы при сорбции ионов меди(II), перекрывают тепловой эффект собственно реакции комплексообразования. Для второго периода отмечается возрастание эндотермичности процесса с увеличением количества дивинилового эфира диэтиленгликоля (ДВЭДЭГ). Вероятно это объясняется тем, что несмотря на уменьшение удельного объема ионита и среднестатистического расстояния между COO^- -группами, а, следовательно, облегчения координации ионом меди(II) двух COO^- -групп, возрастает жесткость полимерной сетки, увеличиваются затраты на деформацию последней, возрастает ее «вязкость» и затрудняется движение катионов в полимере. В результате с увеличением ДВЭДЭГ эндотермичность второй стадии процесса возрастает. Энтальпия же процесса в целом определяется суммой энтальпий первой и второй стадий. Поскольку с увеличением массовой доли ДВЭДЭГ возрастает экзотермичность первой стадии процесса и эндотермичность второй стадии, зависимость энтальпии всего процесса от количества мостикообразователя не имеет явно выраженной закономерности.

В работе [28] исследовались катиониты КБ-4 и КМТ, имеющие одинаковую функциональную группу, но отличающиеся весьма сильно природой и гибкостью полимерной матрицы. Сопоставляя полученные данные, авторы приходят к следующему заключению о процессах, сопровождающих сорбцию катионов переходных металлов на указанных катионитах. В первый период происходит сорбция на поверхности гранул, и в зависимости от структуры полимерной сетки процесс может быть экзо- (КБ-4) или эндотермическим (КМТ). Из-за большой концентрации карбоксильных групп на поверхности и прилегающих к ней областях величина сорбции и ее скорость максимальны. Основной вклад в тепловой эффект процесса вносит энтальпия образования химической связи, и в первый период наблюдается тепловыделение. Вторая стадия характеризуется для всех изученных в работе систем теплопоглощением, интенсивность которого монотонно снижается, так же как и скорость сорбции. Характерно, что со временем различие в величинах

термоэффекта при сорбции на исследуемых катионитах снижается, т.е. различие в полимерной сетки нивелируется. Скорость сорбции катионов во второй стадии лимитируется скоростью диффузии ионов в грануле и процесс характеризуется образованием координационных центров различных типов, в том числе и таких, которые сопряжены с изменением конформационного набора полимерной сетки. Третья стадия характеризуется интенсивностью термоэффекта на два порядка ниже, чем во второй стадии и продолжительностью более 5 часов. На этой стадии поглощение ионов металла не наблюдается, т.е. в этот период в фазе ионита происходят изменения, связанные с образованием термодинамически равновесных координационных центров, этот период является экзотермическим.

Авторы работы [49], сравнивая полученные данные по ионным формам катионита, выделяют следующее: на водородной форме КБ-2э процесс сорбции ионов меди(II) проходит гораздо быстрее и характеризуется низкой мощностью теплового потока. Очевидно, что карбоксильные группы катионита, находясь в неионизированном состоянии, в малой степени реализуют сорбционные свойства полимера (величина сорбционной емкости по ионам меди(II) для Н-формы катионита значительно меньше, чем для натриевой). Это приводит к тому, что сорбция ионов меди длится от 30 до 70 мин (в зависимости от количества сшивающего агента), тогда как на Na-форме процесс протекает за 300-350 мин. Особое внимание авторы обращают на тот факт, что в отличие от Na-формы, взаимодействие с водородной формой сопровождается экзотермическим эффектом.

Данные, полученные в [49] хорошо согласуются с исследованиями [52, 53], в которых отмечено, что в результате особенностей структурной организации, обусловленной ионной формой ионита, сорбция на натриевой форме осуществляется постепенно, от периферии к центру зерна. В Н-форме ионита ионы меди продвигаются вглубь зерна через межглобулярное пространство, распределяясь по всему объему равномерно. Энергетические затраты на диффузию ионов металла и изменение положения функциональных групп полимера в случае водородной формы меньше.

Установлено, что термоэффект процесса сорбции ионов меди зависит от степени пористости катионита и его исходной формы [54]. На гелевом КБ-4-2 эндотермический эффект процесса больше, чем на пористом КБ-4п-2, а на последнем в протонированной форме выше, чем на депротонированной. Эндотермический эффект сорбции ионов меди возрастает с увеличением концентрации ионов меди(II) в растворе, т.к. при этом растут энергозатраты системы, связанные с образованием координационных центров определенной стереохимии: с увеличением концентрации ионов металла все большее количество функциональных групп катионита находится не в тех конформациях, которые диктуются электронной конфигурацией ионов меди(II).

По экспериментальным данным о равновесных составах фаз и теплоте обмена, определенной на дифференциальном микрокалориметре ДАК-1-1Ф в изотермическом режиме с автоматической компенсацией термо-ЭДС за счет эффекта Пельтье, рассчитаны термодинамические константы равновесия, изменения энергии Гиббса, энтальпии и энтропии ионного обмена [55]. Показано, что дифференциальные энтальпии сорбции ионов на соответствующих анионитах, рассчитанные из изобар Вант-Гоффа и определенные прямым микрокалориметрическим методом, совпадают с погрешностью 5-6 % [56]. Во всех исследуемых процессах с выделением тепла и уменьшением энтропии системы избирательность управляется энтальпийным фактором. Одним из важнейших в теоретическом и практическом отношениях результатом проделанной работы

является доказательство взаимосвязи избирательности сорбции и кинетической способности ионита: увеличение кинетической проницаемости ионитов сопровождается увеличением избирательности сорбции.

Немногочисленны работы по изучению тепловых эффектов сорбции на волокнистых сорбентах. Калориметрическим методом изучено взаимодействие Na-формы карбоксильного волокна ВИОН КН-1 с растворами нитратов меди(II) и цинка(II), получены термокинетические кривые и вычислены энтальпии сорбции ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} . На основании этих данных и изотерм сорбции сделано предположение о составе образующихся комплексов с участием функциональных групп волокна [57]. Исследована термокинетика и определена энтальпия сорбции ионов $\text{Zn}(\text{II})$ из растворов различной концентрации карбоксильным хемосорбционным волокном ВИОН КН-1 (Na-форма). Установлено, что время достижения сорбционного равновесия и величина $\Delta_c H$ сорбции ионов цинка зависит от их концентрации в растворе [58].

Энергия комплексообразования высокомолекулярных сшитых полиамфолитов – комплекситов – с катионами различных металлов изучена недостаточно и все работы по данному вопросу принадлежат к последним 20-30 годам. Изучение энтальпии комплексообразования в фазе ионообменников прямым калориметрическим методом затруднено из-за того, что процесс сопровождается другими взаимодействиями: ионным обменом, образованием осадка, молекулярной сорбцией [19]. Кроме того, комплексообразование вызывает изменение степени набухания полимера и гидролиза его ионогенных групп. Тепловые эффекты перечисленных процессов неоднозначны и сильно зависят от условий эксперимента, а также состояния ионогенных групп ионита и природы противоиона. Эти трудности препятствуют возможности сопоставления энергии и предполагаемого механизма комплексообразования ионов металлов на комплекситах и комплексонах с аналогичными, в частности аминотетрафосфонатыми группами.

Тепловые эффекты сорбции аминокислот

Применение микрокалориметрии к процессам, протекающим в системах ионообменник – аминокислота – ионы металла, весьма ограничено [54, 59, 60]. Определены энтальпии взаимодействия ионов меди(II) с карбоксильным катионитом КБ-4, аминокислотным амфолитом АНКБ-35 и их низкомолекулярными аналогами – уксусной и аминокислотной кислотами в зависимости от концентрации ионов меди(II) и лигандных групп в системе.

Из термокинетических кривых, полученных в [60] и характеристик взаимодействия ионов никеля(II) с глицином и глутаминовой кислотой следует, что данные процессы сопровождаются значительными экзотермическими эффектами, что свойственно для координации донорных атомов азота. Сорбция ионов никеля из растворов аминокислотных комплексов имеет более высокий экзотермический эффект по сравнению с сорбцией из нитратных растворов. Это можно объяснить тем, что в первом случае в состав ионитного комплекса входит одна молекула аминокислоты, в результате чего он становится более стабильным. Извлечение ионов никеля(II) из комплекса с глутаминовой кислотой сопровождается большими значениями тепловых эффектов, чем из комплексов с глицином, что связано с увеличением энергозатрат на разрушение трехлигандного комплекса глицина, по сравнению с энергозатратами на разрушение двухлигандного глутаминовой кислоты. Таким образом, в системе полиамфолит АНКБ-35 – Ni^{2+} – аминокислота происходит разрушение исходных комплексов в растворе и образование более прочных смешаннолигандных комплексов никеля (II) с участием иминодиуксусных групп ионита.

Проведенное в работе [46] исследование процесса взаимодействия катиона глутаминовой кислоты с КУ-2 и полистиросульфокислотой калориметрическим методом, показало, что этот процесс сопровождается экзоэффектом, который увеличивается с ростом концентрации раствора аминокислоты, при этом для КУ-2 наблюдаются максимальные значения энтальпии взаимодействия катионов с полиэлектролитом.

В работе [59] определено, что экзотермический тепловой эффект сорбции с увеличением исходной концентрации комплексов меди с валином и аспарагиновой кислотой снижается. По мнению авторов, это связано с тем, что при низких степенях заполнения в ионите имеется большое количество функциональных групп с благоприятным пространственным расположением для взаимодействия с ионами меди(II). С увеличением степени заполнения число этих групп уменьшается, что влечет за собой и снижение теплового эффекта сорбции, так как возрастают затраты на деформацию полимерной матрицы. С ростом концентрации ионов меди в ионите происходит увеличение энергетических затрат на дегидратацию функциональных групп сорбента, что также приводит к уменьшению энтальпии.

Определены энтальпии сорбции глицина на катионообменниках КБ-2 и КБ-4 в широком интервале кислотности раствора. Рассчитаны энтальпии сорбции различных ионных форм аминокислот на катионообменниках в протонированной, депротонированной и медной формах. Установлено определяющее влияние состава внешнего раствора, в частности его кислотности, на энтальпию сорбции, которая возрастает с ростом кислотности [61, 62].

В работах [63, 64] изучено влияние кислотности раствора метионина на его взаимодействие с карбоксильными катионитами в протонированной, депротонированной и медной формах. Определено, что из кислых растворов происходит необменное поглощение метионина, а из щелочных – смешанная: молекулярная и ионная сорбция. В интервале рН от 5 до 12 происходит распределение метионина между водным раствором и сорбентом в медной форме с образованием в щелочной области комплексных соединений с катионами меди(II) в обеих фазах. Рассчитаны энтальпии взаимодействия метионина с КБ-2, КБ-4 при различных рН.

В работе [65] показано, что процесс взаимодействия сильноосновных анионитов АРА-1п, АВ-17-8 и АВ-29-12п с анионами глицина, глутаминовой кислоты и тирозина в выбранном интервале концентраций сопровождается выделением тепла. Установлено, что на максимум и длительность тепловыделения, энтальпию процесса существенно влияет как структура анионитов и количество сшивающего агента, так и строение, свойства и концентрация аминокислот. Предпринята попытка рассмотреть влияние гидрофобности аминокислот на величину энтальпии процесса.

При исследовании тепловых эффектов взаимодействия зернистых ионообменников с анионами аминокислот необходимо учитывать возможность образовывать ассоциаты между ионами и ионами с молекулами растворителя. Энтальпии взаимодействия представляют собой результат сильного электростатического кулоновского и относительно слабых взаимодействий. Величины сильных и слабых межчастичных взаимодействий зависят от концентрации ионов аминокислот в растворе. Когда концентрация ионов аминокислот в растворе мала, то, очевидно, преобладает доля ионообменной сорбции, что сопровождается ростом энтальпии сорбции (см. уравнение 1). С увеличением концентрации аминокислоты, когда большинство доступных функциональных групп ионообменников

прореагировало, растет доля слабых взаимодействий, что сопровождается незначительной величиной энтальпии сорбции.

Тепловые эффекты сорбции на водорастворимых полиэлектролитах

В литературе встречаются интересные работы, отличающиеся оригинальной методикой и нестандартным описанием результатов по калориметрическому исследованию взаимодействия ионов металлов с карбоксиметилцеллюлозой различной плотности заряда [66-68]. Отмечено несовпадение ряда селективности катионов щелочноземельных металлов с последовательностью изменения теплот обмена. Это связано с тем, что энтропийная составляющая свободной энергии тем больше, чем выше сродство катиона к полииону. Поэтому наблюдается значительная дезорганизация гидратной сферы ионов. Исследовано изменение сродства и теплового эффекта при различных температурах для ионов одновалентных (щелочных) и двухвалентных (щелочноземельных) металлов.

Калориметрическим методом исследован ионный обмен катионов калия, меди, железа, а также глутаминовой кислоты на сульфокатионите КУ-2 и его водорастворимом аналоге – полистиролсульфокислоте (ПССК). Установлено, что взаимодействие неорганических ионов со сшитым полиэлектролитом сопровождается меньшими значениями изменения энтальпии, чем для линейного. Это явление объяснено различной доступностью функциональных групп для обмена в КУ-2 и ПССК. Показано, что процесс взаимодействия КУ-2 с органическим катионом характеризуется большими значениями изменения энтальпии по сравнению с ПССК. Предположено, что данный процесс сопровождается образованием дополнительных неионогенных связей и значительным изменением структуры водного раствора [46].

В работе [69] на основе калориметрических исследований рассчитаны термодинамические характеристики взаимодействия полиэлектролита с водой и его солевых форм друг с другом. Показано, что увеличение радиуса анионов приводит к уменьшению энтропии разбавления полиэлектролитов. Высказано предположение, что энтальпия смешения полиэлектролита с его солевыми формами существенно зависит от способов связи полиион-противоион.

В работе [70] методом калориметрии определены энтальпии взаимодействия гидроксида поливинилбензилтриметиламмония (ПВТА) с анионами глицина, глутаминовой кислоты и тирозина. Показано, что процесс взаимодействия ПВТА с анионами аминокислот является экзотермическим; энтальпия взаимодействия зависит от природы аминокислоты и концентрации. Установлено, что с увеличением концентрации аминокислоты экзотермичность процесса уменьшается, время установления равновесия – возрастает.

Природа иона-комплексообразователя оказывает различное влияние на величины энтальпий реакций с образованием нормальных комплексов металлов с ПЭАФ. Ряд энтальпии соответствует увеличению размеров гидратированных ионных радиусов катионов. Рост pH в кислой области растворов приводит к увеличению энтальпии комплексообразования ионов меди(II), а в нейтральной и щелочной – напротив к ее уменьшению. Для протонированных комплексонатов металлов $\Delta_{\text{кН}} > 0$, а для нормальных – $\Delta_{\text{кН}} < 0$ [71-75]. При изменении степени протонированности ПЭАФ меняется природа донорного атома, и поэтому такие закономерности определяются характером образующихся соединений: в кислой области растворов существуют комплексы с преимущественно ионной связью, а в щелочной – координационной.

Термохимические характеристики ионного обмена могут быть использованы для определения природы связи между ионами и полиионами, и наряду с другими

методами позволяют выбрать оптимальный ионообменник для извлечения компонентов раствора. В настоящее время используют зернистые, жидкие и волокнистые ионообменники катионного, анионного и амфолитного типов. Термохимические исследования процессов сорбции позволяют с одной стороны проследить влияние различных структур ионообменников и количества сшивающего агента в нем, а с другой стороны, влияние строения и радиуса ионов, их концентрации и других параметров на тепловой эффект процессов сорбции, поэтому при использовании сорбентов необходимо учитывать их особенности, влияющие на энергетические характеристики процессов.

Список литературы

1. Солдатов В.С. Простые ионообменные равновесия. Минск: Наука и техника, 1979. 182 с.
2. Boyd G.E., Valsow F., Lindenbaum S. Thermodynamic quantities in the exchange of lithium with cesium ion cross-linked polystyrene sulfonate cation exchangers // J. Phys. Chem. 1964. V. 68. № 3. P. 590.
3. Новицкая Л.В., Куваева З.И., Коган З.И. и др. К термодинамике ионного обмена на сульфированных сополимерах стирола и дивинилбензола. XIII Теплота обмена ионов Ca^{2+} , K^+ и H^+ // Журн. физ. химии. 1971. Т. 45. № 1. С. 124.
4. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция малых молекул. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел. М., 1986. С. 13.
5. Flogel M. Mikrokalorimetrija // Kemija v industriji. 1972. V. 21. № 5. P. 249.
6. Калориметрия. Теория и практика / Пер. с англ. В. Хеммингер, Г. Хёне, М. : Химия, 1990. 176 с.
7. Кальве Э., Прат А. Микрокалориметрия. М. : ИЛ, 1963. 477 с.
8. Бек М., Надьпал И. Исследование комплексообразования новейшими методами. М. : Мир, 1989. 413 с.
9. Привалова Н.И., Смирнова Л.С., Воробьев А.Ф. // Жур. физ. хим., 1975 –Т. 50, – с. 1334.
10. Бывальцев Ю.А., Куличенко С.И., Перелыгин Б.Г. и др. Методика определения энтальпий растворения в калориметре с многоампульным устройством. Современные проблемы термодинамики растворов // Труды Московского химико-технологич. ин-та им. Д.И. Менделеева., 1987. вып. 148. с. 93.
11. Prosen E.J., Kilday M.V. // J Res. nat. Bur. Standards (U.S.A.), 77a, 179, 1973.
12. Скуратов С.М., Колесов В.П., Воробьев А.Ф. //Жур. физ. хим., 1972 – Т. 46 – с. 245.
13. Воробьев А.Ф., Монаенкова А.С. Достижения и проблемы термохимии растворов электролитов в различных растворителях // Доклады X всесоюзной конференции «Проблемы калориметрии и химической термодинамики», Черноголовка 1984, Т.1, часть 1, с. 35.
14. Bissengaliyeva M.R., Bekturganov N.S., Gogol D.B. An experimental determination of copper heat capacity by the method of low-temperature adiabatic calorimetry // XVI International Conference of Chemical Thermodynamics in Russia (RCCT 2007) Suzdal, July 1-6, 2007, Abstracts, V. I, P. 12.
15. Paulechka Y.U., Strechan A.A., Kabo G.J., Blokhin A.V. Calorimetric and ir study of polymorphism in crystals of bistriflamide ionic liquids // XVI International Conference of Chemical Thermodynamics in Russia (RCCT 2007) Suzdal, July 1-6, 2007, Abstracts, V. I, P. 202.

16. Terzijan T.V., Safronov A.P., Unusova T.M., Kondrashova U.G. Calorimetric studying of cross-linking polymeric nanocomposite // XVI International Conference of Chemical Thermodynamics in Russia (RCCT 2007) Suzdal, July 1-6, 2007, Abstracts, V. II, P. 482.
17. Sharikov F.Y., Korytkova E.N., Gusarov V.V. Hydrothermal synthesis of chrysotile structure inorganic nanotubes as investigated with applying Calvet calorimetry // XVI International Conference of Chemical Thermodynamics in Russia (RCCT 2007) Suzdal, July 1-6, 2007, Abstracts, V. II, P. 395.
18. Попов М.М. Термометрия и калориметрия. М. : МГУ, 1954. 942 с.
19. Амелин А.Н., Лейкин Ю.А. Калориметрия ионообменных процессов. Воронеж: Из-во госуниверситета, 1991. 102 с.
20. Россотти Ф., Россотти Х. Определение констант устойчивости и других констант равновесия в растворах. М. : Мир, 1965. 564 с.
21. Яцимирский К.Б. Термохимия комплексных соединений. М. : Изд. АН СССР, 1951. 251 с.
22. Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Бобрешова О.В., Аристов И.В., Котова Д.Л. Физикохимические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. М. : Стелайт, 2002. 298 с.
23. Капуцкий Ф.Н., Юркштович Т.Л., Старобинец Г.Л., Бычковский П.М., Борщенская Т.И. Молекулярная сорбция алифатических α -аминокислот карбоксильными ионитами из бинарных водноэтанольных растворов // Журн. физ. химии. 2000. Т. 74. № 2. С. 277.
24. Zammouri Amel, Simone Chanel, Laurence Mahr. Ionexchange equilibrium of amino acids on strong anionic resins // Ind. and Eng. Chem. Res. 2000. 39, № 5. С. 1397.
25. Орос Г.Ю., Селеменев В.Ф. // Теория и практика сорбционных процессов. Воронеж, 1976. Вып. 11. С. 22.
26. Селеменев В.Ф. Мирошникова З.П., Огнева Л.А. и др. // Журн. физ. химии. 1985. Т. 59. № 8. С. 1992.
27. Шатаева Л.К., Кузнецова Н.Н., Елькин Г.Э. Карбоксильные катиониты в биологии. Л.: Наука, 1979. 286 с.
28. Копылова В. Д. и др. Энтальпия и кинетика сорбции ионов 3d-металлов карбоксильными катионитами. // Журн. прикл. хим. – 1989. Т. 62. № 7. С. 1539.
29. Копылова В.Д. и др. Энтальпия и кинетика сорбции ионов меди(II) иминодиуксусными полиамфолитами // Журн. физ. хим. 1988. Т. 62. № 11. С. 3026.
30. Копылова В.Д. Астанина А.Н. Ионитные комплексы в катализе. М. : Химия, 1987. С. 20.
31. Копылова В.Д. и др. Микрокалориметрическое исследование сорбции ионов 3d-металлов катионами // В кн. «Теория и практика сорбционных процессов». Воронеж : Изд. госуниверситета, 1985. № 17. С. 33.
32. Яцимирский К.Б., Васильев В.П. Константы нестойкости комплексных соединений. –М.: Изд-во АН СССР, 1959. –203 с.
33. Амелин А.Н., Ряскова Л.П., Перельгин В.М. и др. Термодинамика взаимодействия катионов двухвалентных металлов с азотфосфорсодержащими поликомплексонами // Журн. физ. хим. 1993. Т. 67. № 11. С. 2294.
34. Бондарева Л. П. Термодинамика комплексообразования в водных растворах фосфоновых комплексонов и нитратов некоторых металлов. Дис... канд. хим. наук. – Воронеж. – 1996. – 306 с.
35. Яцимирский К. Б. Физикохимия комплексов металлов с макроциклическими лигандами. / К. Б. Яцимирский, Я. Д Лампека. – Киев: Наукова думка, 1985. 221 с.
36. Помогайло А. Д., Уфлянд И. Е. Макромолекулярные металлохелаты. – М.:

Химия, 1991. 304 с.

37. Васильев В. П. Термохимия комплексных соединений. // Теор. и эксперим. хим. – 1991. – Т.27, №3. – С.278-283.

38. Амелин А.Н. Взаимодействие ионов переходных металлов с комплексообразующими полиэлектролитами. : Дис... докт. хим. наук. – Воронеж. – 1996. – 306 с.

39. Копылова В.Д. и др. Исследование сорбции ионов 3d-металлов фосфорсодержащими ионитами // Журн. физ. хим. 1984. Т. 58. № 1. С. 167.

40. Копылова В.Д. и др. Микрокалориметрическое исследование сорбции ионов меди(II) с фосфорсодержащими ионитами. I. Влияние природы ионита // Журн. физ. хим. 1982. Т. 56. № 4. С. 899.

41. Копылова В.Д. и др. Энтальпия и термокинетика процессов на низкоосновных анионитах // Журн. физ. хим. 1989. Т. 63. № 8. С. 2269.

42. Копылова В.Д. и др. Микрокалориметрическое исследование сорбции ионов меди(II) анионитами винилпиридинового ряда // Журн. физ. хим. 1981. Т. 55. № 2. С. 407.

43. Кертман С.В. и др. Термохимические исследования сорбции переходных металлов полиамфолитами АНКФ-80-7п и АНКФВ-80-7п // Журн. физ. хим. 1991. Т. 65. № 11. С. 3136.

44. Выдрина Т.С. Синтез и свойства новых сетчатых азотфосфорсодержащих полиэлектролитов на акрилатной основе. : Дис...канд. хим. наук. – Свердловск. – 1990. – 203 с.

45. Кертман С.В. Термохимия сорбции ионов переходных металлов комплексообразующими ионитами. : Дис... канд. хим. наук. – Тюмень. – 1990. – 171 с.

46. Перегудов Ю.С., Амелин А.Н., Перельгин В.М. Термохимия ионного обмена некоторых неорганических и органических ионов // Журн. физ. химии. 1997. Т. 71. № 5. С. 958.

47. Амелин А.Н., Бондарева Л.П., Лейкин Ю.А. и др. Термохимия взаимодействия комплексообразующих полиэлектролитов с катионами металлов // Журн. физ. химии. 1999. Т. 73. № 2. С. 271.

48. Перельгин В.М., Амелин А.Н., Перегудов Ю.С. и др. Калориметрическое исследование влияния сшивки на сорбцию ионов меди сульфокатионитами // Журн. физ. химии. 1992. Т. 66. № 7. С. 1956.

49. Копылова В.Д., Амелин А.Н., Колобов П.Ю. и др. Влияние структурных факторов на энтальпию и термокинетику взаимодействия ионов меди (II) с карбоксильным катионитом КБ-2э // Сорбцион. и хроматогр. процессы. 2003. Т. 3. № 1. С. 54.

50. Копылова В.Д., Вальдман А.И., Вальдман Д.И., Вдовина Г.Л. и др. Влияние природы и количества мостикообразователя на энтальпию и скорость сорбции ионов меди(II) карбоксильным катионитом КБ-2 // Журн. физ. химии. 1990. Т. 64. № 11. С. 3007.

51. Салдадзе К.М., Копылова В.Д. Комплексообразующие иониты (комплекситы). М: Химия, 1980. 336 с.

52. Ковалева Е.Г., Молочников Л.С., Липунов И.Н. Влияние смешанной $H^+ - Na^+$ -формы карбоксильного катионита КБ-2 и рН внутри зерна ионита на состояние ионов $Cu(II)$ и каталитические свойства $Cu(II)$ -содержащих ионитных катализаторов // Журн. физ. химии. 2000. Т. 74. № 11. С. 1403.

53. Копылова В.Д., Амелин А.Н., Колобов П.Ю. Влияние сшивки карбоксильного катионита КБ-2э на процесс сорбции ионов переходных металлов // Сорбцион. и хроматогр. процессы. 2002. Т. 2. № 2. С. 180.

54. Копылова В.Д., Амелин А.Н., Перегудов Ю.С. и др. Энтальпия взаимодействия ионов меди(II) с ионитами КБ-4 и АНКБ-35 и их низкомолекулярными аналогами // Журн. физ. химии. 2001. Т. 75. № 5. С. 810.

55. Альтшулер Г.Н., Сапожникова Л.А., Остапова Е.В., Альтшулер О.Г. Термодинамика ионного обмена в сульфированном полимере на основе цис-тетрафенилкаликс[4]резорцинарена // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. №7. С. 1159.

56. Аббасов А.Д., Мамедова Ф.С., Мамедова Г.А., Мамедова А.Н. Термодинамика взаимодействия ионов $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, $[\text{HgCl}_4]^{2-}$, $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^-$ и HGeO_3^- с анионитами // XVI International Conference of Chemical Thermodynamics in Russia (RCCT 2007) Suzdal, July 1-6, 2007, Abstracts, V. I, P. 215.

57. Копылова-Валова В.Д., Зверев О.М., Астапов А.В. и др. Термохимия сорбции катионов меди(II) и цинка(II) волокнистым ионитом ВИОН КН-1 // Сорбцион. и хромат. процессы. 2006. Т. 6. № 4. С. 630.

58. Копылова В.Д., Зверев О.М., Астапов А.В. и др. Термокинетика сорбции $\text{Zn}(\text{II})$ карбоксилсодержащим волокном ВИОН КН-1 // Химические волокна. 2006. № 2. С. 59.

59. Копылова В.Д., Кузнецова Е.Е., Амелин А.Н. и др. Энтальпии взаимодействия ионов $\text{Cu}(\text{II})$ с аминокислотами и аминокислотных комплексов меди(II) с амфолитом АНКБ-35 // Журн. физ. химии. 2002. Т. 76. № 11. С. 2070.

60. Астапов А.В., Амелин А.Н., Перегудов Ю.С. Термохимическое исследование конкурентного комплексообразования в системе ион никеля (II) – аминокислота – ионит АНКБ-35 // Журн. неорг. химии. 2002. Т. 47. № 7. С. 1130.

61. Овсянникова Д.В., Селеменев В.Ф., Бондарева Л.П. и др. Энтальпия сорбции глицина из водных растворов карбоксильными катионитами // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. № 10. С. 1887.

62. Овсянникова Д.В., Бондарева Л.П., Селеменев В.Ф. Энтальпия сорбции глицина из водных растворов на карбоксильных катионитах в медной и смешанных формах // Журн. физ. химии. 2008. Т. 82. № 8. С. 1552.

63. Овсянникова Д.В., Бондарева Л.П., Селеменев В.Ф., Карпов С. И. Равновесная сорбция метионина на карбоксильных катионообменниках из растворов различной кислотности // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 5. С. 961.

64. Бондарева Л.П., Овсянникова Д.В., Селеменев В.Ф. Энтальпия взаимодействия водного раствора метионина с карбоксильными катионитами в медной форме // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 5. С. 1021.

65. Перегудов Ю.С., Астапов А.В., Копылова В.Д. Энтальпии взаимодействия сильноосновных анионитов с ионами аминокислот. // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 6. С. 1016.

66. Rinaud M., Milas M., Laffond M. Etude par microcalorimetrie de la fixation specifique des cation sur les polyelectrolytes anionique // J. de chimie physique. 1973. V.70. № 5. P. 884.

67. Rinaud M., Milas M. Determination of the thermodynamic Parametrs of Selectivity on Polyelectroiytes by Potentiometry and Microcalorimetry // Macromolecule. 1973. V.6. № 6. P. 879.

68. Rinaud M., Milas M. Ionic selectivite of Polyelectrolytes in Salt free Solution // В кн. "Polyelectrolytes and their Application", Holland, 1975. V.2. P.31.

69. Перегудов Ю.С., Амелин А.Н., Лошак О.В. Термодинамические характеристики процессов разбавления и смешения растворов поливинилбензилтриметиламмония в различных ионных формах // Высокомолекулярные соединения. 1998. Т. 40. № 7. С. 1224.

70. Копылова В.Д., Перегудов Ю.С., Астапов А.В. Энтальпии взаимодействия гидроксида поливинилбензилтриметиламмония с аминокислотами в водных растворах // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. № 5. С. 848.

71. Перельгин В.М., Амелин А.Н., Ряскова Л. П. Термодинамические и термохимические характеристики водных растворов полиэтиленаминометилфосфоновых кислот в протонированной и натриевой формах // Извест. вузов. Химия и хим. технология. 1993. №3. С. 59.

72. Перельгин В.М., Амелин А.Н., Ряскова Л. П. Термодинамические характеристики протонированных соединений меди(II) с полиэтиленаминометилфосфоновыми кислотами // Извест. вузов. Химия и хим. технология. 1994. №5. С. 62.

73. Амелин А.Н., Ряскова Л.П., Кертман С.В. и др. Термохимия взаимодействия ионов переходных металлов с фосфорсодержащими комплексами // Журн. неорган. химии. 1994. Т. 39. № 6. С. 974.

74. Перельгин В.М., Перегудов Ю. С., Амелин А.Н. и др. Потенциометрическое и калориметрическое исследование полиэлектролитов // Журн. физ. химии. 1994. Т. 68. № 8. С. 1409.

75. Перельгин В.М., Ряскова Л.П., Амелин А.Н. и др. Термодинамическая оценка комплексообразования меди(II) с полиэтиленаминометилфосфоновыми кислотами // Журн. физ. химии. 1995. Т. 69. № 6. С. 1096.

Бондарева Лариса Петровна – к.х.н., доцент кафедры физической и коллоидной химии, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж, тел. (4732) 55-34-71

Овсянникова Диана Васильевна – к.х.н., ст. преп. кафедры управления качеством и машиностроительных технологий, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж, тел. (4732) 55-15-49

Перегудов Юрий Семенович – к.х.н., доц. кафедры общей и неорганической химии, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж, тел. (4732) 55-38-87

Астапов Алексей Владимирович – к.х.н., доц. кафедры общей и неорганической химии, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Bondareva Larisa P. - the senior lecturer of faculty physical and colloid chemistry the Voronezh state technological academy, Voronezh

Ovsyannikova Diana V. - the senior teacher of faculty of quality management and machine-building technologies the Voronezh state technological academy, e-mail: odv80@bk.ru

Peregudov Jurii S. - the senior lecturer of faculty general and inorganic chemistry the Voronezh state technological academy, Voronezh

Astapov Aleksey V. - the senior lecturer of faculty general and inorganic chemistry the Voronezh state technological academy, Voronezh



УДК 628.16

Влияние противоионов на мембранный транспорт при сверхпредельных плотностях тока

Шапошник В.А., Козадёрова О.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 17.06.2009 г.

Аннотация

В противоположность точке зрения М.В. Певницкой и С.Н. Ивановой в данной статье экспериментально и теоретически доказано существенное влияние природы противоионов на транспорт водородных и гидроксильных ионов при электродиализе с чередующимися катионообменными и анионообменными мембранами в области сверхпредельных плотностях тока. Для этого эксперименты были проведены методом избирательной поляризации одной из исследуемых мембран и дана квантово-химическая интерпретация различий потоков ионов для электролитов разной природы.

Ключевые слова: необратимая диссоциация, электродиализ, ионообменные мембраны, сверхпредельные плотности тока, водородная связь

Our notions about the irreversible dissociation of water molecules are based on electromigration from the interphase boundary between the solution and the membrane to the cathode and the anode of hydrogen and hydroxyl ions across ion-exchange membranes due to their unipolar conductivity. It is especially important that the ions formed from a water molecule hydrate and carry away a significant amount of water molecules from the interphase surface. The decrease of water concentration at the interphase surface is compensated by its molecular diffusion. The study of deionization of alkali metal salts showed that the maximal hydrogen ion fluxes were obtained for the ions with a low hydrogen bond the minimal for the great hydrogen bond between ionogenic groups and water molecules.

Key words: irreversible dissociation, electrodiagnosis, ion-exchanger membranes, overlimiting current density, hydrogen bond

Введение

Начало исследований переноса водородных и гидроксильных ионов через мембраны при высоких плотностях тока было положено еще в 1909 г., когда А. Бете с помощью розолой кислоты, используемой им в качестве кислотно-основного индикатора, наблюдал различную окраску раствора и поверхности мембран из коллодия, пергамента, желатина, яичного белка и агар-агара [1]. Т. Крессман и Ф. Тай, исследуя электродиализ с чередующимися катионообменными и анионообменными мембранами в 1956 г. установили, что при превышении предельных диффузионных плотностей тока избыточный ток переносят гидроксильные через анионообменные и водородные через катионообменные

мембраны [2]. Б. Кук установил, что генерация гидроксильных ионов на межфазной границе анионообменной мембраны и раствора значительно превышает генерацию водородных ионов на катионообменной мембране [3]. В дальнейшем большинство исследований генерации гидроксильных и водородных ионов проводились на биполярных мембранах [4-6]. При проведении экспериментов с биполярными мембранами, генерирующими на внутренней межфазной границе водородные и гидроксильные ионы, отсутствовала возможность варьирования состава противоионов и эта проблема не изучалась. В 1992 г. М.В. Певницкая и С.Н. Иванова, проведя эксперименты с чередующимися катионообменными и анионообменными мембранами при малом превышении предельных плотностей тока и близких концентрациях электролитов, пришли к выводу о том, что природа противоионов не влияет на генерацию ионов молекул воды [7]. Задачей настоящей работы является доказательство существенного влияния природы противоионов на скорости генерации водородных ионов через катионообменную и гидроксильных ионов через анионообменную мембраны при электродиализе, проводимым при сверхпредельных плотностях тока.

Методика эксперимента

Эксперименты были проведены в электродиализаторе представленном на рис.1. Его анод был изготовлен из платины, а катод был выполнен из нержавеющей стали. Межэлектродное пространство было разделено на семь секций чередующимися анионообменными гетерогенными мембранами МА-41 и катионообменными мембранами МК-40 производства ОАО «Щекиноазот». Каждая секция аппарата имела размеры $1 \times 1 \times 5 \text{ см}^3$.

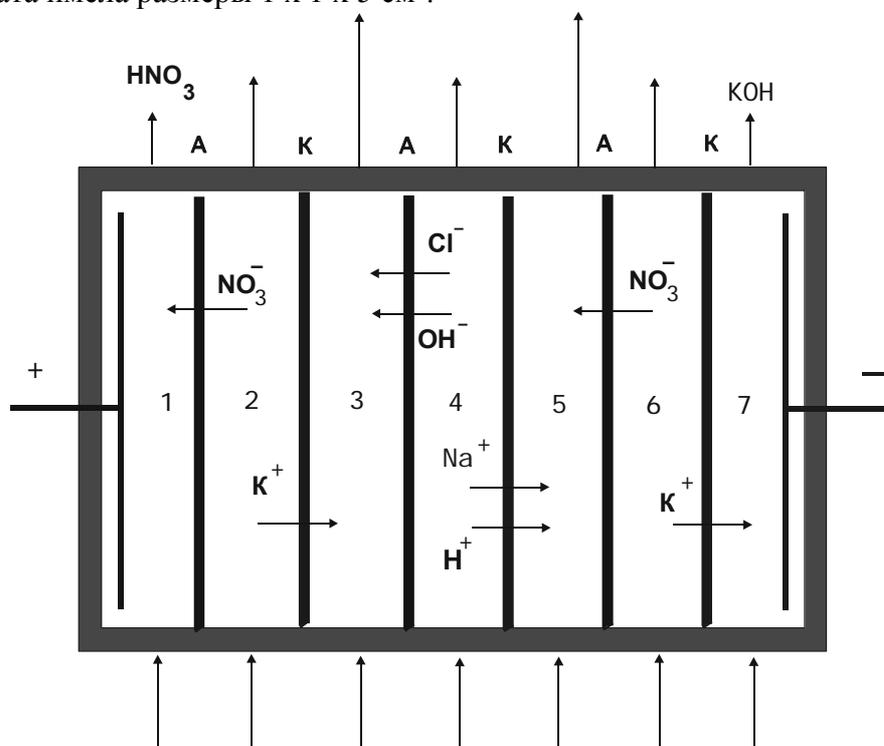


Рис. 1. Схема электродиализатора. А - анионообменные, К – катионообменные мембраны. 1-7 – номера секций

Особенностью проведенных экспериментов было применение метода избирательной поляризации мембран. Он был предложен при исследовании растворения малорастворимых электролитов электродиализом [8]. Настоящий вариант метода отличался тем, что в секцию деионизации 7 подавали исследуемый раствор электролита с концентрацией 0.01 М, а в секции деионизации 2 и 6 растворы нитрата аммония с концентрацией 0.50 М [9]. Большая концентрация соли в секциях 2 и 6 применялась для того, чтобы на катионообменной мембране, разделяющей секции 2 и 3, а также на анионообменной мембране, разделяющей секции 5 и 6 не достигалась предельная плотность тока. Вследствие этого предельная плотность тока превышалась только на катионообменной мембране, разделяющей секции 3 и 4, а также на анионообменной мембране, разделяющей секции 4 и 5. Это позволяло в секции концентрирования 3 анализировать только ионы, переносимые через катионообменную мембрану на любой стадии концентрационной поляризации, а в секции 5 анализировать ионы, переносимые через анионообменную мембрану. Генерация водородных ионов была исследована при пропускании через секцию различных солей щелочных металлов, а генерация гидроксильных ионов при пропускании через ту же секцию разных солей элементов VII группы. Растворы нитрата аммония были выбраны потому, что они не влияли на результаты пламенно-фотометрического определения катионов щелочных металлов и на результаты argentометрического определения фторидов, хлоридов, бромидов и иодидов.

Результаты эксперимента

Рис. 2 показывает зависимость потоков водородных ионов от плотности тока при электродиализе 0.01 М хлоридов щелочных металлов. Минимальная скорость генерации водородных ионов была получена при электродиализе соли лития, имеющего минимальный радиус иона ($r = 0.6 \text{ \AA}$) среди щелочных катионов, и, вследствие максимального кулоновского взаимодействия, наибольшую энергию гидратации в сравнении с другими катионами щелочных металлов.

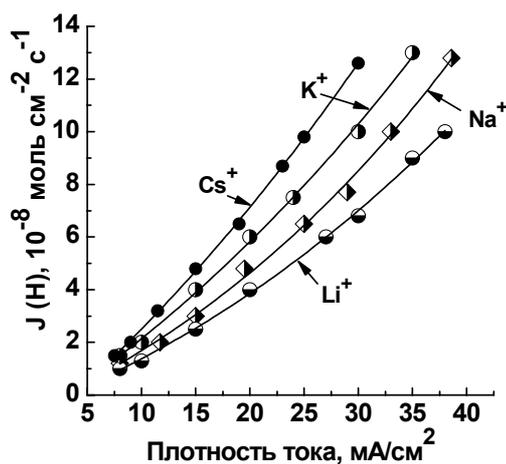


Рис. 2. Зависимость потоков водородных ионов через катионообменную мембрану МК-40 от плотности тока при электродиализе хлоридов щелочных металлов

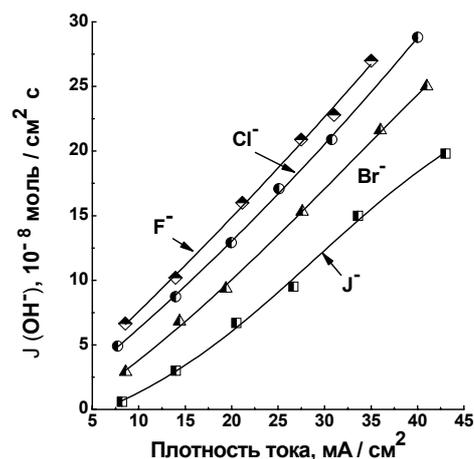


Рис. 3. Зависимость потоков гидроксильных ионов через анионообменную мембрану МА-41 от плотности тока при электродиализе галогенидов калия

Катионы натрия ($r = 0.95 \text{ \AA}$), калия ($r = 1.33 \text{ \AA}$) и цезия ($r = 1.99 \text{ \AA}$), имеющие большие размеры ионов имели меньшие величины ион – дипольного взаимодействия и, соответственно, меньшие энергии гидратации. Можно было сделать вывод о том, что чем больше удерживающая сила противоиона, тем меньше была способность молекул воды к диссоциации.

Однако эксперименты, проведенные с солями галогенидов, представленные на рис. 3, показали противоположный характер зависимости потоков генерации гидроксильных ионов. Наибольший поток генерации гидроксильных ионов был зарегистрирован при электролизе фторида, имеющего наименьший радиус иона (1.33 \AA) и наибольшую энергию гидратации по сравнению с другими галогенидами, а наименьший поток гидроксильных ионов при электролизе иодида (2.16 \AA), имеющего самую малую энергию гидратации в сравнении с другими галогенидами. Это исключило возможность объяснения последовательности скоростей генерации ионов, образующимися при диссоциации молекул воды, наибольшим электростатическим удерживанием молекул воды ионами.

Обсуждение результатов

Для решения проблемы начнем с того, что каждая молекула воды, находящаяся на границе раздела мембраны и раствора диссоциирует при тепловой флуктуации, вероятность которой очень мала. Однако, при наложении на электромембранную систему градиента электрического потенциала один из продуктов диссоциации, например водородные ионы на границе катионообменной мембраны и раствора, отводятся из области реакции, вызывая необратимую непрерывную диссоциацию. Вместе с мигрирующим ионом движется гидратная оболочка, вызывая электроосмотический поток. На межфазной поверхности происходит уменьшение концентрации молекул воды, образуя вакансии. Для поддержания стационарного процесса необратимой диссоциации на вакансии, которые образуются при обезвоживании мембранной поверхности, должны диффундировать молекулы воды из массы раствора. В массе раствора молекулы воды удерживаются силами ион - дипольного взаимодействия (гидратная вода) и водородными связями. Если иметь в виду первую гидратную оболочку ионов с положительной гидратацией, таких как литий, натрий, фторид, то энергии гидратации их оставляет сотни кДж/моль, что много больше, чем энергии водородной связи, имеющие порядок 20 кДж/моль. Отсюда можно сделать вывод, что для диффузии воды к вакансиям на поверхности мембраны необходим разрыв водородных связей молекул воды и их последующая диффузия под действием градиента химического потенциала.

В связи с этим мы обратились к квантовохимическим неэмпирическим расчетам структур сульфокатионообменников в формах щелочных металлов и анионообменников в формах анионов галогенов. Рис. 4 показывает структуру гидратированного сильнокислотного катионообменника КУ-2, из которого приготовлена мембрана. Расчет проведен неэмпирическим методом в базисном наборе функций 6-31^{**}. х.

Были проведены расчеты литиевой, натриевой, калиевой и цезиевой форм катионообменника и найдены минимальные расстояния между атомами водорода и кислорода в водородных связях. Расчет структуры анионообменной мембраны мы проводили с учетом химической реакции, которая при плотностях тока выше

предельных превращает четвертичные аммониевые основания при взаимодействии с гидроксильными ионами, образующимися при необратимой диссоциации воды, в третичные амины [10].

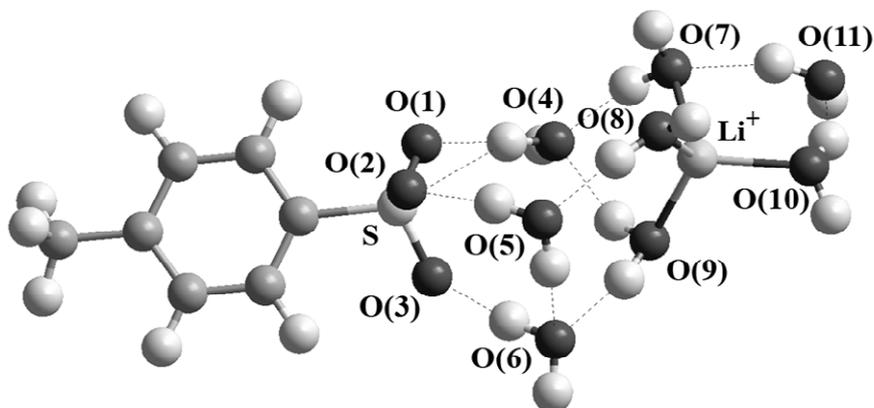


Рис. 4. Оптимизированная структура фрагмента сульфокислотной катионообменной мембраны

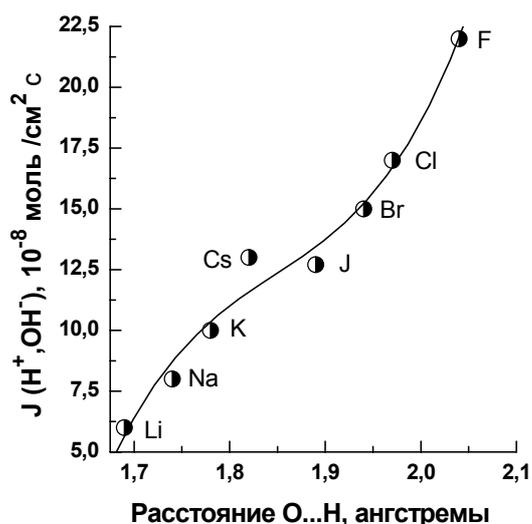
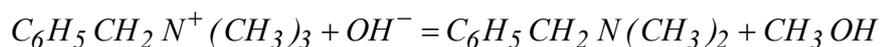


Рис. 5. Зависимость переноса гидроксильных ионов через мембрану МА-41 и водородных ионов через мембрану МК-40, образующихся при необратимой диссоциации воды при электродиализе с плотностью тока 28 мА/см² от длины наиболее слабой водородной связи в оптимизированных структурах литиевой, натриевой, калиевой, цезиевой форм катионообменной мембраны и фторидной, хлоридной, бромидной и иодидной форм анионообменной мембраны

В полученных структурах мы искали наиболее длинные, а, следовательно, наиболее слабые водородные связи и построили график скоростей генерации гидроксильных и водородных ионов как функций длины водородных связей. Наименьшая длина водородной связи, находившейся у сульфогруппы, была самой прочной, и максимально препятствовала отрыву от нее молекулы воды. Наибольшая длина водородной связи была у молекул воды вблизи метильной группы для фторидной формы анионообменника. Так как анион фтора имеет высокую

электронную плотность, которая смещается к ионогенной группе, то атом водорода в метильной группе становится более отрицательным, и водородная связь между ним и атомом кислорода соседней молекулы воды ослабляется

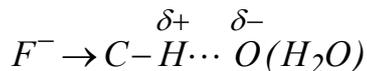


Рис. 5 показывает зависимость потоков генерации гидроксильных ионов через анионообменную мембрану и водородных ионов через катионообменную мембрану как функции наиболее длинных водородных связей. Наиболее прочными водородными связями в катионообменной мембране является те, которые образуют между собой гидратные молекулы воды сульфогруппы и противоионов. Наименее прочными являются водородные связи в третичных аминогруппах, водород которых образует водородные связи с атомом кислорода молекул воды.

Выводы

1. Генерация водородных ионов катионообменными мембранами и гидроксильных ионов анионообменными мембранами вызваны необратимой электромиграцией гидратированных противоионов.

2. Перенос гидратной воды противоионами через мембраны (электроосмос) приводит к обезвоживанию межфазных границ мембран, образованию вакансий на местах мигрировавших молекул воды, диффузии на них молекул воды, которые наиболее слабо удерживаются различными межионными и межмолекулярными взаимодействиями.

3. Превращение четвертичных аммониевых оснований в третичные амины, имеющие слабые водородные связи с молекулами воды, объясняет большую интенсивность генерации потоков гидроксильных ионов анионообменной мембраной в сравнении с потоками водородных ионов, генерируемыми катионообменной мембраной.

Список литературы

1. Bethe A., Toropoff T. // *Z. physik. Chemie.* 1914. Bd. 88. S. 686.
2. Kressman T.R.E., Tye F.L. // *Disc. Faraday Soc.* 1956. № 21. P. 185.
3. Cooke B.A. // *Electrochimica Acta.* 1961. V. 3. P.307.
4. Гребень В.П., Пивоваров Н.Я., Коварский Н.Я., Нефедова Г.З. // *Ж. физ. химии.* 1978. Т. 52. № 10. С. 2641.
5. Simons R., Khanarian G. // *J. Membr. Biol.* 1978. V. 38. P. 11.
6. Заболоцкий В.И., Шельдешов Н.В., Гнусин Н.П. // *Успехи химии.* 1988. Т. 57. № 6. С. 1403.
7. Певницкая М.В., Иванова С.Н. // *Химия и технология воды.* 1992. Т. 14. № 9. С. 653.
8. Исаев Н.И., Шапошник В.А. В кн.: «Синтез и свойства ионообменных материалов». 1968. М.: Изд-во «Наука». С. 256.
9. Шапошник В.А., Кастючик А.С., Козадрова О.А. // *Электрохимия.* 2008. Т. 44. № 9. С. 1155.
10. Simons R. // *Electrochimica Acta.* 1984. V.8. № 29. P. 151.

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

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

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

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



УДК579:541.18:627.82

Сорбция коллоидных соединений оксидов железа и марганца с помощью железобактерий на песчаных загрузках очистных сооружений водоподъемных станций

Букреева В.Ю., Грабович М.Ю., Епринцев А.Т.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Дубинина Г.А.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

Исследован микробиологический состав Mn- и Fe-окисляющих бактерий при функционировании песчаных фильтров очистных сооружений водоподъемных станций ВПС-8 г. Воронежа. Показана роль железоредукторов во вторичном загрязнении питьевой воды растворимыми формами железа. Приведены результаты лабораторного моделирования микробиологического способа удаления растворимых соединений Mn, Fe и других тяжелых металлов из питьевой воды.

Ключевые слова: сорбция тяжелых металлов, питьевая вода, песчаные фильтры очистных сооружений, железо- и марганец - окисляющие и -восстанавливающие бактерии

Microbiological composition of Mn- and Fe-oxidising bacteria has been investigated in sand filters of treatment facilities of water elevating stations VPS-8 in Voronezh. The role of iron reducing bacteria in secondary pollution of drinking water by soluble forms of iron is shown. The laboratory method for removal of Mn and Fe water soluble compounds from drinking water has been developed. The results obtained are discussed.

Key words: sorption heavy metals, drinking water, sand filters of treatment facilities, iron and manganese oxidizing bacteria, iron and manganese reducing bacteria

Введение

Особенности функционирования песчаных фильтров очистных сооружений. Одним из возможных путей совершенствования методов очистки питьевой воды может служить оптимизация условий работы эксплуатируемых песчаных фильтров с учетом действия биологического фактора. Таким образом, необходимо создание условий, благоприятствующих окислительной функции обитателей песчаных фильтров: железо- и марганцеокисляющих микроорганизмов для удаления марганца и железа из питьевой воды путем трансформации их в

нерастворимую форму, которая эффективно задерживается песчаными фильтрами очистных сооружений водоподъемных станциях г. Воронежа [1].

Железобактерии играют важную роль в природном круговороте, как железа, так и марганца. В поверхностных водах биогеохимический круговорот этих элементов (металлов) представляет собой широкомасштабный процесс.

Марганец и железо являются постоянными компонентами природных пресных вод, и их содержание зачастую превышает уровни основных макроэлементов. Растворимые формы марганца и комплексорганические соединения железа, имеющиеся в поверхностных водах, устойчивы к химическому окислению растворённым кислородом. Круговорот железа и марганца в водоемах состоит в том, что их соединения поступают с водосборной площади в водоем, где они окисляются и осаждаются на дно, затем переходят в восстановленную растворимую форму и могут снова диффундировать в водную массу, что приводит к вторичному загрязнению [2].

Миграция железа и марганца в поверхностных водах в значительной степени зависит от активности микроорганизмов. Биологическая трансформация как марганца, так и железа может осуществляться в результате физико-химических процессов, а также при участии групп железо- и марганцевосстанавливающих и окисляющих микроорганизмов. Причём скорость биогенных процессов окисления железа и, особенно, марганца во много раз превышает химическое окисление.

В результате окислительной деятельности железобактерий, марганец и железо поступают в водоём со стоком или из восстановительного горизонта донных отложений, сравнительно быстро окисляются и концентрируются в донных отложениях, характеризующихся восстановительным режимом и высокой численностью марганец-, железо- и сульфатредукторов. Восстановленные за счет деятельности этих организмов соединения Mn и Fe фильтруются вместе с водой водохранилища в водозаборные скважины [3].

Песчаные фильтры, применяемые в Воронеже на водоподъемных станциях (ВПС), малоэффективны, к сожалению, они не могут сорбировать растворимые формы железа и марганца, которые доминируют в грунтовой воде.

В настоящее время, способы очистки питьевой воды, основанные на аэрации, применении сильных окислителей, коагулянтов и фильтров, не способны справиться с высоким содержанием загрязняющих веществ и тяжелых металлов в воде. Одним из современных направлений, повышающих эффективность сорбции тяжелых металлов в системе песчаных фильтров очистных сооружений, является применение биотехнологических способов очистки питьевых и сточных вод с использованием микроорганизмов.

Механизм биологической очистки воды от железа и марганца. В микробиологическом способе извлечения железа из водного раствора, растворенное в воде Fe (II) окисляется до Fe (III) при помощи бактериальных клеток *Leptothix*, *Gallionella*, *Toxothix*, *Siberocystis*, *Siderocapsa spp.*, иммобилизованных в непрерывном режиме. При прохождении воды через слой носителя содержащееся в ней железо (II) под воздействием бактерий превращается в нерастворимые соединения Fe(III), которые выносятся наружу. Предлагаемый способ позволяет в непрерывном режиме и с высокой эффективностью обрабатывать большие объемы воды.

Причины накопления микроорганизмами оксидов железа и марганца (часть видов окисляет также двухвалентный марганец Mn (II)), могут быть различными:

1). Некоторые виды способны использовать органическую часть комплексных соединений, содержащих железо.

2). Возможна концентрация оксидов железа вокруг клеток микроорганизмов в результате чисто адсорбционных процессов. Это объясняется тем, что на поверхности клеток находятся отрицательно заряженные группы (PO_4^{3-} , COO^- , HS^- , OH^-), а коллоидные формы окисного железа заряжены положительно.

3). Одной из причин концентрации железа микроорганизмами является то, что они окисляют железо (II) продуктами своего метаболизма. Установлено, что некоторые бактерии относятся к *Arthrobacter*, *Leptothix*, *Metallgenium*, переводят закисное железо в окисное, так как последнее взаимодействует с перекисью водорода, которую они же и образуют.

Аккумуляция металлов микроорганизмами. Накопление металлов клетками микроорганизмов носит двухфазный характер:

а) начальная фаза не зависит от энергетического состояния клетки и обусловлена сорбцией металлов компонентами клеточной стенки, среди которых особенно активны как сорбенты хитин и хитозан;

б) последующая, более медленная фаза – энергозависимое внутриклеточное накопление, происходящее с участием мембранных переносчиков ионов.

Высокая сорбционная способность микроорганизмов (бактерий, мицелиальных грибов, дрожжей, водорослей) не зависит от температуры и энергетического метаболизма, что позволяет рассматривать их как эффективные и дешевые сорбенты для очистки водной среды от загрязнений [4-6].

Целью данного исследования было выяснение механизма сорбции растворенных форм Fe, Mn на песчаных фильтрах очистных сооружений.

Для выполнения цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать качественный и количественный состав бактерий в обрастаниях песчаных фильтров очистных сооружений водоподъемной станции ВПС-8 г. Воронежа.

2. Изучить интенсивность трансформации соединений железа и марганца различными видами железобактерий.

3. Создание лабораторной модельной установки – биореактора с использованием природных биоценозов микроорганизмов из песчаных фильтров городских станций очистки питьевой воды.

Эксперимент

Микробиологические методы.

Объектами исследования были пробы ила и песка (мелкая галька), отобранные на песчаных фильтрах водоочистой станции Воронежского водоочистного сооружения питьевого водоснабжения (ВПС-8). Помимо железобактерий, покрытых оксидами металлов, встречаются и другие бактериальные клетки, водоросли, простейшие.

Нижнюю часть колонок на 1/3 заполнили пробами, которые были взяты на песчаных фильтрах ВПС, оставшуюся часть заполнили в одном случае крупнозернистым песком, во втором случае - мелкозернистым песком. В верхнюю часть колонки были спущены предметные стекла для наблюдения за развитием микробных ассоциаций, участвующие в окислении двухвалентного железа и марганца. После этого через колонку был установлен проток водопроводной воды. Через 15-18 дней на предметных стеклах, на стенках колонки и в верхнем слое песка появился бурый налет. Рассмотрение этих стекол и соскобов со стенок и гальки под световым микроскопом позволило выявить на них зоны развития железобактерий.

Среди них обнаружены бактерии, относящиеся к родам *Leptothrix*, *Siderocapsa*, *Gallionella*. Кроме того в природной ассоциации поверхностных обрастаний крупнозернистого песка из песчаных фильтров доминирующее положение занимают такие железобактерии как нитчатые *Leptothrix ochraceae*; б) из одноклеточных различные морфотипы *Siderocapsa* и *Gallionella ferruginela*. Появление бурого налета на стеклах обрастания свидетельствует о том, что ассоциация микроорганизмов участвует в окислении железа и марганца в проточных условиях. Идентификацию представителей железобактерий родов *Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Metallogenium*, *Gallionella*, *Hyphomicrobium* по своеобразным морфологическим признакам в исследуемых осадках проводили путем микроскопического анализа в микроскопе СХ 41 фирмы «Olympus» с фазово-контрастным устройством.

Перед посевом на питательные среды проводили многократное и тщательное отмывание песчаных фракций из колонки и биореактора в стерильной водопроводной воде. Метод предельных десятикратных разведений и с применением ниже указанных, стандартных питательных сред был использован для количественного учета микроорганизмов, относящихся к различным физиологическим группам и участвующих в геохимическом цикле железа и марганца в воде и песчаном фильтре установки. Культивирование бактерий проводили в пробирках Хангейта в анаэробных условиях. Среду Миерса и Нильсена [7] для анаэробных железо- и марганецредуцирующих бактерий, обладающих респираторным типом метаболизма и использующих $\text{Fe}(\text{OH})_3$ или MnO_2 в качестве акцепторов электронов; Среду Бромфильда [8] для железо- и марганецредуцирующих бактерий с бродильным типом метаболизма; Среду Видделя с лактатом натрия [9] с добавлением ацетата натрия (0,5 г/л) использовали для сульфатредуцирующих бактерий. Количественный учет общей численности одноклеточных железо- и марганецокисляющих органотрофных бактерий производили методом посева на агаровую среду Тилера в чашки Петри с последующим подсчетом колоний, накапливающих оксиды железа или марганца [10-12].

Аналитические методы.

Колориметрическими методами на спектрофотометре СФ КФК – 3 проводили количественное определение различных форм железа и марганца в водной фазе на выходе и входе биореактора. Общее содержание $\text{Mn}(\text{II}) + \text{Mn}(\text{IV})$ определяли формальдоксимовым методом [7], $\text{Mn}(\text{IV})$ – с использованием орто-толидина [7], содержание $\text{Mn}(\text{II})$ – рассчитывали по разности: Mn общ - $\text{Mn}(\text{IV})$. $\text{Fe}(\text{II})$ определяли с α, α – дипиридиллом [13], $\text{Fe}(\text{III})$ – сульфосалициловым методом [13]. Содержание растворимого в воде кислорода определяли модифицированным микрометодом Винклера [14].

Обсуждение результатов

Краткая характеристика микробиологического состава обрастаний песчаных фильтров очистных сооружений ВПС-8 и их роль в осаждении железа. В связи с тем, что железобактерии широко распространены в природных водах и играют важную роль в трансформации соединений железа и марганца, наряду с микробиологическими исследованиями грунтовых и поверхностных вод было проведено изучение обрастаний загрузки песчаных фильтров. Микроскопический анализ микрофлоры обрастаний песчаных фильтров показал, что

доминирующими в природной ассоциации являются следующие железобактерии: из одноклеточных – различные морфотипы *Siderocapsa* и *Gallionella*; из нитчатых форм – *Leptothrix*. Также были обнаружены такие микроорганизмы, как *Sphaerotilus*, *Metallogenium*, *Hyphomicrobium*, участвующие в превращении марганца и железа.

Помимо железобактерий, покрытых оксидами металлов, встречаются и другие бактериальные клетки, водоросли, простейшие. Ранее было показано их наличие на различных этапах водопроводной системы.

Наряду с качественным составом железобактерий в обрастаниях песчаных фильтров был проведен количественный учет микроорганизмов, развивающихся в песчаной загрузке очистных сооружений (табл. 1).

Таблица 1. Количество микроорганизмов в обрастаниях песчаных фильтров ВПС-8 (1×10^5 кл/г песка) ($n=10$; $p \leq 0,05$)

Количество микроорганизмов	
Общее	Железобактерий
8,46 ± 0,37	4,58 ± 0,21

Анализ полученных результатов показал высокое содержание бактерий. Так, общее число микроорганизмов составило, в среднем, $8,4 \cdot 10^5$ кл/г сырого песка, а количество железобактерий составило, в среднем, $4,6 \cdot 10^5$ кл/г сырого песка. Необходимо отметить, что учитывали только жизнеспособные микроорганизмы, которые давали колонии на питательных средах. Общее количество бактериальных клеток, как живых, так и мертвых, было выше зарегистрированного.

Исходя из полученных результатов видно, что железобактерии составляют значительную долю в обрастаниях песчаных фильтров (>50% от общего числа бактерий) (табл. 2). В связи с этим, был проведен модельный опыт по изучению скорости осаждения железа в песчаной загрузке на различной глубине песчаного слоя.

Таблица 2. Скорость осаждения железа на песчаном фильтре ($n=10$; $p \leq 0,05$)

Участок песчаной загрузки	Скорость осаждения железа, (мкг Fe ³⁺ /см ²)		Количество железоредуцирующих микроорганизмов ($\times 10^5$), кл.
	Через 5 дней	Через 10 дней	
1.Верхний (3 см)	5,00 ± 0,20	19,00 ± 0,75	0,45 ± 0,05
2.Средний (19 см)	2,00 ± 0,05	9,00 ± 0,38	1,05 ± 0,05
3.Нижний (40 см)	0,60 ± 0,02	7,00 ± 0,15	3,75 ± 0,15

Анализ результатов, представленных в таблице 2, показал, что наиболее интенсивно идет осаждение железа в верхнем слое песчаной загрузки. Так, за 5 суток осаждается $5,00$ мкг/см² Fe(III), а за 10 суток – $19,00$ мкг/см². Наименее интенсивно осаждение железа происходит в нижнем слое песчаной загрузки и составляет $0,60$ мкг/см² Fe(III) за 5 суток и $7,00$ мкг/см² Fe(III) за 10 суток. Такая корреляция скорости осаждения железа в зависимости от глубины песчаного слоя связана с тем, что в нижнем слое загрузки преобладают железоредуцирующие микроорганизмы (до $4,00 \cdot 10^5$ кл/г песка), так как здесь создаются благоприятные для их развития условия. Высокое содержание железоредуцирующих микроорганизмов в нижних слоях загрузки песчаных фильтров приводит к частичному восстановлению окисленного

железа, что обуславливает вымывание растворимого двухвалентного железа в воду, которая затем поступает в систему питьевого водоснабжения.

Таким образом, в результате проведенных исследований было показано, что в загрузке песчаных фильтров очистных сооружений обитают типичные представители железобактерий, развивающихся при нейтральной реакции среды. Количественный учет микроорганизмов показал их высокое содержание в обрастаниях песчаных фильтров. Значительную долю от общего числа бактерий составляют железобактерии (>50%). Также была показана роль железоредукторов во вторичном загрязнении питьевой воды растворимыми формами железа.

Состав биоценоза. Численность железобактерий в песчаном фильтре биореактора. Бактериальное и химическое осаждения Fe и Mn. Схема модельной установки (биореактора) представлена на рис.1. Биореактор представлял стеклянную колонку объемом 2,5 л (высотой 30 см, диаметром 10,5 см). Колонка была заполнена на 1/3 объема песком, отобранным из песчаных фильтров городской станции очистки питьевой воды, содержащим природный биоценоз железо- и марганцеоксилирующих бактерий. Оставшийся объем заполняли сначала крупным, а затем мелкозернистым песком, последовательно отмытым в 1%-ной соляной кислоте и дистиллированной воде. В песок погружали предметные стекла для микроскопического анализа обрастаний. Для определения скорости процессов химического окисления растворимых соединений металлов, в качестве контроля, использовали колонку, заполненную песком без внесения фракции песка с бактериальными обрастаниями и добавлениями ингибитор дыхания NaN_3 в концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ М для подавления активности аэробных бактерий.

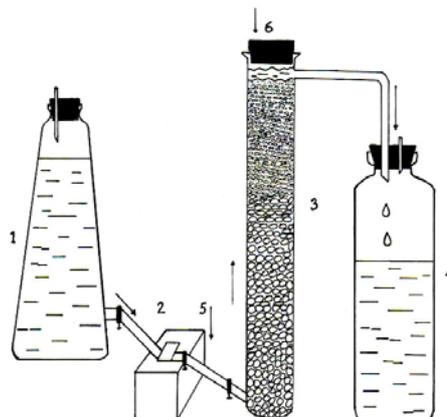


Рис. 1. Схема биореактора для удаления тяжелых металлов из воды

1 – резервуар с водопроводной водой; 2 – микронасос; 3 – песчаный фильтр; 4 – приемник воды; 5 – пробоотборник на входе воды; 6 – пробоотборник на выходе воды из биореактора

Через колонку осуществляли проток воды из резервуара, периодически заполняемого водопроводной водой из воронежской городской сети питьевого водоснабжения, в которую вносили необходимые соединения Fe и Mn. С помощью микронасоса регулировали скорость потока. Концентрации металлов в резервуаре биореактора сопоставимы с обнаруживаемыми в ряде загрязняемых природных водных источников, используемых для питьевого водоснабжения [1, 3]. Для анализа содержания исследуемых загрязнителей проводили отбор проб воды на входе и на выходе из биореактора.

Спустя 1,5 – 2 недели с момента пуска потока водопроводной воды, в которую были внесены растворимые соединения железа и марганца

(комплексорганические соединения лимоннокислого аммонийного Fe(II) и сернокислый марганец) наблюдалось обильное осаждение оксидов металлов в отмытом песке песчаного фильтра и на погруженных предметных стеклах. Микроскопический анализ и цитохимические методы окраски Fe(III) и MnO₂ бактериальных обрастаниях на стеклах, экспонированных в песчаном фильтре [15], позволили сделать заключения о том, что оксиды локализованы преимущественно на поверхности бактериальных клеток. В составе биоценозов доминировали железобактерии, морфологически сходные с представителями родов «*Siderocapsa*», *Leptothrix*, реже – *Gallionella* и *Hyphomicrobium*. При электронно-микроскопическом анализе образцов было обнаружено значительное количество клеток *Spirochaeta*, на клетках которых имеются отложения окислов трехвалентного железа. В литературе эта группа не указывалась, как окисляющая железо.

Посев на твердую среду Тилера методом предельных разведений в чашках Петри показал, что численность одноклеточных железобактерий составляет 3 - 5·10⁵ клеток в смывах свежесаженных оксидов с 1 см³ песка из верхнего слоя колонки реактора. Сходный состав сообществ железобактерий был обнаружен нами, как упомянуто выше, в песчаных фильтрах городской станции водоочистки г. Воронежа. На поверхности среды отмечено развитие колоний различной морфологии: точечные, крупные, концентрические с ровным или бахромчатым краем. Среди выросших микроорганизмов доминируют нитчатые железобактерии рода *Leptothrix* и одноклеточные, покрытые капсулой, бактерий типа *Siderocapsa*. В 1 г крупного песка удается учесть около 5·10⁵ клеток микроорганизмов, окисляющих железо или марганец. В мелкозернистом песке численность микроорганизмов была несколько ниже - 3·10⁵ клеток в 1 г. Среди них преобладает род *Micromonospora* (актиномицеты). Они образуют округлые темно-окрашенные колонии с гофрированным краем. Бактерии типа *Siderocapsa* в орудненных чехлах образуют более крупные колонии неправильной формы (лопастные).

Таким образом, в проточной установке отмечено активное развитие видов железо- и марганцеокисляющих бактерий, которые доминируют и в составе биоценоза очистных сооружений.

Соотношения скоростей биологического и химического осаждения растворимых соединений Fe и Mn из воды приведены в табл. 3. Результаты опытов свидетельствуют о том, что в пределах исходных концентраций Mn(II) 3,3 – 4,6 мг/л химического окисления марганца в контрольных вариантах не происходило за период наблюдений в течение 9 суток. По химическому окислению цитрата Fe(II) получены аналогичные результаты (табл. 3), что согласуется с известными данными об устойчивости комплексорганических соединений железа (цитрата, гуматов, ЭДТА-комплексов) к химическому окислению при нейтральных и слабощелочных значениях pH. В опытном реакторе за счет природной ассоциации бактерий осаждение новообразованных оксидов Mn, MnO₂, приводило к снижению концентрации растворимого марганца ниже величин предельно допустимых концентраций по ГОСТ (ПДК). Следовательно, интенсификация процессов очистки питьевой воды от тяжелых металлов должна быть направлена на оптимизацию условий окислительной деятельности железоокисляющих бактерий.

Скорость протока воды составляла 3,0 мл/см³ песка/сут. Исходное содержание растворенного кислорода в воде на входе 7,4 – 7,5 мг/л; pH 7,0 – 7,1. В качестве источника Fe (II) использовали аммонийное лимоннокислое двухвалентное железо в указанных концентрациях (мг/л). В контрольные варианты вносили 1·10⁻² М NaN₃ (химическое окисление).

Таблица 3 Соотношение скоростей процессов биологического и химического окисления Fe (II) и Mn (II) в песчаном фильтре проточной лабораторной установки

Время от начала протока, сут	Биологические процессы				Химические процессы			
	Mn(II)		Fe(II)		Mn(II)		Fe(II)	
	На входе	На выходе	На входе	На выходе	На входе	На выходе	На входе	На выходе
0	3.3	3.25	2.0	2.0	3.3	3.25	2.0	2.0
4	3.3	0.1	2.0	0.75	3.3	3.15	2.0	2.05
6*	4.6	1.25	3.0	0.1	4.6	4.45	3.0	3.05
9*	4.6	0.01	3.0	0.15	4.6	4.55	3.0	2.95

*Анализы проводили на следующий день после увеличения концентрации металлов в резервуаре.

Заключение

Исследована динамика и механизм трансформации форм железа и марганца в грунтовых водах на примере водоподъемной станции (ВПС-8) г. Воронежа.

Выявлено, что марганец и железо поступают, главным образом, в грунтовые воды из донных отложений и воды водохранилища, что обусловлено микробиологической редукцией окисленного марганца в глубоководных зонах, характеризующихся восстановительным режимом.

Показана негативная роль Воронежского водохранилища, проявляющаяся в увеличении численности микроорганизмов при формировании бактериологического состава грунтовой воды, в частности железобактерий.

На основании результатов микроскопического анализа образцов из песчаных фильтров можно сделать вывод, что природная ассоциация богата разнообразными железозакисляющими микроорганизмами.

Полученные данные по распределению железоредуцирующих микроорганизмов в загрузке песчаных фильтров очистных сооружений позволили выявить механизм вторичного загрязнения железом воды, предназначенной для питьевого водоснабжения. Это дает возможность модифицировать технологический режим эксплуатации очистных сооружений и повысить эффективность их функционирования.

Песчаные биофильтры при правильном режиме эксплуатации способны интенсивно удалять растворимые соединения железа, марганца из воды за счет микробиологических окислительных и сорбционных процессов. Наибольшего внимания при совершенствовании работы существующих и разрабатываемых способов водоочистки городского водоснабжения заслуживает оптимизация кислородного режима функционирования биофильтров и строгий контроль за его соблюдением.

Список литературы

1. Грабович М.Ю., Дубинина Г.А., Букреева В.Ю. и др. Формирование микробиологического состава песчаных фильтров водоподъемных станций // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов ВГУ. 2008. Вып.10. С. 298–303.

2. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. 289 С.
3. Дубинина Г.А., Грабович М.Ю., Чурикова В.В. и др. Исследование микробиологической трансформации Mn и Fe в поверхностных и грунтовых водах водозаборных зон // Водные ресурсы. 1999. Т. 26. № 4. С. 484–491.
4. Жарков В.В., Бахитов Т.Б. Сорбенты для очистки воды // Экол. аспекты гидравл. М.: Всес. проект.-изыскат. и н.-и. об.-ние. «Союзводопроект». 1990. С. 40–43.
5. Саванина Я.В., Лебедева А.Ф., Гусев М.В. Способность цианобактерий и микроводорослей к накоплению тяжелых металлов и возможность их использования для очистки водной среды // Вестн. Моск. Ун-та., сер. 16, Биология. 1999. № 3. С. 3–12.
6. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. Тяжелые металлы во внешней среде. Минск.: Навука і Тэхніка, 1994. 288 С.
7. Bromfield S.M. Reduction of ferric compounds by soil bacteria // J. Gen. Microbiol. 1954. V. 11. P. 1–6.
8. Седлуха С.П., Софинская О.С. Биологические методы очистки подземных вод от железа // Вода и экология: проблемы и решения. 2001. № 1. С. 13–21.
9. Myers C.R., Nielson K.N. Bacterial Mn reduction and growth with MnO_2 as the sole electron acceptor // Science. 1988. V. 240. № 4857. P. 1319–1325.
10. Morgan J.J. and Stumm W. Analytical chemistry of aqueous manganese // Aquatic Water Work Association. 1965. V. 57. № 1. P. 107–119.
11. Tyler P.A., Marshall K.C. Pleomorphy in stalked, budding bacteria // J. Bacteriol. 1967. V. 93. P. 1132–1136.
12. Emerson D. Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH // In: Lovley DR, editor. Environmental metal-microbe interactions. Washington, DC: ASM Press. 2000. P. 31–52.
13. Менга М.Н. Железобактерии подземных вод в процессах обезжелезивания // Вестн. Бр. гос. Техн. Ун-та. Сер. Водохозяйственное стр-во и теплоэнергетика. 2006. № 2(38). С. 49–53.
14. Кузнецова Н.В., Пурдик Г.П., Большаков А.А. Сорбционно-мембранные методы в обезжелезивании природных вод // Самара: Актуал. экол.-экон. пробл. соврем. химии: Тез. докл. 9 Всерос. межвуз. науч.-практ. конф. студ. и мол. ученых, посвящ. 10-летию созд. студ. об.-ния. «СИМВОЛ», 1991. С. 45.
15. Корневский А.А., Каравайко Г.И. Сорбция молибдена биомассой микроорганизмов // Микробиология. 1993. Т. 62. № 4. С. 709–717.

Букреева Виктория Юрьевна – аспирант Воронежского государственного университета, Воронеж

Грабович Маргарита Юрьевна – д.б.н., Воронежского государственного университета, Воронеж

Епринцев Александр Трофимович – д.б.н., Воронежского государственного университета, Воронеж

Дубинина Галина Алексеевна – д.б.н., Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва

Bukreeva Viktoria Yu. – graduate student, Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: bukreeva-31@yandex.ru

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

Eprintcev Alexander T. – Doctor of Biology, Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh

Dubinina Galina A. – Doctor of Biology S. N. Winogradsky Institute of Microbiology of Russian Academy of Sciences



УДК 542.934:577.112.34

Состояние воды в клиноптилолитовом туфе, содержащем алифатическую аминокислоту

Черенкова Ю.А., Котова Д.Л., Крысанова Т.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 2.06.2009 г.

Аннотация

Исследованы гидратационные свойства природного образца клиноптилолитового туфа и образцов, насыщенных алифатическими аминокислотами (глицином, α -аланином и валином). Выявлено, что наличие аминокислоты в структурной матрице сорбента приводит к уменьшению способности к гидратации клиноптилолитового туфа, вызванному тем, что в ходе сорбции молекулы аминокислоты, заполняя полости и каналы, вытесняют воду из алюмокремнекислородного каркаса.

Ключевые слова: клиноптилолитовый туф, аминокислота, способность к гидратации, ИК-спектроскопия

The hydrate properties of the natural sample of the klynoptilolite tuff and the samples sated with aliphatic amino acids (glycine, α -alanine and valine) are investigated. It is revealed that amino acid presence in a structural matrix of a sorbent leads to reduction of ability to hydration of the klynoptilolite tuff, caused by that the amino acid molecules, filling cavities and channels, supersede water from the aluminiumsiliciumoxygen skeleton in a course sorption.

Key words: klynoptilolite tuff, amino acid, ability to hydration, IR-spectroscopy

Введение

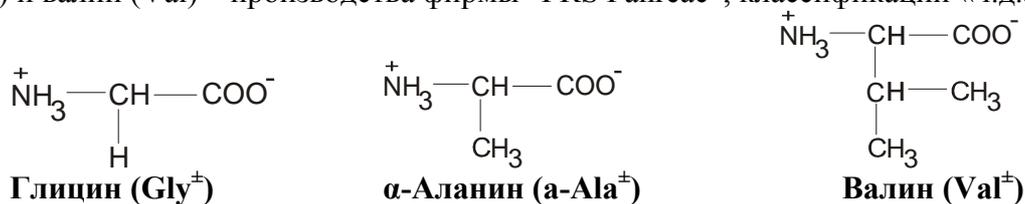
Клиноптилолитовые туфы - это микропористые каркасные алюмосиликаты кристаллической структуры, содержащие каналы и пустоты, занятые катионами и молекулами воды. Они обладают значительной свободой движения, что приводит к ионному обмену и обратимой дегидратации. В литературе [1-3] всесторонне рассматриваются представления о роли воды в структуре и свойствах цеолитовых туфов. Показано, что молекулы воды в клиноптилолитовом туфе играют роль своеобразного «стабилизатора» пористой структуры алюмосиликатного каркаса. Известно [4,5], что одним из факторов, контролирующим и определяющим избирательность сорбции компонентов является способность сорбентов к гидратации. Для понимания сущности процесса гидратации важным является исследование механизма взаимодействия цеолитовых туфов с водой и количественное определение кинетически неоднородного растворителя. Изменение структурных и энергетических характеристик растворителя в фазе сорбента при

сорбции аминокислот обусловлено появлением дополнительных полярных и гидрофобных групп. В настоящей работе представлены результаты изучения изменения гидратационных свойств клиноптилолитового туфа при сорбции алифатических аминокислот глицина (Gly), α -аланина (α -Ala) и валина (Val).

Эксперимент

В качестве сорбента был выбран клиноптилолитовый туф Люльинского месторождения. По данным рентгенофазового анализа исследуемый природный сорбент представляет собой многофазовую смесь, основной фазой которой является клиноптилолит химической формулы $\text{KNa}_2\text{Ca}_2(\text{Si}_{29}\text{Al}_7)\text{O}_{72}\cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (68%) [6]. Обменная емкость клиноптилолитового туфа, определенная по сумме вытесненных катионов ионом NH_4^+ , составляет величину 1,90 ммоль/г [7].

В работе использовали алифатические аминокислоты: глицин (Gly), α -аланин (α -Ala) и валин (Val) производства фирмы "PRS Panreac", классификации «ч.д.а.».



Термический анализ исследуемого образца клиноптилолитового туфа осуществляли на дериватографе системы «Паулик, Паулик и Эрдей». Для одной и той же навески образца одновременно регистрировали интегральную (ТГ) и дифференциальную (ДТГ) кривые изменения массы, и дифференциальную термическую кривую (ДТА) совместно с кривой изменения температуры (Т). Анализ проводили в температурном интервале 293 – 1073 К с постоянной скоростью нагрева. Чувствительность записи кривых ДТА и ДТГ составляла 1/3, (1/5) и 1/10, соответственно. В качестве эталона применяли прокаленный до 1373 К оксид алюминия [8]. Доверительный интервал в определении температур эффектов и изменения массы с надежностью 95% составил соответственно $\pm 2,5^\circ\text{C}$ и $\pm 0,5$ мг.

Сорбцию аминокислот на клиноптилолитовом туфе изучали при температуре 295 К в статических условиях методом переменных концентраций. Использовали фракцию сорбента с диаметром частиц 0,02 – 0,06 мм.

Изучение закономерности взаимодействия воды клиноптилолитовым туфом до и после сорбции аминокислоты проводили методом изопиестирования при температуре $295 \pm 1\text{K}$ в интервале активности паров воды (a_w) 0,110 – 0,990. Образцы сорбента приводили в изопиестическое равновесие с насыщенными растворами солей, для которых известна активность молекул воды в паре [9]. Время, в течение которого устанавливалось изопиестическое равновесие в системе вода – клиноптилолитовый туф, зависело от активности растворителя и составляло от 2 до 10 суток. Контроль над достижением равновесия и определение количества поглощенной воды осуществляли методом гравиметрии по изменению массы препарата.

В качестве контрольного метода использовали ИК-спектроскопию. ИК-спектры регистрировали на спектрометре "Specord 75-IR" в интервале частот 400-4000 cm^{-1} . Ошибка метода составляла 1-3%. Интерпретацию спектров осуществляли, используя данные литературы [10-12].

Обсуждение результатов

Методами дифференциального термического анализа и термогравиметрии установлено, что дегидратация природного минерала сопровождается на ДТА кривой двумя эндотермическими эффектами в области температур 333–563 К и 583–673 К. При этом на кривой изменения массы наблюдается две ступени. Согласно полученным данным процесс дегидратации клиноптилолитового туфа реализуется в две стадии, что свидетельствует о присутствии в природном сорбенте кинетически неоднородного растворителя. Установлено, что полное удаление воды (16,2%) из сорбента происходит без заметных изменений его кристаллической структуры. Следует отметить, что при нагревании образца до 1073 К на кривой ДТА экзотермического эффекта не обнаружено, что может быть связано с протеканием медленного процесса аморфизации цеолитовой породы. Полученные результаты подтверждают литературные данные [13] о высокой термической стойкости клиноптилолита, основного минерала исследуемого цеолитового туфа.

На рис.1 приведена изотерма взаимодействия молекул воды с природным образцом клиноптилолитового туфа, представляющая собой зависимость количества поглощенных молекул воды (Q) от активности растворителя (a_w). Изотерма имеет S-образный вид, что указывает на полимолекулярный характер сорбции растворителя. Ход сорбционного процесса для различных сорбентов, отвечающий подобным кривым, описан в работах [14,15]. В области средней активности воды на кривой отмечается плато. Увеличение относительного давления водяного пара приводит к росту количества поглощенной воды, что может быть связано с капиллярной конденсацией растворителя в переходных порах. При активности воды 0,990 цеолитовый туф сорбирует 5,72 ммоль воды на 1,00 г сорбента. Удельная поверхность ($S_{уд}$), определенная по изотерме паров воды, составила величину 107,9 м²/г.

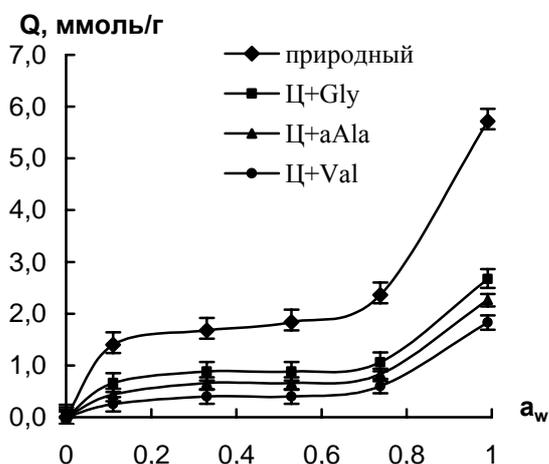


Рис.1 Изотермы поглощения молекул воды клиноптилолитовым туфом

Исследование ИК-спектра исходного образца клиноптилолитового туфа показало, что он характеризуется следующими полосами поглощения: 456, 574, 759, 1041 см⁻¹. Эти полосы относятся к колебаниям связей Si-O(Al) и Al-O(Si) в тетраэдрах, объединенных в алюмокремнекислородный каркас. Колебания связи Si-O(Al), обусловленные внутренними деформационными и антисимметричными валентными колебаниями, проявляются при 456 см⁻¹ и 1041 см⁻¹. Полоса поглощения при 759 см⁻¹ обусловлена симметричными валентными колебаниями

связи Si - O. Максимум поглощения при 574 см^{-1} относится к колебаниям цепочек алюмокремнекислородных тетраэдров. На ИК-спектре клиноптилолитового туфа в области $3800\text{-}3400 \text{ см}^{-1}$ регистрируется ряд четко выраженных полос при 3736 , 3612 и 3430 см^{-1} , отвечающих валентным колебаниям воды. Полоса поглощения при 3736 см^{-1} характеризует адсорбированные молекулы воды. Максимум поглощения при 3612 см^{-1} относится к валентным колебаниям ОН-групп, связанных с атомом Al в каркасе сорбента. Поглощение при 3430 см^{-1} характеризует колебания молекул воды с двумя и тремя водородными связями. Деформационные колебания молекул воды, входящих в состав природного туфа, наблюдаются при 1646 см^{-1} .

Отмечено изменение гидратационных характеристик природного минерала, содержащего аминокислоту. Полученные для образцов клиноптилолитового туфа, содержащих аминокислоты, изотермы сорбции паров воды сохраняют S-образную форму (рис.1), характерную для полимолекулярной адсорбции растворителя.

Внедрение аминокислоты вызывает уменьшение способности клиноптилолитового туфа к гидратации во всем исследуемом интервале a_w . Для сорбента, содержащего аминокислоту характерна меньшая зависимость величины сорбции от активности растворителя в области низкой и средней активности паров воды. Определено, что сорбция глицина, α -аланина и валина приводит к уменьшению количества поглощенной воды сорбентом в области высокой активности паров воды соответственно в 2,0; 2,5 и 3,2 раза. Это связано с тем, что в ходе сорбции молекулы аминокислоты, заполняя полости и каналы, вытесняют воду из сорбента. По сорбционной способности к молекулам воды образцы клиноптилолитового туфа располагаются в следующем ряду: исх.образец > к.т.+Gly > к.т.+ α -Ala > к.т.+Val, который совпадает с рядом гидрофобности аминокислот [16].

Экспериментальные данные позволяют сделать вывод, что при одном и том же количестве воды ($\text{ммоль}_w/\text{г}$) ее активность значительно различается для исходного сорбента и содержащего аминокислоту. При поглощении $1 \text{ ммоль H}_2\text{O}$ на грамм природного сорбента активность растворителя в паре составляет приблизительно величину 0,11, тогда как при поглощении того же количества воды одним граммом клиноптилолитового туфа, содержащего алифатическую аминокислоту, активность растворителя в паре приближается к величине предельного набухания, что обосновано перераспределением молекул воды при сорбции аминокислот.

Наличие в клиноптилолитовом туфе, содержащем аминокислоту, энергетически неравноценных центров гидратации (отрицательный заряд алюмокремнекислородного каркаса, гидрофобные и гидрофильные группы аминокислот) приводит к формированию в сорбенте структуры воды с неравноценными межмолекулярными связями. Сорбция аминокислот клиноптилолитовым туфом обуславливает изменение состояния центров гидратации и структуры растворителя. Присутствие аминокислоты приводит к смещению полос валентных колебаний воды, изменению их ширины и интенсивности. Наиболее чувствительными к модификации водородных связей являются полосы валентных колебаний групп ОН в области $3800\text{-}3000 \text{ см}^{-1}$. О перераспределении и образовании новых Н-связей в системе клиноптилолитовый туф-вода-аминокислота указывают дополнительные полосы поглощения в интервале $3700\text{-}2300 \text{ см}^{-1}$. Появление полос поглощения в области $2600\text{-}2420 \text{ см}^{-1}$ предполагает образование связи между молекулами H_2O и COO^- -группы аминокислот. В пользу образования ассоциатов «вода...вода» вблизи $-\text{COO}^- \dots \text{NH}_3^+$ свидетельствует максимум поглощения в диапазоне $3150\text{-}3100 \text{ см}^{-1}$. Наличие слабо ассоциированных молекул H_2O вблизи углеводородного радикала аминокислоты характеризуется появлением максимума в

области 3590-3440 см^{-1} . Относительное уширение полос поглощения в интервале 3680 - 3340 см^{-1} на фоне уменьшения количества воды в сорбенте, содержащем аминокислоту, свидетельствует об увеличении доли молекул H_2O с ослабленными водородными связями.

Заключение

Значительные различия в способности к гидратации природного клиноптилолитового туфа и содержащего аминокислоту обусловлены появлением энергетически неравноценных активных центров в матрице сорбента, а также образованием дополнительных связей в результате нековалентного взаимодействия в системе цеолитовый туф – аминокислота с участием молекул воды.

Список литературы

1. Челищев Н.Ф., Бернштейн Б.Г., Володин В.Ф. Цеолиты – новый тип минерального сырья. – М.: Недра, 1987. – 176 с.
2. Брек Д. Цеолитовые молекулярные сита. – М.: Изд-во “Мир”, 1976. – 760с.
3. Белицкий И.А., Габуда С.П. Новый взгляд на роль молекул воды в кристаллохимии цеолитов // Природные цеолиты: сб. науч. тр. симпозиума по исследованию физико-химических свойств природных цеолитов, Тбилиси, 29-31 окт. 1976 г. – Мецниереба, 1976. – С. 63-71.
4. Кац Б.М., Малиновский Е.К., Галицкая Н.Б. Равновесие и кинетика адсорбции паров воды винилпиридиновыми анионитами // Коллоид. журн. – 1986. – Т. 48, № 1. – С. 39 – 44.
5. Kisler J.M., Stevens G.W., O'Connor A.J. Mesoporous molecular sieves as adsorbents for bioseparations // 13th Intern. Zeolite Conf., Recent Res. Rep, 18-R-08, Montpellier, Groupe Français des Zéolithes, 2001. – P. 82-91.
6. Черенкова Ю.А., Котова Д.Л., До Тхи Лонг, Крысанова Т.А., Бекетов Б.Н., Братусь Е.А. Сорбционные и физико-химические свойства цеолита месторождения Приполярного Урала Югры // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т.6. Вып.6. Ч.4. – С.1455-1459.
7. Богданова В.И., Белицкий И.А., Предеина Л.М., Галай Г.И., Дробот И.В. Определение ионообменной емкости цеолитсодержащей породы по сумме вытесненных из нее обменных катионов // Инструкция № 25, Комитет РФ по геологии и использованию недр, НСОММИ, –Новосибирск, 1993. – 16 с.
8. Котова Д.Л., Селеменев В.Ф. Термический анализ ионообменных материалов – М.: Наука, 2002. – 156 с.
9. Киргинцев А.Н. Очерки о термодинамике водно-солевых систем – Новосибирск: Наука, 1976. – 200 с.
10. Тарасевич Ю.И., Овчаренко Ф.Д. Адсорбция на глинистых минералах. К.: Наукова думка, 1975. –350с.
11. Наканиси К. Инфракрасная спектроскопия и строение органических соединений. Москва: Мир, 1987. 188 с.
12. Lin Vien, Colthup N.B., Fateley W.G., Grasseli J.G. San Diego: Academic Press, Inc., 1991
13. Цицишвили Г.В. Статья о цеолитах // Журнал физической химии. –1972. –Т. 46, № 3. –С. 16-19.

14. Галабова И.М., Харалампиев Г.А., Петкова Л.Н. Адсорбция водяных паров на ионообменных формах Болгарского клиноптилолита // Природные цеолиты. Труды Советско-Болгарского симпозиума по исследованию физико-химических свойств природных цеолитов – 1979. – С. 89-96.

15. Цицишвили Г.В., Барнабишвили Д.Н., Гогодзе Н.И., Долидзе Л.Ш. Исследование сорбции паров воды, бензола и н-гексана на природных цеолитах // Природные цеолиты. Труды Советско-Болгарского симпозиума по исследованию физико-химических свойств природных цеолитов – 1979. – С. 251-256.

16. Тюнина Е.Ю., Баделин В.Г., Тарасова Г.Н. Использование молекулярных дескрипторов для оценки гидрофобности молекул кристаллических аминокислот и пептидов // Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация для нанотехнологий, техники и медицины: тез. докл. V Международной науч. конф, Иваново, 23-26 сент. 2008 г. – М., 2008. – С.239.

Черенкова Юлия Александровна – к.х.н., инженер кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732) 208-932

Котова Диана Липатьевна - д.х.н., проф. кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж

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

Cherenkova Julia A.- the engineer of department of analytical chemistry, the Voronezh State University, e-mail: Cher_Uly@mail.ru

Kotova Diana L - the professor of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh

Krysanova Tatyana A. - the lecturer of department of analytical chemistry, The Voronezh State University, Voronezh, e-mail: kris_SL_TN@mail.ru



УДК 628.543

Исследование закономерностей кинетики сорбции дибутилнафталинсульфоната натрия полиэлектролитами

Славинская Г.В., Ковалева О.В.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный архитектурно-строительный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 19.05.2009 г.

Аннотация

Исследована кинетика сорбции дибутилнафталинсульфоната натрия (некаля) анионитами разного типа в зависимости от природы противоиона, размера гранул, температуры. Рассчитаны константы скорости (k) сорбционного процесса. Показано, что лучшими кинетическими свойствами в отношении некаля обладают низкоосновные аниониты на основе сополимера стирола и дивинилбензола.

Ключевые слова: некаль, сорбция, аниониты, константа скорости сорбции

Kinetic of nekal sorption process of different type by anionits depending on the nature of negative ion the size of granules and temperature is investigated. Speed constants (k) of sorption process are calculated. It is shown that low base anionits on the basis of styrene copolymer and divinilbenzene possess the best kinetic properties concerning nekal.

Key words: nekal, sorption, anionits, speed constants of sorption process

Введение

Эффективность применения ионитов тем выше, чем больше скорость сорбции, поэтому при разработке способов очистки и разделения веществ сорбционными методами выявление кинетических закономерностей относится к важнейшему этапу работы.

В практических целях при одинаковых равновесных характеристиках ионообменных материалов выбирают такой ионообменник и такой режим процесса сорбции, которые обеспечивают максимально возможную рабочую сорбционную или ионообменную емкость и необходимую степень удаления примесей из очищаемой среды при высокой скорости потока, определяющей производительность адсорбера.

Указанные условия предполагают наличие хороших кинетических показателей реакции взаимодействия сорбента и сорбтива. Последние зависят как от химического состава и структуры ионита, так и от природы поглощаемого иона или

молекулы: размера частиц, знака и величины заряда, степени гидратированности и т.д. [1].

Быстрое поглощение сорбтива позволяет использовать адсорбер при высоких скоростях потока очищаемой среды. От этого зависят производительность оборудования и, следовательно, габариты фильтра. Кроме того, при хороших кинетических характеристиках можно предполагать образование острого сорбционного фронта, то есть минимальное его размывание по слою загрузки, что дает возможность использования невысокого слоя сорбента. Если сорбционный фронт сильно размывает, то это может быть причиной высокой доли неиспользованного слоя фильтрующей загрузки, что невыгодно как с экономических, так и с экологических позиций.

В данной работе предполагалось выявить тип анионита, который при хороших кинетических показателях обладает достаточно высокой сорбционной емкостью в отношении некаля, а также оценить характер влияния на этот процесс вида противоиона, гранулометрического состава сорбента и температуры среды.

Теоретическая часть

Кинетические характеристики сорбентов можно устанавливать разными способами. Наиболее корректным является изучение зависимости сорбции вещества от времени контакта раствора и твердой фазы в динамических условиях методом тонкого слоя. При этом в поступающем на фильтр растворе, вследствие короткого времени пребывания в слое поглотителя, содержание сорбтива почти не меняется, что дает основание относить полученные результаты именно к данной концентрации вещества в растворе. Однако из-за незначительной разницы содержания вещества в исходном растворе и фильтрате возникают большие ошибки при определении величины сорбции.

Можно эту величину найти, анализируя регенерат, однако в этом случае необходимы гарантии полной десорбции вещества из сорбента, что практически невозможно, если сорбтивом является органическое вещество, особенно с большой молекулярной массой. Причиной является стерическое сопротивление матрицы диффузии большого иона из твердой фазы, которое возрастает в регенерационном растворе в связи со сжатием гранул ионита.

Наиболее часто используется метод ограниченного объема, который заключается в том, что точные навески сорбента приводят в контакт с раствором вещества на определенное время, после чего фазы разделяют и анализируют раствор на содержание сорбтива. При этом нужно подобрать исходную концентрацию вещества, величину навески и объем раствора таким образом, чтобы в конце сорбционного процесса оставалось до 75 % поглощаемого компонента [2].

Эксперимент

По этой методике исследовалась кинетика сорбции некаля – додецилнафталинсульфоната натрия ($C_{18}H_{23}SO_3Na$ - молярная масса 342 г/моль), который является поверхностно-активным веществом из группы анионоактивных ПАВ со структурной формулой (рис. 1):

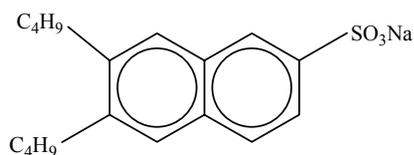


Рис. 1. Структурная формула некаля

В работе использованы образцы анионитов, полученные методами поликонденсации и полимеризации, содержащие фиксированные функциональные группы разной степени ионизации, в том числе высокоосновные: АВ-17-8 (гелевый) и АВ-17-2П (пористый); низкоосновный АД-41 с третичными аминогруппами; бифункциональный анионит ЭДЭ-10П, содержащий группы сильно- и слабодиссоциирующие; аниониты низкоосновные: АН -1 (на основе меламина с формальдегидом) и АН-31 (на основе полиэтиленполиаминов и эпихлоргидрина); высокоосновный анионит на стиролдивинильной основе АРА-2пГ-40, а также аниониты производства Великобритании – сильноосновный Purolite А400 и низкоосновный Purolite А100.

Определенные нами физико-химические характеристики этих ионитов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Физико-химические свойства анионитов

Марка анионита	Влагоемкость, В±0,02 г Н ₂ О/г абсолют. сух.		Обменная емкость, (±0,03) ммоль-экв/г абс. сух.		Доля низкоосновных групп, %	Коэффициент эквивалентной влагоемкости К ^{ЭКВ} _{вл} , ммоль Н ₂ О/ммоль-экв ПОЕ
	ОН ⁻ форма	Cl ⁻ форма	по NaCl	по HCl (ПОЕ)		
АВ-17-8	0,83	-	2,07	2,55	18,8	17,45
АВ-17-2П	3,00	2,85	1,53	3,16	51,6	55,65
Wofatit АД-41	1,40	1,59	0,58	8,14	92,9	9,73
ЭДЭ-10П	1,14	0,83	1,01	7,72	86,9	9,52
АРА-5П	1,93	-	1,69	2,09	19,1	51,08
АН-1	0,29	-	0	0,89	100,0	18,35
Purolite А100	0,42	1,21	0,34	4,83	93,0	19,35
Purolite А400	1,14	-	2,22	2,72	18,4	37,66

Из полученных данных следует, что указанные образцы анионитов не являются монофункциональными: в высокоосновных присутствует до ~ 20 % низкоосновных групп, в низкоосновных - до 15 % групп с высокой степенью ионизации. Влагосодержание низкоосновных образцов выше в солевой форме, анионитов высокоосновных - в гидроксидной, что согласуется с теоретическими положениями набухания полиэлектролитов [1]. При этом нет корреляции полной обменной емкости (ПОЕ) с влагосодержанием и эквивалентной влагоемкостью. Казалось бы, при большом количестве ионогенных групп, которые могут гидратироваться, сорбент должен содержать большое количество воды набухания, однако этого не наблюдается: иониты с самой большой обменной емкостью (ЭДЭ-

10П и Wofatit AD-41) характеризуются наименьшей влагоемкостью и величиной эквивалентного коэффициента влагоемкости $K_{\text{вл}}^{\text{ЭКВ}}$.

Разный гранулометрический состав фракций обеспечивался мокрым рассевом ионитов: $0,25 \div 0,50$; $0,63 \div 1,25$ и $1,25 \div 1,5$ мм, то есть средний радиус гранул принят равным $0,19$; $0,47$ и $0,69$ мм. Аниониты использовали в OH^- - и Cl^- - ионной формах. Для выявления температурной зависимости сорбции кинетические кривые получены при температурах: 283 , 294 и 308 К.

Эксперименты проводились в статических условиях при постоянном перемешивании с фиксированным числом колебаний платформы вибростола. Концентрацию некаля в исходном растворе и в фильтрате после разделения фаз определяли методом спектрофотометрии по градуировочным графикам, построенным по значениям оптической плотности при разных длинах волн, что давало возможность устанавливать концентрацию некаля без разбавления пробы в широком интервале концентраций. Кроме того, для анализа растворов с высокой концентрацией сорбтива использовали потенциометрический метод с применением ионоселективного в отношении АПАВ электрода марки «Вольта» (электрод сравнения - хлоридсеребряный, иономер марки «Эксперт-001»).

Аниониты после предварительного кондиционирования (троекратная попеременная обработка растворами $0,5$ моль/л HCl и NaOH) высушивали на воздухе. К навескам воздушносухого анионита массой $0,03 \pm 0,0002$ г. приливали 1 см^3 дистиллированной воды, закрывали колбы пробками и выдерживали в течение 1 ч для набухания. Набухшие навески заливали $50,0 \text{ см}^3$ раствора некаля с концентрацией $(5,89 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$ моль/л (200 - 203 мг/л), колбы помещали на столик встряхивающего аппарата. Каждая точка кинетической кривой получена, таким образом, из независимого эксперимента. Число колебаний платформы вибростола после предварительных экспериментов принято равным 190 в минуту. Время контакта фаз - от 15 мин до 4 -х часов при постоянном и еще 48 ч - при периодическом перемешивании.

Количество поглощенного некаля рассчитывали по разности концентраций (моль/дм³) исходного раствора (C_0) и фильтрата (C_i) с учетом влагосодержания воздушносухой навески анионита (B , массовая доля) по уравнению:
$$a = \frac{(C_0 - C_i) \cdot V}{g(1 - B)}$$
 (моль/г), где V – объем раствора, см³; g - навеска воздушно-сухого анионита, г.

Результаты и их обсуждение

Кинетические кривые сорбции некаля низкоосновным полимеризационным анионитом Purolite A100 в зависимости от вида противоиона и температуры представлены на рис. 2.

Из сопоставления кривых (рис. 2а и 2б) следует, что низкоосновный анионит Purolite A100 в Cl^- - форме показал бо`льшую сорбцию из раствора некаля: $0,45 \cdot 10^{-3}$ моль/г против сорбции некаля ионитом в OH^- -форме - всего $0,13 \cdot 10^{-3}$ моль/г. Кроме того, в обоих случаях повышение температуры приводит к возрастанию величины поглощения сорбтива. Однако роль температурного фактора более заметно выражена в случае взаимодействия некаля с менее органомемким OH^- - анионитом: поглощение при повышении температуры на 10 градусов (рис. 2а, кривые 2 и 3) возросло более чем в два раза (с $0,042 \cdot 10^{-3}$ до $0,095 \cdot 10^{-3}$ моль /г), а при сорбции на Cl^- - форме (рис. 2б, кривые 2 и 3) - всего на 50% (с $0,22 \cdot 10^{-3}$ до $0,29 \cdot 10^{-3}$ моль /г).

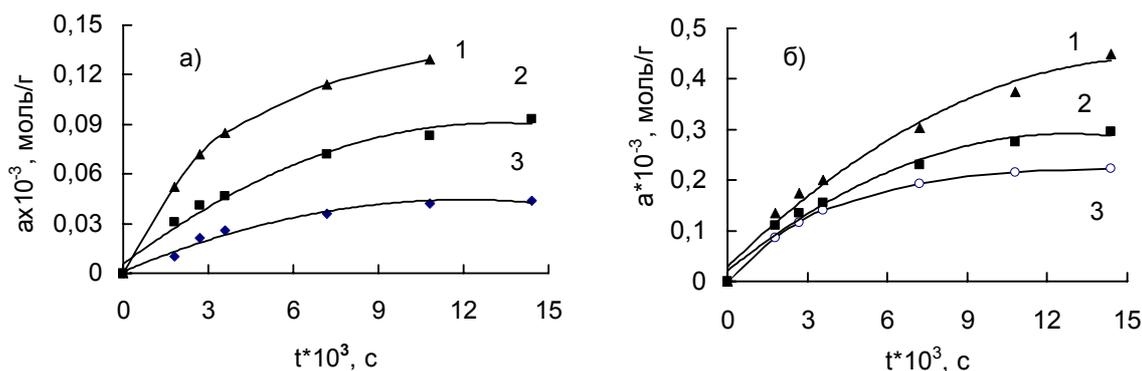


Рис. 2. Кинетические кривые сорбции некаля анионитом Purolite A100 в ОН- (а) и СГ- (б) - форме при температуре 308 (1), 294 (2) и 283 (3) К

Зависимость кинетики сорбции некаля от радиуса зерна сорбента исследована на примере анионитов: низкоосновного ЭДЭ-10П и высокоосновного АВ-17-2П (рис. 3).

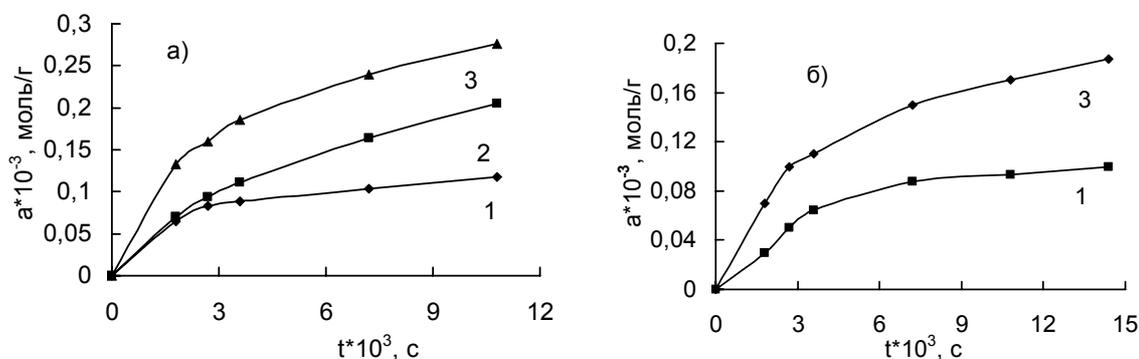


Рис. 3. Кинетические кривые сорбции некаля анионитами ЭДЭ-10П (а) и АВ-17-2П (б) в ОН-форме в зависимости от среднего радиуса зерна: 1- 0,69; 2 - 0,47; 3 - 0,19 мм

Независимо от типа анионита (рис. 3) сорбция уменьшается при увеличении размеров зерна, то есть вследствие уменьшения площади поверхности сорбента.

Для количественной характеристики кинетических свойств анионитов рассчитаны константы скорости (k) сорбционного процесса в разных вариантах экспериментов с разными марками анионитов.

Сорбционные процессы с участием твердой фазы относятся к гетерогенным реакциям. Для расчета значений k нужно определить порядок реакции и уравнение, по которому можно рассчитать этот параметр.

Обычно к реакциям первого порядка относят реакции мономолекулярные, а также бимолекулярные, но при условии, что концентрация одного из реагирующих веществ поддерживается постоянной [3]. В рассматриваемых системах концентрация ионогенных групп не изменяется. На этом основании можно допустить, что сорбция некаля анионитами описывается уравнением реакции первого порядка: $-\frac{dc}{dt} = kc$, или в решенном виде: $\ln c = \ln c_0 - kt$, где c_0 и c - концентрация вещества исходная и в момент времени t_i .

Оказалось, что построенная по экспериментальным данным зависимость $\ln c = f(t)$ линейна, то есть имеет место реакция первого порядка. Константа скорости

реакции k равна тангенсу угла наклона прямой $\ln c = f(t)$ к оси абсцисс [3] (рис. 4). При построении зависимости $c = f(\tau)$ использовали только те точки интегральной кривой $a = f(\tau)$, в которых остаточная концентрации некаля была не менее 75 % от исходной.

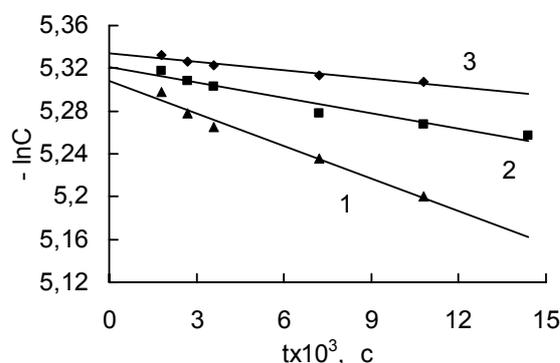


Рис. 4. Графическое нахождение константы скорости реакции сорбции некаля анионом Purolite A100 в OH-форме при разной температуре:
1 - 308; 2 - 294; 3 - 283 К

Найденные значения константы скорости сорбции некаля анионитами разного типа в OH⁻ - и Cl⁻ - форме сведены в табл. 2.

Таблица 2. Константы скорости сорбции некаля анионитами

Марка ионита	Ионная форма	$\Gamma_{\text{сред.}}$, мм	Сорбция* некаля при 294 К, (± 5 мг/г)	$k \cdot 10^{-5}, \text{с}^{-1}$		
				Температура, К		
				283	294	308
AB-17-2П	OH ⁻	0,69	60,0	0,4	0,8	1,2
AB-17-2П	Cl ⁻	0,69	55,0	0,5	0,7	1,4
Wofatit AD-41	OH ⁻	0,49	340,0	5,4	6,3	8,8
Wofatit AD-41	Cl ⁻	0,49	360,0	6,1	7,2	10,1
ЭДЭ-10П	OH ⁻	0,19	240,0	-	3,3	9,8
Purolite A100	OH ⁻	0,19	210,0	0,6	0,8	1,2
Purolite A100	Cl ⁻	0,19	360,0	1,2	1,9	3,1
АН-31	OH ⁻	0,69	50,0	-	1,2	2,8

* Концентрация раствора некаля $C_0 = 5,85 \cdot 10^{-4}$ моль/л

Из данных табл. 2 следует, что значения k укладываются в интервал $10^{-4} \div 10^{-6}$ для анионитов в OH⁻ - и Cl⁻ - формах. С наибольшей интенсивностью сорбционный процесс протекает на низкоосновном анионите Wofatit AD-41 независимо от вида противоиона начального состояния. Абсолютные значения константы скорости реакции для разных марок анионитов изменяются, однако характер зависимостей сохраняется: увеличение температуры в указанном интервале температур приводит к росту константы скорости реакции в 1,5÷3 раза.

Влияние гранулометрического состава на константу скорости отражает рис. 5: она возрастает с увеличением степени дисперсности анионита.

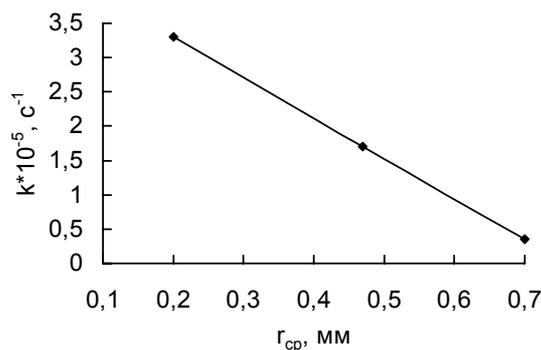


Рис. 5. Зависимость константы скорости сорбции некаля анионитом ЭДЭ-10П в OH^- - форме от среднего радиуса гранулы. ($C_0 = 5,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

Аналогичный характер зависимости $k = f(r_{\text{ср}})$ обнаружен в реакциях сорбции некаля высокоосновным анионитом АВ-17-2П в OH^- - и Cl^- - форме с размером гранул 0,69 и 0,19 мм.

Кроме сорбции некаля анионитами исследовано взаимодействие данного сорбтива с активными углями, свойства которых даны в табл. 3.

Таблица 3. Характеристика активных углей

Марка угля	Размер частиц, мм	Суммарный объем пор, $\text{см}^3/\text{г}$	Адсорбционная емкость по йоду, %	Сорбция некаля, мг/г	Константа скорости сорбции, $\text{k} \cdot 10^{-6}, \text{с}^{-1}$
ВСК*	$1,0 \pm 2,0$	$> 0,60$	> 80	20,0	1,0
Агросорб-1*	$< 0,1$	$> 0,72$	> 80	74,0	7,6
Энтеросорбент	$1,0 \pm 1,5$	-	-	70,0	8,6

* Образцы углей любезно предоставлены проф. В.А. Мухиным (ЭНПО «Неорганика», г. Электросталь)

Кинетические кривые сорбции некаля указанными активными углями из раствора с концентрацией $5,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л представлены на рис. 6, а найденные значение константы скорости сорбции некаля приведены в последней графе табл. 3.

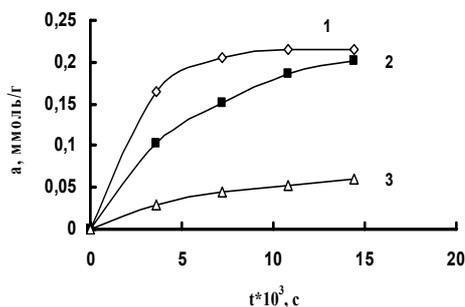


Рис. 6. Кинетические кривые сорбции некаля активными углями:
1. агросорб-1; 2. энтеросорбент; 3. ВСК-3.

Из приведенных данных следует, что на активных углях сорбция малоэффективна и протекает с меньшей скоростью, чем на синтетических полиэлектролитах.

Заключение

Исследованные аниониты, независимо от типа матрицы, способа синтеза, величины полной обменной емкости, природы противоиона поглощают некаль, но с сильно различающимися константами скорости процесса и величиной сорбции. Последняя увеличивается с повышением температуры, уменьшением размера зерна и с переводом низкоосновных анионитов в СГ⁻, высокоосновных - в ОН⁻ форму. Максимальной селективностью к некалю обладают аниониты с высоким содержанием функциональных групп. Установлено, что сорбционная способность анионитов в отношении некаля не всегда коррелирует с влагоемкостью набухшего образца.

Список литературы

1. Гельферих Ф. Иониты. М.: ИИЛ, 1962. 490 с.
2. Феноменологическая кинетика сорбции органических веществ ионитами с учетом влияния стерического фактора и внешнего массопереноса / Г.А. Чикин, В.А. Кузьминых, Ю.Д. Чупраков и др. // Теория и практика сорбционных процессов. Межвуз. сб. науч. тр. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та. 1985. Вып. 17. С. 13-20.
3. Практикум по физической химии / Под. ред. И.В. Кудряшова. М.: Высш. шк., 1986. 495 с.

Славинская Галина Владимировна - д.х.н., профессор кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета. Тел. (4732)71-76-17

Ковалева Ольга Валерьевна - аспирантка кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, тел. (4732)71-76-17

Slavinskaya Galina V. - doctor of chemical sciences, professor of chemistry department of Voronezh State University of Architecture and Civil Engineering, e-mail: slavgv@rambler.ru

Kovalevva Olga V. - post graduate of the chair of chemistry department of Voronezh State University of Architecture and Civil Engineering



УДК 543.54:547.97

ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины

Дейнека Л.А., Шапошник Е.И., Гостищев Д.А.,
Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н.

Белгородский государственный университет, Белгород

Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 23.03.2009 г.

Аннотация

В работе хроматографическим и спектрофотометрическим методами исследовано количественное и качественное накопление антоцианов в плодах семи сортов черной смородины в условиях г. Белгорода. Показано, что антоциановый состав плодов отличается качественным постоянством. Тонкую дифференциацию плодов предложено осуществлять по активности ферментов метаболизма флавоноидов.

Ключевые слова: антоцианы, *Ribes nigrum*, ВЭЖХ

The paper is devoted to investigation of anthocyanins accumulation in fruits of seven black currant varieties harvested in Belgorod by means of spectrophotometric and chromatographic methods. The type of the anthocyanins composition seemed to be qualitatively rather constant. A fine differentiation of the varieties is proposed to perform taking into account enzyme of flavonoid pathway biosynthesis activity.

Key words: anthocyanins, *Ribes nigrum*, HPLC

Введение

Черная смородина в настоящее время относится к важным садовым растениям. Родиной *Ribes nigrum* считается центральная и северная Европа [1] а также северная Азия – растения этого региона иногда выделяют в отдельный подвид - *Ribes nigrum* var. *sibiricum* или даже вид - *Ribes cyathiforme*. Популярность этого растения не случайна – во время второй мировой войны в Великобритании источники аскорбиновой кислоты, такие как апельсины, оказались труднодоступными, поэтому правительство стимулировало разведение черной смородины, плоды которой отличаются высоким накоплением этого витамина. С 1942 года практически весь урожай черной смородины перерабатывался на сок для

бесплатного распространения детям (<http://en.wikipedia.org/wiki/Blackcurrant>). Впрочем, первые упоминания о смородине в медицинских трудах датируются XV веком, а на Руси черная смородина известна с XI века [2].

Смородина входит в семейство *Grossulariaceae* (крыжовниковые) в качестве единственного рода, хотя иногда в отдельный род выделяют крыжовник (*Grossularia*). Известно более 150 видов *Ribes*, распространенных в умеренно теплых и субтропических областях северного полушария, а также в горных районах Центральной и Южной Америки до огненной Земли [3]. Это растения, существенно различающиеся по росту, форме листьев, окраске цветков и плодов. Но в каждом регионе России население хорошо знает вкусные ягоды местных видов смородины с региональными названиями: кислица, алданский виноград, моховка, таранушка, поречка [1].

Особое внимание к черной смородине в последнее время связано с обнаружением благоприятного воздействия антоцианов плодов этого растения на зрительный аппарат человека, особенно для снятия утомления от длительной работы у дисплеев современных компьютеров [4]. Поэтому неудивительно, что исследованиям, связанным с антоцианами плодов черной смородины, например, только в журнале «Journal of Agricultural and Food Chemistry» посвящено более 15 статей. Это примечательно, поскольку информацию об антоцианах плодов других видов смородин обнаружить в научной литературе довольно проблематично.

Данная работа посвящена определению антоцианов плодов некоторых сортов черной смородины и некоторых других видов смородины, выращенных в Ботаническом саду Белгородского государственного университета.

Эксперимент

Плоды черной смородины собирали в Ботаническом саду Белгородского университета в сезоне 2008 г. Антоцианы из плодов экстрагировали 0,1 М раствором соляной кислоты до обесцвечивания нерастворимого остатка.

Спектрофотометрическое определение суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид выполняли по методике [5].

Для гидролиза экстракт смешивали с 20 %-ным раствором серной кислоты в соотношении 1:1 и выдерживали на кипящей водяной бане до 45 мин.

Перед хроматографическим определением антоцианы очищали от сопутствующих веществ, на патронах ДИАПАК C18.

Для обращено-фазовой ВЭЖХ использовали хроматографическую систему, составленную из насоса высокого давления Beckman 110B, крана дозатора Rheodyne 7100 с петлей объемом 20 мкл, детектора LC/9563 Nicolet, длина волны детектирования 520 нм. Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП Мультихром 1.5 (Ampersand Ltd. 2005). Хроматографические условия: колонка 250×4 мм, Диасфер-110-C18, 5 мкм; подвижные фазы системы “ацетонитрил – ацетон”, скорость подачи элюента 1 мл/мин.

Спектрофотометрические исследования выполняли в кварцевых кюветах с использованием фотоколориметра КФК-3-01.

Результаты и их обсуждение

Известно, что накопление биологически активных соединений в различных частях растений данного вида может зависеть от многих факторов, включающих

сорт, степень созревания, условия выращивания и т.д. В таких случаях количественному определению соединений предшествует установление их строения. Анализ результатов определения антоцианов во всех известных публикациях в научной печати показал, что набор четырех главных компонент – 3-глюкозидов и 3-рутинозидов дельфинидина и цианидина, - оказывается неизменным для плодов всех сортов *R. nigrum* с черной окраской, вне зависимости от сорта и региона выращивания. Следовательно, генетически детерминированное подавление синтеза метилтрансфераз, приводящих к появлению в антоциановых комплексах производных пеонида (в цианидиновом ряду) или мальвида и петунида (в дельфинидиновом ряду) [6], является важной биохимической характеристикой черной смородины. Кстати гидроксирование кольца В заканчивается на дигидрокверцетине (предшественнике цианидина) и не синтезируется дигидромирицетин (предшественник дельфинидина) в доступных нам видах смородин с красными плодами [7]. Обнаружение в некоторых случаях в плодах черной смородины небольшого количества производных петунида и пеонида [8] лишь подтверждает этот вывод.

Хроматографический профиль антоцианового комплекса плодов черной смородины также оказался практически неизменным во всех опубликованных работах, несмотря на то, что использовались различные стационарные обращенные фазы и различные элюенты как в изократическом, так и в градиентном исполнении. Времена удерживания увеличивались в ряду антоцианов:

$$t_R(\text{Dp-3-Glu}) < t_R(\text{Dp-3-Rut}) < t_R(\text{Cy-3-Glu}) < t_R(\text{Cy-3-Rut}),$$

где Dp – дельфинидин; Cy – цианидин; Glu – глюкозид; Rut – рутинозид.

По указанным выше причинам возможен отказ от использования труднодоступных и дорогостоящих технологий (масс- или ЯМР-спектроскопии) для подтверждения строения компонентов полученных нами экстрактов. Тем более что новая технология анализа относительного удерживания [9] позволяет воспользоваться обобщенными характеристиками относительного удерживания, в меньшей степени зависящими от свойств стационарных обращенных фаз для данной элюентной системы при изократическом элюировании. Так на рис.1 представлены зависимости удерживания 3-рутинозидов относительно 3-глюкозидов для двух антоцианидинов: цианидина и дельфинидина, - для элюентов системы «вода – ацетонитрил – 10 об. % муравьиной кислоты».

При этом общее для производных цианидина и дельфинидина уравнение

$$\lg k(X-3-Rut) = 1.122 \cdot \lg k(X-3-Glu) + 0.050$$

оказывается справедливым для трех различных марок стационарных фаз четырех хроматографических колонок, и свидетельствует о том, что в разумных составах подвижных фаз глюкозиды будут элюироваться до рутинозидов. Также очевидно, что в условиях обращено-фазовой хроматографии более гидроксированные производные дельфинидина должны элюироваться раньше аналогичных производных цианидина, а в «быстрых» элюентах различие в удерживании глюкозидов и рутинозидов может быть недостаточным для их разделения.

На хроматограммах экстрактов плодов всех исследованных в работе сортов черной смородины были обнаружены четыре основных пика, идентифицируемые как 3-рутинозиды и 3-глюкозиды цианидина и дельфинидина (рис.2).

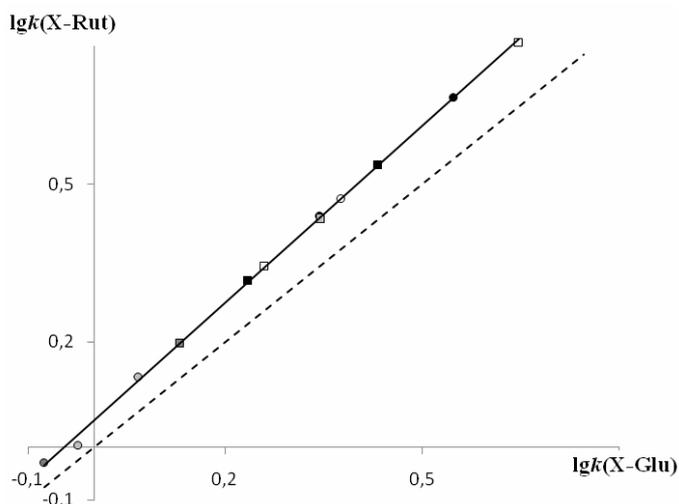


Рис.1. Удерживание 3-рутинозидов относительно 3-глюкозидов двух антоцианидинов

○ - X = Dp; □ - X = Cy; различная заливка соответствует различным стационарным фазам – черная и белая – Диасфер-110-C18 (колонки 250×4 и 150×4 мм); темно-серая – Ultrasphere ODS (колонка 250×4.6 мм); светло-серая – Reprosil-pur C18AQ (колонка 250×4 мм)

Предложенное на рис.2 отнесение было подтверждено частичным гидролизом экстракта (рис.3). В исходных экстрактах доля 3-рутинозидов значительно выше доли 3-глюкозидов, но при отщеплении рамнозильного радикала 3-рутинозиды превращаются в 3-глюкозиды, поэтому уже через 5 мин кипячения концентрации 3-рутинозидов и 3-глюкозидов практически выравниваются, а после 20 мин остается лишь небольшое количество 3-рутинозидов (рис.3).

Образующиеся при этом агликаны удерживаются сильнее, поэтому для контроля их образования следует использовать более быстрые элюенты, в которых уже не разделяются 3-глюкозиды и 3-рутинозиды (рис.4).

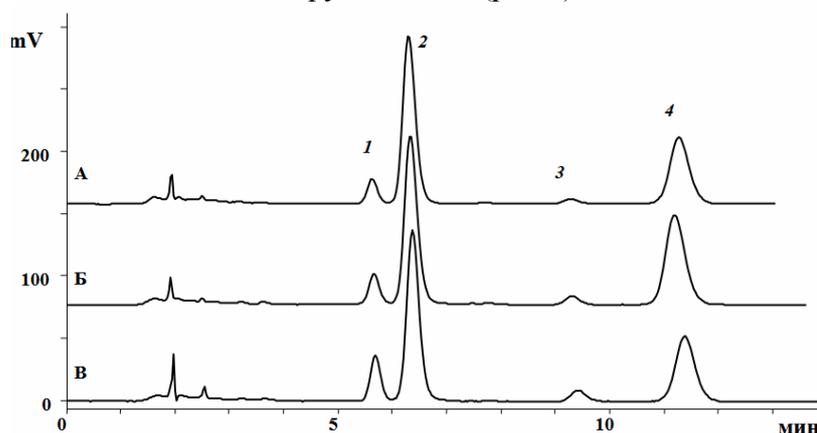


Рис.2. Разделение антоцианов плодов черной смородины
Сорта: А – «Орловский вальс»; Б – «Зуша»; В – «Белорусская сладкая».

1 – Dp-3-Glu; 2 – Dp-3-Rut; 3 – Cy-3-Glu; 4 – Cy-3-Rut.

Колонка 250×4 мм, Диасфер-110-C18, 5 мкм, Подвижная фаза 10 об.% ацетонитрила и 10 об % муравьиной кислоты в воде, 1 мл/мин. Детектор УФ: 520 нм

Принадлежность пика 6 на рис.4 цианидину была подтверждена сопоставлением с удерживанием цианидина, полученного восстановлением

кверцетина цинковой пылью в солянокислом растворе. Соответствие пика 5 дельфинидину подтверждено спектрофотометрически – по смещению максимума абсорбции при добавлении $AlCl_3$ [10].

При отсутствии труднодоступных стандартных (четырёх) соединений, когда абсолютная точность определения лишена смысла, можно воспользоваться иным подходом, который и применяли в настоящей работе. По этому подходу спектрофотометрически [5] определяли общее содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид, а молярное соотношение между индивидуальными антоцианами оценивали по соотношению площадей соответствующих пиков. Последнее в целом оправдано при использовании изократического элюирования, но при часто используемом градиентном элюировании следует учитывать, что последовательные пики элюируются в подвижной фазе с различной концентрацией органического модификатора. Но при изменении концентрации органического модификатора изменяется и положение максимума абсорбции, и коэффициенты молярного погашения (рис.5).

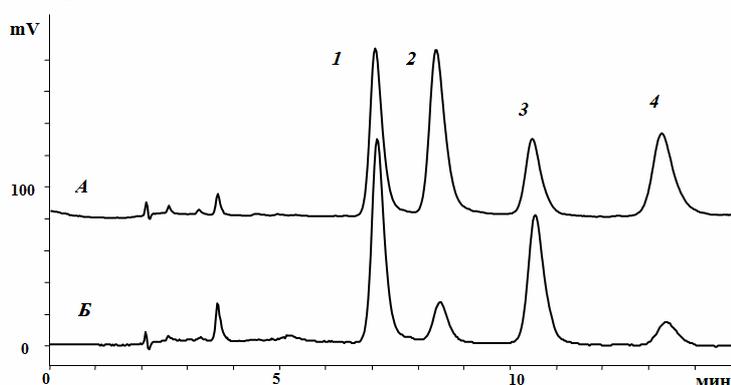


Рис.3. Разделение продуктов частичного гидролиза антоцианов плодов черной смородины

Время гидролиза: А – 5 мин, В – 30 мин. Колонка 250×4 мм, Reprosil-pur-C18AQ, 5 мкм, Подвижная фаза 10 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде, 1 мл/мин. Детектор УФ: 520 нм. 1 – Dp-3-Glu; 2 – Dp-3-Rut; 3 – Cy-3-Glu; 4 – Cy-3-Rut

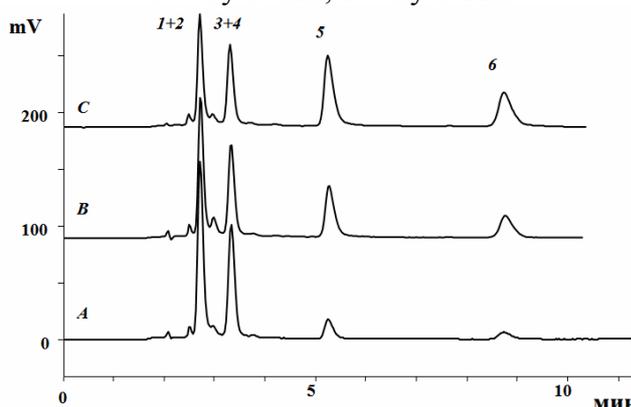


Рис.4. Разделение продуктов частичного гидролиза антоцианов плодов черной смородины

Время гидролиза: А – 5 мин, В – 20 мин, С - 30 мин. Колонка 250×4 мм, Reprosil-pur-C18AQ, 5 мкм, Подвижная фаза 17 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде, 1 мл/мин. Детектор УФ: 520 нм. 1 – Dp-3-Glu; 2 – Dp-3-Rut; 3 – Cy-3-Glu; 4 – Cy-3-Rut; 5 – Dp; 6 – Cy

Таким образом, при градиентном элюировании градуировка по каждому из компонентов принципиально необходима, хотя на рис.5 присутствует точка, напоминающая изобестическую (510 нм), при которой коэффициент экстинкции не изменяется с изменением состава растворителя.

Для плодов 7 сортов черной смородины урожая 2008 года уровень накопления антоцианов заметно различается. Наивысшее накопление антоцианов отличает сорта «Лентяй» и «Грация», а в плодах сорта «Бинар» этих соединений найдено вдвое меньше. При этом для всех исследованных сортов высока активность ферментов, гидроксилирующих кольцо В флавонолов и ферментов, синтезирующих рутинозиды. Впрочем, самая низкая активность флавонол-гидроксидаз сопряжена с наименьшим суммарным накоплением антоцианов (для сорта «Бинар»).

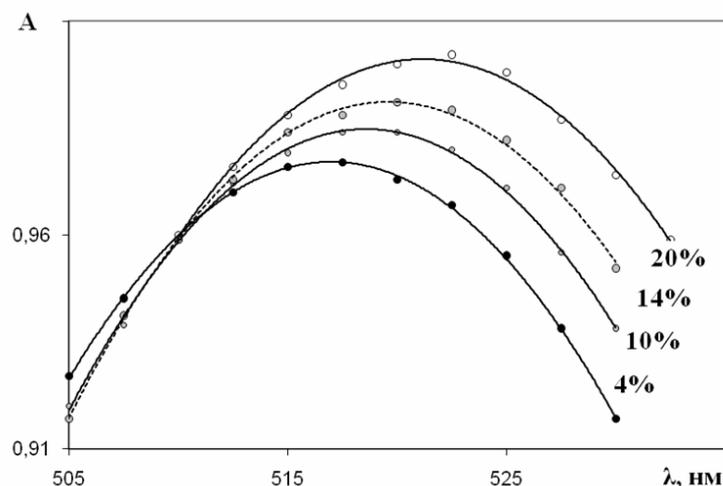


Рис.5. Изменение спектров экстракта плодов черной смородины в водных растворах с 10 об. % муравьиной кислоты и с различным содержанием ацетонитрила

Таблица 1. Антоцианы плодов черной смородины ботанического сада БелГУ

№	Сорт	Антоцианы, моль %, ± 1.0						мг* / 100 г
		Dp3G	Dp3R	Cy3G	Cy3R	Dp	Rut	
1	Белорусская сладкая	11.4	52.3	4.8	31.5	63.7	83.8	251 \pm 18
2	Орловский вальс	6.8	56.8	2.1	34.3	63.5	91.1	249 \pm 5
3	Элевеста	14.0	49.0	5.1	31.9	63.0	80.9	301 \pm 22
4	Зуша	7.1	50.5	2.9	39.5	57.7	90.0	324 \pm 1
5	Лентяй	5.4	51.0	2.0	41.6	56.4	92.6	341 \pm 18
6	Грация	5.8	50.3	2.6	41.2	56.2	91.5	344 \pm 22
7	Бинар	9.2	43.3	5.1	42.4	52.5	85.7	154 \pm 19

* - в пересчете на цианидин-3-глюкозид.

В таблице приведены два параметра, первый из которых оценивает активность флавонол-гидроксилаз (как суммарная доля производных более гидроксилированного антоцианидина – дельфинидина, *Dp*), а второй – активность ферментов, отвечающих за присоединение рамнозы к глюкозидному радикалу обоих антоцианидин-3-глюкозидов, *R* – сумма долей 3-рутинозидов.

Уровень накопления антоцианов в плодах черной смородины лучших в этом отношении из исследованных сортов заметно выше, чем в сортах селекции британских садоводов [11], но уступает показателям, достигнутым литовскими

специалистами [12]. Возможно, что это является следствием климатических условий выращивания черной смородины, поскольку в разные годы при различных погодных условиях выращивания этой культуры в Белгороде нами были получены различные результаты, в том числе и не превышающие 200 мг на 100 г свежих плодов. Но при этом различия в антоциановом составе оказываются заметно меньше (табл.2).

Таблица 2. Антоцианы плодов черной смородины некоторых стран

№	Страна	Антоцианы, моль %, ± 1.0					
		Dp3G	Dp3R	Cy3G	Cy3R	Dp	Rut
1	Литва [12]	11.24	33.74	8.4	44.14	44.98	77.88
2	Великобритания [11]	9.89	36.90	6.17	47.04	46.79	83.94
3		12.44	44.80	5.45	37.31	57.23	82.11
4		10.02	37.73	6.44	45.81	47.74	83.54
5		9.84	41.12	5.87	40.39	53.59	84.14
6		9.35	41.12	5.87	43.66	50.47	84.78
7	выжимки [13]:	15.8	46.2	4.5	27.1	62.0	73.3
8	выжимки [13]:	16.9	49.4	4.3	27.4	66.3	76.8
9	Япония [4]	14.78	50.11	4.35	30.76	64.89	80.87
10	Норвегия [14]	14.0	36.6	7.1	40.2	50.6	76.8

Заключение

Таким образом, видовой состав антоцианового комплекса плодов черной смородины отличается постоянством: основные компоненты дельфинидин-3-глюкозид, цианидин-3-рутинозид, цианидин-3-глюкозид и цианидин-3-рутинозид остаются главными компонентами вне зависимости от сорта и условий выращивания. Некоторые вариации в соотношении между этими компонентами могут быть учтены введением двух критериев, основанных на активности ферментов цепи метаболизма флавоноидов.

Список литературы

1. Якушина Э.И., Куклина А.Г. Кустарники с чудесными плодами. М.: Московский рабочий. -1994. – С.26-42.
2. Жидехина Т. Черная смородина с зелеными ягодами // Наука и жизнь. – 2007. - №8. – С.94-95.
3. Цвелев Н.Н. Семейство крыжовниковые (*Grossulariaceae*). / Жизнь растений. В шести томах. Главный редактор академик А.Л. Тахтаджян. Том пятый. Часть вторая. М.: Просвещение. – 1981. - С.169.
4. Nakaishi H., Matsumoto H., Tominaga S., Hirayama M. Effect of black currant anthocyaniside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans // Altern. Med. Rev. – 2000. – V.5. – P.553-562.
5. Giusti M.M., Wrolstad R.E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy // Cur. Prot. Food Anal. Chem. – 2001. - F1.2.1-F1.2.13
6. Дейнека Л.А., Литвин Ю.Ю., Дейнека В.И. Критерии для классификации винограда по антоциановому комплексу плодов // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. - 2008. - №7(47). Вып.7. - С.71-78.

7. Сорокопудов В.Н., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Шапошник Е.И. Сопоставление антоцианового состава плодов различных видов смородины // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы II Всероссийской конференции. 21-22 апреля 2005 г. / Под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. Барнаул: Изд-во Алт.ун-та, 2005. - Книга I. С.300-302.

8. Slimestad R., Solheim H. Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L.) // J. Agric. Food Chem. – 2002. – V.50. – P.328-3231.

9. 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.

10. Harborne J.B. Spectral methods of characterizing anthocyanins // Biochem J. – 1958. – V.70. P.22-28.

11. Bordonaba J.G., Terry L.A. Biochemical Profiling and Chemometric Analysis of Seventeen UK-Grown Black Currant Cultivars // J. Agric. Food Chem. – 2008. – V.56. – P.7422–7430.

12. Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutiene I., Duchovskis P., Bobinas C. Changes in biologically active constituents during ripening in black currants // J. Fruit Ornament Plant Res. – 2006. – V.14. – P. 237-246.

13. Kapasakalidis P.G., Rastall R.A., Gordon M.H. Extraction of Polyphenols from Processed Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Residues // J. Agric. Food Chem. – 2006. – V.54 – P. 4016-4021

14. Slimestad R., Solheim H. Anthocyanins from Black Currants (*Ribes nigrum* L.) // J. Agric. Food Chem. – 2002. – V.50. – P. 3228-3231.

Дейнека Людмила Александровна – к.х.н., доцент Белгородского государственного университета, Белгород, тел. (4722) 301159

Шапошник Елена Ивановна – аспирант биолого-химического факультета Белгородского государственного университета, Белгород

Гостищев Игорь Александрович – студент биолого-химического факультета Белгородского государственного университета, Белгород

Дейнека Виктор Иванович – д.х.н., доцент Белгородского государственного университета, Белгород, тел. (4722) 301159

Сорокопудов Владимир Николаевич – д.с.-х.н., профессор Белгородского государственного университета, Белгород, тел. (4722) 301101

Селеменев Владимир Федорович - д.х.н, проф., зав. кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 208362

Deineka Ludmila A. - Ph.D.(Chemistry), Associate professor of Belgorod State University, e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Shaposhnik Elena I. - post-graduate of Biological-Chemical Department of Belgorod State University

Gostishchev Igor A. – Student of Biological-Chemical Department of Belgorod State University

Deineka Viktor I. - Dr.Sci.(Chemistry), Associate professor of Belgorod State University

Sorokopudov Vladimir N. – Dr.Sci.(agriculture), Professor of Belgorod State University, e-mail: sorokopudov@bsu.edu.ru

Selemenev Vladimir F. – Dr.Sci. (Chemistry) professor of Voronezh State University, Voronezh, e-mail: common@anch.vsu.ru



УДК 544.726

Влияние синтетических и природных ингибиторов на физико-химические свойства глюкоамилазы

Ковалева Т.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Макарова Е.Л., Гладнева А.В.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н.Бурденко, Воронеж

Поступила в редакцию 3.02.2009 г.

Аннотация

Исследовано воздействие различных четвертичных производных дигидрохинолина без заместителей (ЧСД-1), с группой CH_3 (ЧСД-2), O-CH_3 (ЧСД-3), $\text{O-C}_2\text{H}_5$ (ЧСД-4) на каталитическую активность глюкоамилазы.

Установлено, что наибольшей ингибирующей активностью обладают ЧСД-2, ЧСД-1(Cl). Показано, что модификация четвертичных солей дигидрохинолина различными заместителями приводит к изменению взаимодействия синтетического ингибитора как с активным центром фермента, так и с другими группами полипептидной цепи.

Инкубирование молекулы энзима токсином Т-2 сопровождается возникновением многочисленных гидрофобных взаимодействий, приводящих к изменению третичной структуры глюкоамилазы, ответственной за катализ.

Ключевые слова: глюкоамилаза, активность, ингибиторы

We investigated effect of synthetic and natural inhibitors on activity of glucose amylase. It has been discovered that the high inhibitor activity is characteristic for sulfate and salicylate of dihydroxylnolina and perchlorate of dihydroxylnolin. Are shown, change of activity of enzyme in the presence of various inhibitors is not identical that is connected with presence of various assistants - radicals

By methods of Ultra Red spectroscopy we established that during incubation of enzyme with salt of dihydroxylnolin intra-salt bonds between COOH- groups of enzyme are produced.

Key words: Glucose amylase, activity, inhibitors

Введение

В последние годы особое внимание уделяют амилазам, широко распространенным в природе, физико-химические свойства которых были изучены на ранних стадиях развития энзимологии [1,2].

Повышенный интерес к амилазам обусловлен их применением в медицине, тонком органическом синтезе, пищевой и легкой промышленности в качестве эффективных биокатализаторов.

Глюкоамилаза (α -1,4:1,6 глюкан-4,6-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.3) катализирует реакцию гидролиза крахмала до глюкозы, атакуя только внешние нередуцирующие концы цепей полисахаридов, и широко используется в разработке новых прогрессивных технологий.

Ингибиторы амилолитических ферментов представляют собой одну из основных систем регуляции активности клетки и универсального, оперативного контроля процессов жизнедеятельности.

В настоящее время синтезируется большое количество биологически активных соединений. Среди них особое место занимают природные микотоксины и четвертичные аммониевые соли, которые содержат, по крайней мере, один гидрофобный радикал и оказывают местное раздражающее действие на кожные покровы, слизистые оболочки, органы дыхания [3].

Однако влияние четвертичных производных дигидрохинолина и природных ингибиторов микотоксинов на структурно-функциональные свойства амилазы недостаточно изучены.

Эксперимент

Объектом исследования послужил фермент: глюкоамилаза из *Aspergillus awamori*, препарат Г20Х производства Ладыжинского завода ферментных препаратов, подвергнутый специальным методом очистки.

Для определения активности глюкоамилазы использовали глюкозооксидазный метод. Принцип метода заключается в том, что глюкоза окисляется кислородом воздуха при каталитическом действии глюкозооксидазы с образованием перекиси водорода и глюконата. Возникшую перекись водорода определяли по реакции окислительного азосочетания с замещенным фенолом и 4-аминоантипирином, которая катализируется пероксидазой.

Расчет каталитической активности производили по формуле: $A = a \div b \times 180 \times 10$;

где a - количество глюкозы, образовавшейся в 1 мл гидролизата в мкг;

b - количество фермента в 1 мл гидролизата в мг;

10 - время гидролиза в мин;

180 - молекулярная масса глюкозы.

В качестве субстрата использовали растворимый картофельный крахмал ($5,8 \cdot 10^{-5}$; $11,7 \cdot 10^{-5}$; $17,5 \cdot 10^{-5}$; $23,4 \cdot 10^{-5}$; $23,9 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Взаимодействие четвертичных аммониевых солей дигидрохинолина, синтезированных на кафедре органической ВГУ, микотоксина Т-2 и элюата комбикормов, зараженных плесневыми грибами, осуществляли путем инкубации с раствором глюкоамилазы (10^{-6} моль/л) в течение 10 минут при комнатной температуре 40°C и рН 4,7.

Регистрацию ИК-спектров поглощения производили на спектрофотометре ИКС-14А в диапазоне $4-400 \text{ см}^{-1}$. Подготовку образцов осуществляли путем высушивания фермента до постоянной массы при $50-60^{\circ}\text{C}$ с дальнейшим растиранием в агатовой ступке до мелкодисперсного состояния, перемешивая с KBr (соотношение $1=100$) и таблетирования в пресс-форме. ИК спектры образцов анализировали по положению, форме и ширине полос поглощения [4].

Достоверность отличий контрольных и экспериментальных результатов оценивали при помощи t -критерия Стьюдента.

Обсуждение результатов

Интерес исследователей к четвертичным аммониевым солям, продуктам алкилирования аминов.

Это биологически активные вещества, обладающие бактерицидными свойствами, причем степень антимикробного эффекта возрастает соответственно увеличению плотности зарядов на атоме азота короткоцепочечного амина, входящего в состав молекулы.

Запатентованы соединения, являющиеся эффективными бактерицидными консервирующими составами, а также фунгициды, инсектициды, имеющие низкую токсичность и широкий спектр противомикробного и противогрибкового действия[5].

В ходе исследования установлено, что оптимальными условиями функционирования фермента являются: $t=40\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=4,7$.

Показано, что инкубация глюкоамилазы с растворами дигидрохинолина (концентрации $1,6 \cdot 10^{-3}$; $2,1 \cdot 10^{-3}$; $2,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) приводит к снижению каталитической активности глюкоамилазы на 86%.

Для выявления механизма ингибирования глюкоамилазы дигидрохинолином была изучена зависимость активности фермента от концентрации субстрата в присутствии ингибитора (рис. 1).

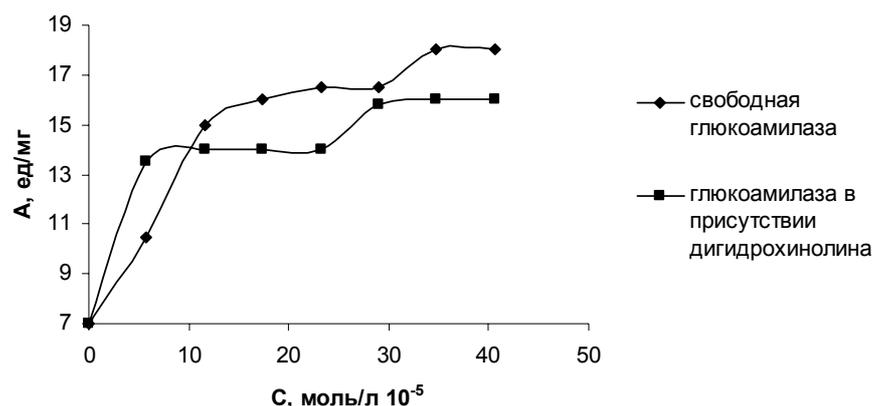


Рис. 1. Зависимость каталитической активности глюкоамилазы от концентрации субстрата в присутствии дигидрохинолина.

Установлено, что кинетика ферментативного гидролиза крахмала при модификации молекулы глюкоамилазы дигидрохинолином не изменяется, имеет место достоверное снижение каталитической активности по всему ходу кривой.

Методом обратных координат Лайнуивера-Берка были рассчитаны кинетические параметры реакции гидролиза субстрата и исследован тип ингибирования глюкоамилазы дигидрохинолином. (Табл.1).

Таблица 1. Кинетические параметры реакции гидролиза крахмала глюкоамилазой в присутствии ДГХ

Фермент	V_{max} , мкмоль·мг/мин	K_m , $\times 10^{-7}$ моль/л
Глюкоамилаза	17,24	2,50
Глюкоамилаза в присутствии ДГХ	15,52	2,81

Выявлено, что дигидрохинолин уменьшает каталитическую способность глюкоамилазы путем образования как двойного комплекса ингибитор-фермент, так и тройного комплекса ингибитор-фермент-субстрат. При этом уменьшается V_{max} реакции гидролиза крахмала. Дигидрохинолин, по-видимому, действует на функциональные группы активного центра глюкоамилазы, осуществляющих катализ, и на процесс образования фермент-субстратного комплекса, то есть ингибирование реакции гидролиза крахмала носит смешанный характер.

Далее было исследовано воздействие четвертичных солей дигидрохинолина без заместителей (ЧСД-1), с группой CH_3 (ЧСД-2), $O-CH_3$ (ЧСД-3), $O-C_2H_5$ (ЧСД-4) на каталитическую активность глюкоамилазы (Табл.2.).

Обнаружено, что четвертичные соли дигидрохинолина обладают ингибирующими свойствами, что проявляется в снижении каталитической активности глюкоамилазы.

Таблица 2. Влияние четвертичных солей ди- и тетрагидрохинолина с различными заместителями на каталитическую активность глюкоамилазы

Исследуемое вещество	Количество глюкозы в 1 мл гидролизата, мкг	Удельная активность, ед/мг белка	K_i	% снижения активности под влиянием ингибитора
Глюкоамилаза без ингибитора	164	70±0,13	—	—
ЧСД-1 (Cl)	62	26,40±0,15	2,90	62
ЧСД-1 (I)	78	33,30±0,001	5,00	53
ЧСД-2	45	21,20±1,07	3,50	70
ЧСД-3	92	37,90±0,13	3,40	46
ЧСД-4	88	36,80±0,48	3,04	47

Изменение активности фермента в присутствии ингибиторов не одинаково, что связано с наличием различных заместителей - радикалов и анионов.

Наибольшей ингибирующей активностью, по нашим данным, обладает ЧСД-2, имеющая в 6 положении метильный радикал ($-CH_3$). Это подтверждают данные литературы, где указывается, что четвертичные аммониевые соли, содержащие хотя бы один метильный радикал, обладают противомикробным действием [5].

Производные дигидрохинолинов отличаются не только радикалами в 6 положении, но и анионами, что было учтено при анализе их ингибиторных свойств.

Наши эксперименты показали, что производные дигидрохинолина, содержащие в качестве заместителей анион Cl⁻, снижают каталитическую активность глюкоамилазы более значительно (62%), чем соединения с подобной структурой, имеющие анион I⁻ (53%).

Эти данные согласуются с работами Эпштейна А.Е. и других авторов, где отмечено, что введение в четвертичные аммониевые соли различных функциональных групп оказывает влияние на биологическую активность соединения. Так замена метильных радикалов на этильные снижает антимикробное действие четвертичных аммониевых солей [3,5].

Модификация четвертичной соли дигидрохинолина различными заместителями приводит к изменению взаимодействия синтетического ингибитора, как с активным центром фермента, так и с другими группировками полипептидной цепи.

Далее нами были изучены зависимости активности фермента от

концентрации субстрата при инкубации четвертичными солями дигидрохинолина, имеющими радикал CH_3 (ЧСД-1) и O-CH_3 (ЧСД-2) в шестом положении.

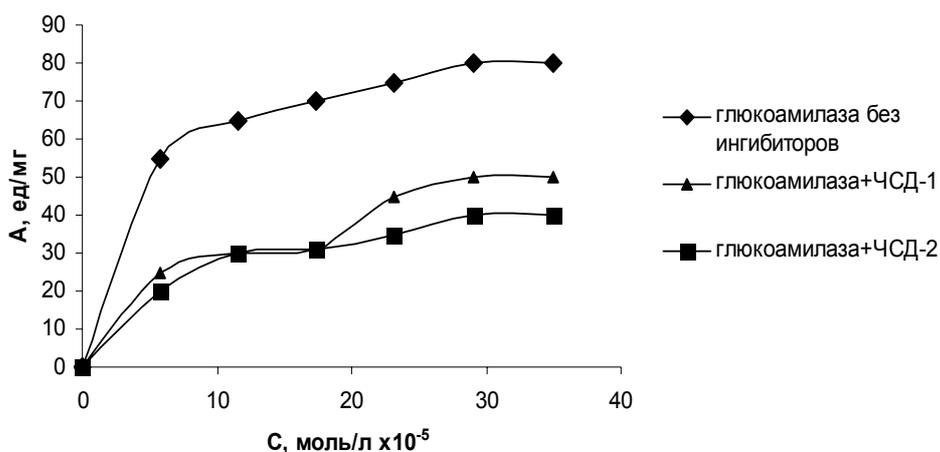


Рис. 2. Зависимость скорости реакции гидролиза крахмала глюкоамилазой от концентрации субстрата в присутствии ингибиторов (ЧСД-1, ЧСД-2)

Показано, что ЧСД-1 и ЧСД-2 достоверно снижают каталитическую активность глюкоамилазы при различных концентрациях субстрата.

При этом кинетика ферментативного гидролиза крахмала, как нативным, так и модифицированным ферментом не соответствует уравнению Михаэлиса. Это позволяет сделать заключение, что инкубация фермента с ЧСД-1 и ЧСД-2 не влияет на состояние четвертичной структуры глюкоамилазы.

Установлено, что ингибиторы ЧСД-1 (I), ЧСД-3, ЧСД-4 являются неконкурентными, а дигидрохинолин, ЧСД-2, ЧСД1(Cl) – смешанного типа. (Табл.2). Об этом свидетельствуют расчеты кинетических параметров реакции ингибирования данными веществами. Показано, что при воздействии ЧСД-3, ЧСД-4 K_m не изменяется по сравнению с нативным ферментом (V_{max} уменьшается в 2 раза).

Очевидно, что исследованные соединения взаимодействуют либо с ферментом, либо с фермент-субстратным комплексом, при этом возможно локальное изменение распределения заряда на участке связывания, что затрудняет ионизацию групп, существенных для проявления каталитической активности.

Токсические метаболиты плесневых грибов – микотоксины широко распространены в природе, обладают мутагенными, тератогенными и канцерогенными свойствами.

Выделяют четыре основных класса микотоксинов: афлатоксины, охратоксины, зеараленоны и трихотецены.

В качестве природных загрязнителей пищевых продуктов и кормов обнаружено четыре представителя класса трихотеценов: Т-2-токсин, ниваленол, дезоксиниваленол, диацетотоксикирпенол.

Афлатоксины и охратоксины при остром отравлении вызывают очаги некрозов в миокарде, печени, почках, селезенке, желудочно-кишечном тракте.

Зеараленон отличается от других микотоксинов наличием выраженных гормоноподобных свойств и отсутствием летального действия [6,7].

Результаты проведенных исследований показали, что микотоксин Т-2 является ингибитором фермента глюкоамилазы. Минимальная концентрация, при которой обнаруживается ингибирующий эффект, 10^{-8} моль/л. Каталитическая активность глюкоамилазы не зависит от времени инкубирования ее с микотоксинами

в интервале 10-50 минут, поэтому инкубацию фермента с микотоксинами осуществляли в течение 10 минут при 40 °С.

Установлено, что микотоксин Т-2 (10^{-4} моль/л) вызывает уменьшение каталитической активности глюкоамилазы на 42% по сравнению с нативным энзимом.

Для выяснения характера взаимодействия микотоксина Т-2 и четвертичных солей дигидрохинолина были сняты ИК спектры глюкоамилазы, инкубированной с исследуемыми соединениями и контрольных образцов.

ИК спектр глюкоамилазы имеет четкие полосы поглощения при 3373 - 3254 см^{-1} , обусловленные растяжением -N-H-связи. Кроме того, слабо проявляется полоса поглощения амид I ($1650-1660 \text{ см}^{-1}$), отвечающая за растяжение связей- C=O.

Полосы поглощения $1540-1550 \text{ см}^{-1}$, представляющие собой комбинацию примерно одинаковых вкладов от растяжения связей - C-N- и деформации связи -N-H- практически не наблюдаются.

Остальная часть спектра определяется природой составляющих аминокислот. Например, полоса поглощения 1400 см^{-1} обусловлена наличием - C-CH₃- и - C - (CH₃)₂ групп. Пик в области 1000 см^{-1} характеризует монозамещенное ароматическое кольцо, входящее в состав фенилаланина, триптофана и гистидина.

При взаимодействии глюкоамилазы с четвертичными аммониевыми солями наблюдается изменение спектров фермента в области $1400 - 1500 \text{ см}^{-1}$ и $3200 - 2600 \text{ см}^{-1}$.

Показано, для полосы амид II (1550 см^{-1}), что резко увеличивается интенсивность поглощения и четко проявляются полосы поглощения $1400-1500 \text{ см}^{-1}$. При этом полоса 1400 см^{-1} сдвигается в сторону меньших длин волн (1450 см^{-1}), что вероятно, свидетельствует об изменении вторичной структуры глюкоамилазы, связанной с перераспределением α - спиральных участков, β -слоев и нерегулярных структур.

Данные ИК спектроскопии подтверждаются изменением кинетических закономерностей ферментативного катализа, свидетельствующих о нарушении конформации белковой молекулы.

Аналогичные изменения в ИК спектрах наблюдаются для четвертичных солей дигидрохинолина, которые проявляют высокую ингибирующую активность (ЧСД-2).

При взаимодействии четвертичных солей дигидрохинолина изменения спектров в области $1440-1500 \text{ см}^{-1}$ в наших опытах не наблюдалось.

Полоса поглощения 1500 см^{-1} незначительно сдвигается в длинноволновую область с изменением интенсивности поглощения, что указывает на смещение кислорода карбонильной группы в направлении азота амидной группы хинолинового кольца, т.е. комплекс фермента и ЧСД поддерживается водородными связями.

Введение в состав производного четвертичных солей дигидрохинолина группы - CH₃ и O-CH₃ приводит к значительному уменьшению константы ингибирования (K_i) и изменению полосы поглощения $3373-3254 \text{ см}^{-1}$.

На ИК спектре в области $3200 - 3600 \text{ см}^{-1}$ имеет место сужение полос поглощения, что может быть обусловлено уменьшением количества водородных связей, стабилизирующих третичную структуру фермента[8,9].

Введение в производные дигидрохинолинов метильных группировок, усиливающих гидрофобное взаимодействие между ферментом и ингибитором, способствует уменьшению K_i и затруднению процессов образования фермент-субстратного комплекса. Причем производные дигидрохинолина за счет

гидрофобных “сил” сцепления могут быть частично втянутыми в щель активного центра, затрудняя тем самым проникновение высокомолекулярного субстрата к функциональным группам каталитического участка [10].

ИК спектры глюкоамилазы, инкубированной с микотоксином Т-2 (10^{-4} моль/л) характеризуется заметными изменениями в области поглощения CH_3 -групп (2900-2920 cm^{-1}), интенсивность данного пика увеличена, что может свидетельствовать о появлении гидрофобных групп на поверхности молекулы за счет действия токсина. Полоса амид I смещается из области 1606 cm^{-1} в 1671 cm^{-1} .

В ИК спектре модифицированной глюкоамилазы сохраняет свое положение пик при 1000 cm^{-1} , отвечающий за монозамещенные ароматические группировки, но он несколько меняет свои очертания, что может указывать на новые заместители, появляющиеся в этих группах. Значительно увеличена интенсивность пика на 1353 cm^{-1} , характеризующего наличие групп $\text{C}-\text{CH}_3$.

Анализ ИК спектра глюкоамилазы, модифицированной токсином Т-2, позволяет сделать заключение о том, что между молекулой фермента и микотоксином Т-2 возникают многочисленные гидрофобные взаимодействия, приводящие к значительному изменению конформации белка и выходу на поверхность R-радикалов гидрофобных аминокислотных остатков, чем и обусловлено снижение каталитической активности фермента.

Использование молекулярной модели для оценки токсичности позволяет за 3-4 часа получить количественную информацию о содержании микотоксинов, что позволяет считать данный метод экспрессным [11,12].

Заключение

Наши исследования показали значительное влияние различных заместителей в ряду дигидрохинолинов на ингибиторные свойства по отношению к глюкоамилазе. Наибольшая степень снижения каталитической активности фермента была обнаружена у производных дигидрохинолина, содержащих метильный радикал, а также анионы Cl^- , что может быть обусловлено увеличением скорости образования фермент-субстратного комплекса за счет изменения эффективного заряда щели активного центра и появления стерических затруднений при адсорбции молекул крахмала на связывающих функциональных группах.

Результаты наших экспериментов по исследованию микотоксина на каталитическую активность глюкоамилазы позволяют рекомендовать использование данной молекулярной модели для разработки экспресс-метода определения микотоксинов в пищевых продуктах и кормах.

Таким образом, целесообразно изучать влияние синтетических и природных ингибиторов на физико-химические свойства ферментов, представляющее систему контроля, защиты и регуляции активности клетки с целью поиска возможных медицинских препаратов, инновационных методов определения токсичности и усовершенствования многих существенных технологий и созданию новых.

Список литературы

1. Галич И.П. Амилазы микроорганизмов. – Киев: Наук. Думка, 1987. – 192 с.
2. Жеребцов Н.А. Амилолитические ферменты в пищевой промышленности. – М.: Лег, и пищ. Пром-сть, 1984.- 160 с.

- 3.Эпштейн А. Е., Цвирова И. М., Крученок Г. Б. Сравнительная бактерицидная активность четвертичных аммониевых солей.- Хим. Фарм.ж,1984,№10, с.1218-1224.
- 4.Кучеров А.К., Кочубей Е.М., 1983 диссерт.
- 5.Бактерицидные аммониевые соли на основе эфиров монохлоруксусной кислоты/А.Е.Эпштейн, В.Е.Ливанов, М.Ю.Телегин и др.//хим.-фарм.журнал.- 1980.- №5.-с.23-27.
- 6.Спесивцев Н.А. Микозы и микотоксины.-М.: Мир, 1985.-320с.
- 7.Димитров М.К. К вопросу об алиментарных токсикозах // Гигиена и санитария.- 1966.-№6.-С.21-22.
- 8.Ковалева Т.А., Башарина О.В., Селеменев В.Ф. / Исследование структуры глюкоамилазы методом ИК спектроскопии биополимеров.- Харьков, 1991.- с.134-135.
- 9.Изучение некоторых свойств глюкоамилазы сорбционными и спектральными методами Ковалева Т.А., Селеменев В.Ф., Плохих А.М. и др. Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж, 1985. – Вып. 17. – с. 58-61.
10. Олигомерные белки: структурно – функциональные модификации и роль субъединичных контактов /В. Г. Артюхов (и др.). – Воронеж: Изд-во Воронежского государственного ун-та, 1997. – 264 с.
11. Курмаков И.А., Таланов Г.А. Определение токсичности комбикормов, пораженных микроскопическими грибами // Ветеринария.-1977.-№10.-С.98-99.
12. Афанасьева Г.А., Щербухин В.Д. Исследование возможностей применения глюкозооксидазного метода определения глюкозы // Прикл. Биохимия и микробиол.- 1975.-Т.11, вып.9.-С.460-462.

Ковалева Тамара Андреевна – профессор кафедры биофизики и биотехнологии, доктор биологических наук Воронежского государственного университета, тел.8(4732)208586

Макарова Екатерина Леонидовна – ассистент кафедры биохимии ВГМА, аспирант кафедры биофизики и биотехнологии Воронежского государственного университета

Гладнева Алла Викторовна – зав. биохимической лабораторией поликлиники №15 г/.Воронежа

Kovaleva Tamara A.- professor of biotechnology department, doctor of biological science, Voronezh State University, e-mail: Tamarakovaleva@inbox.ru

Makarova Ekaterina L. – assistant of biochemistry department, Voronezh N.N. Burdenko State Medical Academy, postgraduate (student) of biophysics and biotechnology department, Voronezh State University e-mail: makarova7809@mail.ru

Gladneva Alla V. – the manager. Biochemical laboratory of polyclinic of №15 of Voronezh



УДК 543.544.14

Высокочувствительное ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина

Затираха А.В., Смоленков А.Д., Елфимова Я.А., Шпигун О.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва

Поступила в редакцию 2.04.2009 г.

Аннотация

В статье описан подход для определения 1,1-диметилгидразина на уровне ОДУ для водоемов хозяйственно-бытового назначения методом on-line динамического сорбционного концентрирования по механизму ионного обмена с последующим ионохроматографическим определением и амперометрическим детектированием. Установлено, что определяющим фактором количественной сорбции и десорбции диметилгидразина на сульфокислотных катионообменниках является кислотность пробы: оптимальная обеспечивается на фоне 10 мМ уксусной кислоты. Выявлены ограничения подхода, заключающиеся в конкуренции катионов матрицы пробы на стадии сорбции. Предел обнаружения 1,1-диметилгидразина составил 0,02 мкг/л при обработке 100 мл пробы.

Ключевые слова: несимметричный диметилгидразин, ионная хроматография, on-line концентрирование, окружающая среда

Determination of 1,1-dimethylhydrazine at low levels according to the maximum admissible concentration for environmental waters is presented. The method involves on-line dynamic absorption preconcentration by ion exchange mechanism and further determination by ion chromatography with amperometric detection. Sample acidity was found to be the most important factor for quantitative absorption and desorption of dimethylhydrazine from sulfoacidic cation-exchangers. 10 mM acetic acid was chosen as optimal sample background. The interference of matrix cations to absorption was studied. The limit of detection of 1,1-dimethylhydrazine was 0,02 ppb for the sample volume 100 ml.

Key words: unsymmetrical dimethylhydrazine, ion chromatography, on-line preconcentration, environment

Введение

При экологическом контроле объектов окружающей среды в районах эксплуатации, хранения и уничтожения ракетно-космической техники наибольшее внимание уделяют определению высокотоксичного ракетного горючего 1,1-диметилгидразина (НДМГ). НДМГ является веществом первого класса опасности [1], поэтому санитарно-гигиенические нормативы допускают лишь низкие предельно-допустимые содержания его в природных объектах. В воздухе рабочей зоны его ПДК составляет 0,1 мг/м³, в водоемах рыбо-хозяйственного назначения – 0,0005 мг/л, ОДУ в воде хозяйственно-бытового использования – 0,06 мкг/л [2]. Для

определения столь низких содержаний требуется разработка эффективных методик, сочетающих метод определения с концентрированием пробы.

Современные подходы для определения гидразинов обладают рядом недостатков. Для объектов окружающей среды большинство из них не удовлетворяет по селективности. Спектрофотометрическое определение гидразинов [3-5], несмотря на свою простоту, дает завышенные результаты. Высокочувствительное флуориметрическое определение [6-9] также сложно применимо к анализу реальных объектов, и не является селективным. ГХ и ВЭЖХ требуют трудоемкой и длительной пробоподготовки - предварительной дериватизации для перевода НДМГ в форму гидрофобного производного [10-18]. Ни один из этих подходов не обеспечивает требуемой чувствительности (0,06 мкг/л). Наиболее удобным методом определения гидразинов является ионная хроматография [19-22]. Она обладает такими достоинствами как высокая селективность, чувствительность, экспрессность, возможность одновременного определения нескольких компонентов. Кроме того, ионная хроматография - прямой метод определения. Метод ионной хроматографии с амперометрическим детектированием позволяет определять НДМГ непосредственно прямым вводом в хроматограф без каких-либо дополнительных манипуляций с пределом обнаружения 0,001 мг/л [19,20]. Одним из важных преимуществ ионной хроматографии является возможность совмещения on-line с динамическим сорбционным концентрированием, что позволяет автоматизировать анализ, полностью доставлять концентрат в хроматографическую систему, достигая высоких коэффициентов концентрирования, и таким образом обеспечивает наибольшую эффективность среди известных методов концентрирования. Благодаря использованию замкнутых систем и точному дозированию растворов, on-line сорбционно-хроматографические методы характеризуются высокой воспроизводимостью и производительностью [23].

Количественное и селективное извлечение определяемых микрокомпонентов из анализируемых растворов на стадии концентрирования обеспечивается правильным выбором сорбента и специальной подготовкой пробы перед анализом. Использование хроматографического сорбента для концентрирования дает ряд преимуществ по сравнению с другими, поскольку в этом случае равновесие в фазе сорбента устанавливается быстро, и реализуется количественная сорбция и десорбция компонентов пробы. Для сорбции НДМГ по механизму ионного обмена необходим выбор соответствующего рН раствора пробы для перевода его в протонированную форму и предупреждения окисления в процессе сорбции.

В работе представлена разработка подхода для ионохроматографического определения ультрамалых количеств 1,1-диметилгидразина с предварительным динамическим сорбционным on-line концентрированием по механизму ионного обмена. Анализ образца воды включает в себя концентрирование раствора пробы, содержащего НДМГ, и хроматографическое разделение НДМГ и матрицы на сульфокислотном катионообменнике с последующим расчетом концентрации целевого компонента по методу внешнего стандарта.

Эксперимент

Реагенты. Для приготовления подвижной фазы использовали ацетат аммония (о.с.ч., Merck, Германия), уксусную кислоту (х.ч. Panreac, Испания), аскорбиновую кислоту (ч.д.а.), лимонную кислоту (ч.д.а.), серную кислоту (ч.д.а., Реахим). Для приготовления градуировочных растворов использовали ГСО состава раствора 1,1-

диметилгидразина (ЭАА «Экоаналитика», Россия), гидразин серноокислый (ч.д.а., $\geq 99.0\%$, Sigma-Aldrich, США), метилгидразин (98%, Aldrich, США).

Аппаратура. Работу выполняли на хроматографе «Цвет Яуза» (НПО Химавтоматика, Россия) с амперометрическим детектором (АД). Обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения «Экохром». Для подачи пробы воды через концентрирующие колонки использовали дополнительный насос высокого давления «Beckman 110В».

Для концентрирования использовали картриджи 10x25 мм, заполненные сорбентами Диапак C₁₈ (Биохиммак) и Диапак Сульфо (высота слоя сорбента 20 мм), а также колонки Nucleosil 10 SA (10 мкм, 4x30 мм, 4x50 мм), Диапак Сульфо (30 мкм, 4x30 мм) и Диасорб Сульфо (10 мкм, 4x30 мм). В качестве разделяющей использовали колонку 4x100 мм с сорбентом Nucleosil 10 SA. Объем петли составлял 250 мкл. Для проведения твердофазной экстракции использовали вакуумный манифолд (НПКФ «Аквилон», Россия).

Приготовление растворов. Раствор НДМГ с концентрацией 500 мг/л готовили разбавлением аликвоты стандарта в 10 мМ серной кислоте, хранили в течение 3 недель в холодильнике при +4°C. Рабочие растворы готовили разбавлением раствора 500 мг/л необходимым фоновым раствором в день анализа.

Техника эксперимента.

В качестве элюента для десорбции использовали аммонийно-ацетатный буферный раствор (рН 5,4) с концентрациями 40-500 мМ. Для определения минимального объема десорбции колонку, предлагаемую для концентрирования, присоединяли к хроматографической системе в качестве разделяющей колонки. В петлю хроматографа объемом 100 мкл вводили раствор 0,1 мг/л НДМГ и определяли время выхода компонента. Объем удерживания определяли умножением величин времени удерживания и скорости подачи подвижной фазы (1 мл/мин).

Для изучения полноты сорбции раствор НДМГ с помощью насоса пропускали через концентрирующую колонку со скоростью 2,5 мл/мин, собирали последовательные фракции (4x25 + 5) мл, анализировали фракции в режиме прямого ввода.

При изучении полноты десорбции подвижную фазу пропускали через концентрирующую колонку после процедуры концентрирования в направлении, обратном подаче раствора пробы, со скоростью 1 мл/мин. Сорбированный НДМГ элюировали с колонок в колбу объемом 100,0 мл и анализировали в режиме прямого ввода. В случае малых концентраций НДМГ (0,01 мг/л и менее) десорбцию проводили объемом элюента 5 мл, превышающим минимальный объем десорбции.

Для определения максимального количества 1,1-диметилгидразина, которое можно сорбировать на колонках 4x50 мм и 4x30 мм с сорбентом Nucleosil 10 SA, в колонки со скоростью 2,5 мл/мин подавали раствор 0,1 мг/л НДМГ на фоне 10 мМ уксусной кислоты. Собирая на выходе из колонки фракции по 5 мл, анализировали их на содержание НДМГ.

В режиме on-line концентрирования колонку для концентрирования устанавливали в положения шестиходового крана-дозатора на место петли (рис. 1).

В положении шестиходового крана «концентрирование» проводили сорбцию НДМГ на концентрирующей колонке, пропуская через нее раствор пробы в течение 40 мин со скоростью 2,5 мл/мин. Затем переводили шестиходовой кран в положение «анализ», при этом направление движения подвижной фазы в концентрирующей колонке изменялось на обратное. После проведения анализа шестиходовой кран переводили снова в положение «концентрирование» и сразу приступали к работе со следующим образцом без проведения каких-либо подготовительных процедур.

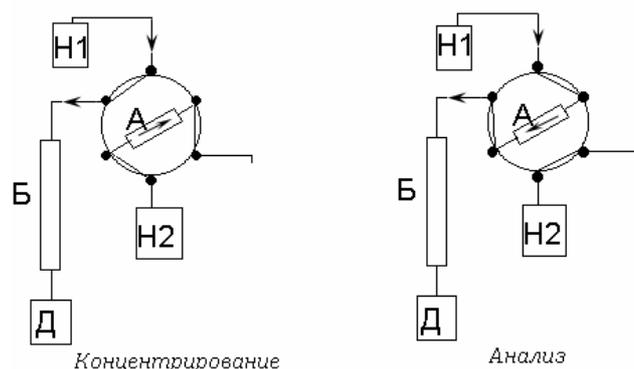
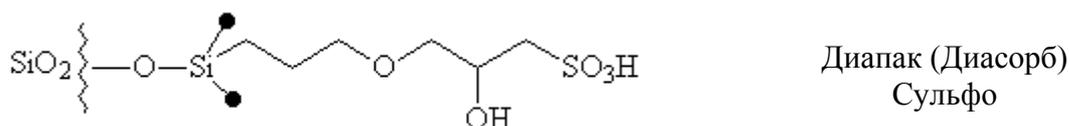


Рис. 1. Схема хроматографической установки с on-line концентрированием пробы. Н1, Н2- насосы высокого давления, Д - амперометрический детектор, А - колонка для концентрирования, Б - разделяющая колонка

Обсуждение результатов

Сорбенты и колонки для концентрирования. Для концентрирования НДМГ использовали сильнокислотные сульфокатионообменники: монофункциональный Nucleosil 10 SA с диаметром зерна 10 мкм, полифункциональные Диапак Сульфо (30 мкм) и Диасорб-130-Сульфо (10 мкм) со следующим строением функциональных групп:



Наличие ароматического фрагмента в структуре Nucleosil 10 SA предполагает различную селективность сорбентов к органическим и неорганическим катионам; различие в механизме удерживания примесей и мешающих концентрированию и определению НДМГ компонентов открывает возможности для их устранения.

Выбор фонового состава пробы. Изучение емкости колонки по НДМГ в зависимости от фонового состава раствора НДМГ проводили в off-line режиме. При концентрировании растворов гидразинов на фоне дистиллированной воды градуировочный график нелинеен, а сорбция-десорбция протекает не количественно. В таких условиях кислотно-основное равновесие для гидразинов, по своей природе слабых оснований, частично смещается в сторону нейтральной формы (недиссоциированной), которая элюируется с колонки. Другая возможная причина связана как с частичным окислением гидразинов на колонке, так и с возможным окислением их растворенным в дистиллированной воде кислородом, заметным для низких концентраций гидразинов. Для эффективного концентрирования диметилгидразина в растворе необходимо создать кислую среду для перевода компонента в протонированную форму. В качестве фоновых использовали растворы серной, аскорбиновой, лимонной и уксусной кислот, концентрации варьировали от 1 до 10 мМ.

10 мМ серная кислота является распространенной средой для консервирования и хранения проб, содержащих НДМГ. Известная методика пробоподготовки загрязненных 1,1-диметилгидразином почв и вод основывается на отгонке НДМГ с водяным паром из щелочного раствора пробы в раствор 10 мМ серной кислоты, которая обеспечивает необходимую для его консервирования кислотность [20]. Значение рН раствора пробы на фоне 10 мМ серной кислоты составляет 1,72. Установлено, что сорбция в этих условиях протекает незначительно. Таким образом, серная кислота непригодна в качестве фона для концентрирования.

Лимонная, аскорбиновая и уксусная кислоты имеют близкие значения констант кислотности, обеспечивая рН 2,56, 3,0 и 3,25 в соответствующих 10 мМ растворах. Установлено, что лимонная кислота не может служить универсальным фоном пробы, поскольку для колонок с низкой емкостью наблюдается незначительная сорбция НДМГ. На фоне 10 мМ уксусной кислоты сорбция НДМГ протекает количественно. Аскорбиновая кислота служит антиоксидантом и препятствует окислению НДМГ растворенным в воде кислородом, обеспечивая 100% сорбцию и десорбцию НДМГ. Однако ее применение как фона для концентрирования имеет недостатки: из-за ее электрохимической активности на хроматограммах могут появляться пики продуктов разложения, которые мешают определению НДМГ при его содержании в области концентраций менее 0,5 мкг/л; высокая концентрация аскорбиновой кислоты, попадающая в детектор, загрязняет поверхность электрода. Дополнительная промывка концентрирующей колонки дистиллированной водой позволяет удалить избыток кислоты и часть продуктов разложения перед стадией десорбции, однако существенно увеличивает время анализа и трудозатраты.

В процессе сорбции через колонку пропускали 100 мл раствора пробы со скоростью 1, 2 и 2,5 мл/мин. Благодаря высокой скорости ионного обмена, во всех случаях обеспечивается полнота сорбции НДМГ. Максимально возможная скорость подачи пробы ограничивается высоким давлением на колонке и составляет 2,5 мл/мин, что сокращает время концентрирования до 40 мин.

Колонки Диапак и Диасорб Сульфо, отличающиеся низкой емкостью, позволяют осуществлять эффективное концентрирование диметилгидразина при содержании не более 0,01 мг/л на фоне уксусной кислоты. Диаграммы сорбции, характеризующие емкость колонок 4x30 и 4x50 мм Nucleosil SA по НДМГ, приведены на рис. 2 и 3. Из диаграмм видно, что обе колонки обладают достаточной емкостью для концентрирования больших объемов проб, так как насыщение колонок происходит при 450 мл и 325 мл пропущенной пробы для колонок 4x50 мм и 4x30 мм соответственно.

Выбор условий количественной десорбции. Поскольку состав концентрата после десорбции должен быть близок к составу подвижной фазы для хроматографического разделения, то оптимальным является осуществление десорбции элюентом – аммонийно-ацетатным буферным раствором. Такой подход упрощает реализацию комбинированного метода, так как условия хроматографического анализа одинаковы для прямого и комбинированного варианта.

Для определения минимального объема элюента, необходимого для десорбции НДМГ с концентрирующих колонок, все колонки последовательно устанавливали в режиме разделения и определяли интервал времени выхода компонента при использовании 40 мМ аммонийно-ацетатного буферного раствора в качестве подвижной фазы. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Время выхода хроматографической зоны НДМГ при использовании колонок различного типа

	Nucleosil 10 SA	Диапак Сульфо	Диасорб Сульфо
Время выхода НДМГ, мин	5,1-5,4	1,8-5,5	2,1-2,5

Сравнение результатов, полученных при разных направлениях потока подвижной фазы через концентрирующие колонки, показало, что при элюировании НДМГ обратным подаче пробы потоком элюента минимальный объем десорбции в несколько раз меньше, чем в направлении сорбции. Поскольку в первом случае зона концентрата, образовавшаяся в начале колонки для концентрирования, не проходит через весь слой сорбента, то ширина пика и время его выхода уменьшается, и такой подход позволяет использовать невысокие концентрации ацетата аммония.

Для достижения высоких коэффициентов концентрирования необходимо минимизировать объем элюента для количественной десорбции компонента, что возможно при использовании более концентрированной подвижной фазы – не менее 100 мМ ацетата аммония. Варьирование скорости потока элюента через концентрирующую колонку на стадии десорбции показало, что время пребывания элюента в колонке влияет на полноту извлечения НДМГ. Увеличение скорости от 1 до 2,5 мл/мин вызывало необходимость использования большего объема и концентрации ацетата аммония. Оптимальными условиями, позволяющими сочетать стадию десорбции с последующим хроматографическим определением, установлены 100 мМ ацетат аммония (рН 5,4) со скоростью подачи 1 мл/мин.

Таблица 2. Контроль протекания десорбции НДМГ с варьированием фона раствора пробы в режиме off-line, %. Концентрация НДМГ в пробе – 0,1 мг/л. Объем пробы – 100 мл

Фон раствора пробы	Колонки для концентрирования		
	Nucleosil SA	Диапак Сульфо	Диасорб Сульфо
10 мМ серной кислоты	30	15	-
10 мМ серной и 0,1 мМ аскорбиновой кислоты	35	25	-
10 мМ аскорбиновой кислоты	102	90	82
10 мМ уксусной кислоты	100	72	63
10 мМ лимонной кислоты	100	91	4
10 мМ уксусной и 1 мМ аскорбиновой кислоты	-	10	72
10 мМ лимонной и 1 мМ аскорбиновой кислоты	-	7	25

Данные по извлечению НДМГ при разном фоновом составе пробы представлены в таблице 2. Установлено, что добавка восстановителя (1 мМ аскорбиновой кислоты) к пробам с содержанием других кислот не улучшает существенно извлечение диметилгидразина.

Таким образом, кислотность раствора пробы является определяющим фактором при концентрировании НДМГ, при этом высокая концентрация сильной кислоты приводит к насыщению ионообменной колонки ионами водорода, что препятствует удерживанию ионов диметилгидразина. Уксусная кислота наиболее

близка к подвижной фазе, поэтому наиболее рационально проводить концентрирование на фоне 10 мМ уксусной кислоты.

Изучение мешающего влияния матрицы пробы. В реальных образцах воды не исключено мешающее влияние со стороны катионов при использовании для сорбции ионного обмена. Ионы натрия обладают большой элюирующей силой и содержатся в реальных пробах в тысячекратных количествах по сравнению с такими содержаниями НДМГ, которые определяются предложенным подходом. Поскольку ионы натрия обладают близкой элюирующей силой к K^+ и NH_4^+ , то определив влияние только этих катионов на концентрирование НДМГ, результаты можно обобщить для суммарного содержания всех остальных однозарядных катионов в реальной пробе.

Для моделирования такого эффекта изучили влияние присутствия натрия с содержанием 0,2-10 мМ на результаты концентрирования НДМГ. Сравнение диаграмм сорбции НДМГ в присутствии 0,2-10 мМ солей натрия на колонках Nucleosil SA разного размера (рис. 2 и 3) подтверждает конкуренцию катионов натрия с катионами НДМГ за взаимодействие с сульфогруппами катионообменника.

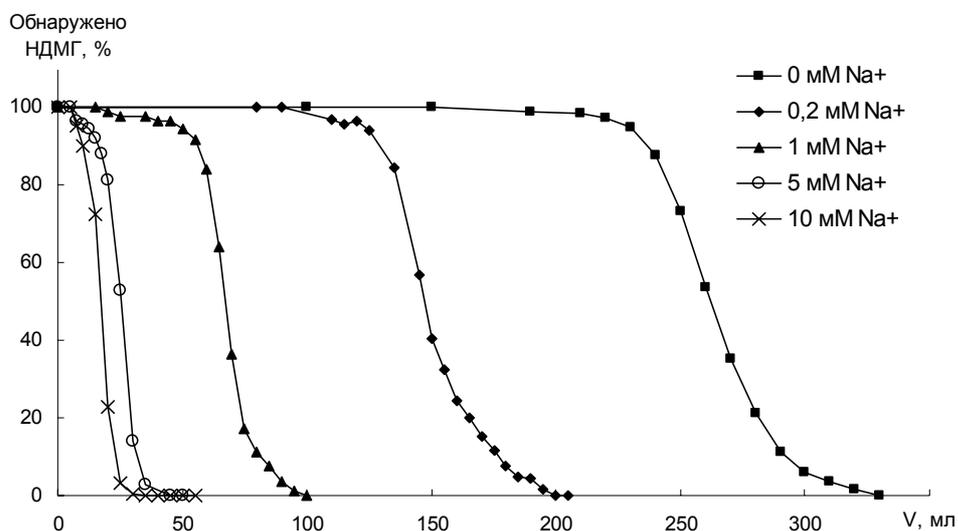


Рис. 2. Диаграммы сорбции НДМГ на колонке Nucleosil 10 SA 4×30 мм на фоне 10 мМ уксусной кислоты (■) и в присутствии 0,2 (◆), 1 (▲), 5 (○), 10 (×) мМ Na⁺

Присутствие посторонних катионов в пробе вплоть до 1 мМ не оказывает влияния на концентрирование НДМГ на колонке Nucleosil 10 SA 4x50 мм при объеме пробы 100 мл. С увеличением объема сорбента повышается пороговое значение концентрации ионов, которое не влияет на концентрирование диметилгидразина. То есть, при наличии свободных сульфогрупп на поверхности катионообменника катионы натрия сорбируются, не препятствуя концентрированию диметилгидразина, а при их отсутствии вытесняют НДМГ. Следовательно, для устранения влияния катионов щелочных металлов при содержании более 1 мМ достаточно увеличить объем сорбента для концентрирования. Либо использовать дополнительную пробоподготовку, которая позволит устранить или нивелировать мешающее влияние матрицы. При определении НДМГ в почвах обычно применяется щелочное разложение и перегонка НДМГ с водяным паром, в результате которой устраняется влияние матрицы пробы [20].

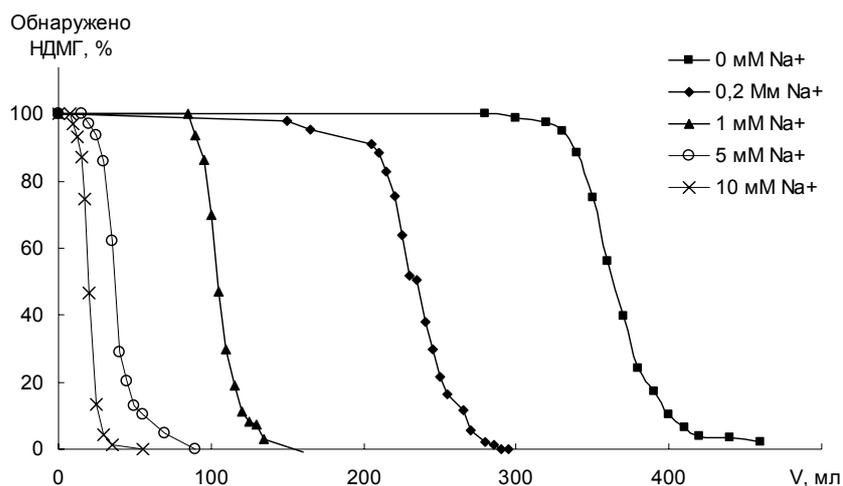


Рис.3. Диаграммы сорбции НДМГ на колонке Nucleosil 10 SA 4×50 мм на фоне 10 мМ уксусной кислоты (■) и в присутствии 0,2 (◆), 1 (▲), 5 (○), 10 (×) мМ Na⁺

Оптимизация условий ионохроматографического определения НДМГ.

Подвижные фазы, применяемые в одноколоночной ионной хроматографии, должны иметь буферную емкость, достаточно высокую ионную силу, быстро и селективно разделять определяемые ионы и обладать низким фоновым сигналом для достижения максимальной чувствительности. При разделении слабых оснований необходимо выполнение условия: $pH = pK - 1,5$. Для амперометрического детектирования подходят такие неэлектроактивные соли, как ацетаты, фосфаты, цитраты и перхлораты.

В качестве подвижной фазы использовали аммонийно-ацетатный буфер с pH 5,4. В работах [19, 20] было показано, что в этом случае система имеет лучшие характеристики по разделению компонентов и чувствительности их определения. Для хроматографического разделения компонентов пробы более концентрированной подвижной фазой использовали колонку Nucleosil 10 SA размерами 4x250 мм. В таблице 3 представлены основные параметры хроматографического определения НДМГ с использованием 100 и 150 мМ ацетата аммония. Из данных таблицы 3 видно, что 100 мМ раствор ацетата аммония обеспечивает больший коэффициент емкости по НДМГ, и такой состав подвижной фазы предпочтительно использовать для более эффективного разделения компонентов пробы.

Таблица 3. Основные хроматографические параметры удерживания НДМГ в зависимости от состава подвижной фазы. Колонка Nucleosil 10 SA, 4x250 мм. Скорость подачи элюента 1 мл/мин

ПФ	t_R , мин	t_R' , мин	k'	N, тг/кл
150 мМ ацетата аммония	8,9	6,4	2,56	2461
100 мМ ацетата аммония	11,2	8,7	3,48	2557

Динамическое on-line концентрирование. On-line концентрирование проводили в диапазоне концентраций 0,00005 – 0,002 мг/л НДМГ на фоне 10 мМ уксусной кислоты. Катионообменники Диапак и Диасорб Сульфо позволяют определять НДМГ только на уровне контроля качества вод рыбо-хозяйственного

назначения (0,5 мкг/л) при объеме пробы 100 мл, и для наилучшего разделения компонентов пробы после концентрирования требуется замена подвижной фазы на 100 мМ аммонийно-фосфатный буферный раствор с рН 5,2. Линейность градуировочных графиков соблюдается в диапазоне 0,5 - 2 мкг/л НДМГ (табл. 4). На основании полученных данных эти сорбенты не перспективны для дальнейшего использования.

Таблица 4. Основные метрологические характеристики определения НДМГ с динамическим on-line концентрированием. Вид зависимости $y=ax+b$

Параметры	Колонка		
	Nucleosil 10 SA	Диапак Сульфо	Диасорб-130-Сульфо
Коэффициент а	16,4 ± 0,5	9,7 ± 1,1	9,6 ± 0,7
Коэффициент b	-0,7 ± 0,2	*	-1,7 ± 0,9
R ²	0,9995	0,9965	0,9984
Диапазон линейности, мкг/л	0,05-2,0	0,5-2,0	0,5-2,0
S _r (n=3, P=0,95)	0,05	0,05	0,05
S _{min} , мкг/л	0,02	0,2	0,2

* Вид зависимости $y=ax$.

Успешное определение ультрамалых концентраций 1,1-диметилгидразина реализуется при on-line концентрировании НДМГ на сорбенте Nucleosil 10SA. Основные хроматографические параметры определения диметилгидразина в этих условиях указаны в таблице 5. Уравнение прямой зависимости аналитического сигнала от объема пробы для концентрирования (0,001 мг/л НДМГ): $y = 0,0807x$, $R^2 = 0,9992$. Градуировочная зависимость линейна в изученном диапазоне концентраций, что свидетельствует об отсутствии разложения НДМГ на колонке. Предел обнаружения, рассчитанный по 3S-критерию, составил 0,02 мкг/л, что позволяет определять 1,1-диметилгидразин на ОДУ для вод хозяйственно-бытового назначения.

Таблица 5. Основные хроматографические параметры удерживания НДМГ после on-line концентрирования. Концентрация НДМГ в пробе 0,5 мкг/л. Объем пробы 100 мл. Скорость подачи элюента 1 мл/мин

Концентрирующая колонка	t _R , мин	t _R ['] , мин	k'	R _S	N, тг/кл
Nucleosil 10 SA	12,6	10,0	3,9	2,9	2540

С помощью предложенного подхода провели анализ синтетических образцов воды и проб природной воды с низким содержанием солей с добавкой НДМГ. Правильность разработанного подхода проверяли методом «введено-найдено».

Хроматограмма образца природной воды с добавкой 0,1 мкг/л НДМГ приведена на рис. 4. Результаты, представленные в таблице 6, демонстрируют, что предложенный подход позволяет проводить определение 1,1-диметилгидразина на уровне, необходимом для контроля качества вод хозяйственно-бытового назначения.

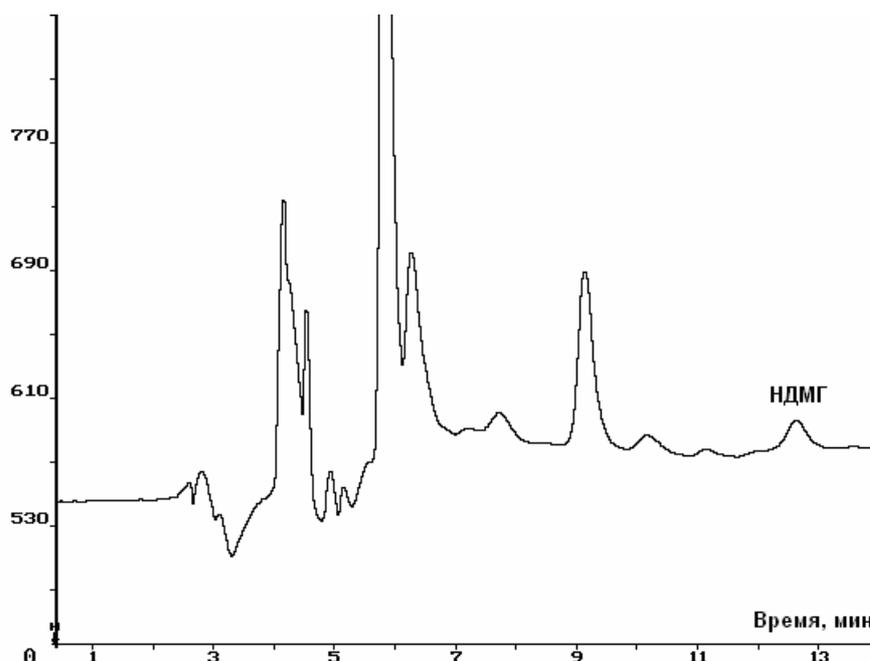


Рис. 4. Хроматограмма образца воды с добавкой 0,1 мкг/л НДМГ после on-line концентрирования на колонке Nucleosil 10 SA (4x50 мм). Разделяющая колонка Nucleosil 10 SA (4x250 мм) Элюент: 100 мМ ацетата аммония (pH 5,4). Скорость подачи элюента 1мл/мин

Таблица 6. Результаты проверки подхода методом «введено-найдено» (n=3, P=0,95)

Анализируемый образец	Введено НДМГ, мкг/л	Найдено НДМГ, мкг/л
Вода из скважины с содержанием солей 1,5 мМ	0,1	0,098±0,005
Синтетический образец, содержащий 1 мМ натрия	0,1	0,099±0,003

Список литературы

1. Экологические проблемы и риски воздействий ракетно-космической техники на окружающую природную среду. М: Анкил. 2000. 640 с.
2. Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. ГН 2.1.5.2307-07.
3. Потрохов В.К., Малинина А.М., Климова Н.И. Патент СССР № 262667G, приор. 02.11.1987. Бюл. изобр. 1987. №18.
4. Bailey L.C., Medwick T. Spectrophotometric determination of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine, separately or in admixtures. // Anal. Chim. Acta. 1966. V.35. P. 330-336.
5. Pinkerton M.K., Layer J.M., Diamond P., Thomas A. Colorimetric determination for 1,1-dimethylhydrazine in air, blood and water. // Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 1963. V.24. P.239.
6. Chen X., Xiang Y., Li Z., Tong A. Sensitive and selective fluorescence determination of trace hydrazine in aqueous solution utilizing 5-chlorosalicylaldehyde. // Anal. Chim. Acta. 2008. V.625. P.41-46.

7. Weeks R.W., Yasuda S.K., Dean B.J. Fluorescent detection of hydrazines via fluorescamine and isomeric phthalaldehydes. // *Anal. Chem.* 1976. V.48. P.159-161.
8. Collins G.E., Rose-Pehrsson S.L. Fluorescent detection of hydrazine, monomethylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine by derivatization with aromatic dicarbaldehydes. // *Analyst.* 1994. V.119. P.1907-1913.
9. Collins G.E., Rose-Pehrsson S.L. Sensitive, fluorescent detection of hydrazine via derivatization with 2,3-naphthalene dicarboxaldehyde. // *Anal. Chim. Acta.* 1993. V.284. P.207-215.
10. Madjumdar T.K., Geno P.W., Yau A. Determination of daminozide residues at very low levels in fruits by gas chromatography/mass spectrometry. // *J. Agric. Food. Chem.* 1995. V.43. №6. P.1421-1423.
11. Филиппов О.А., Тихомирова Т.И., Смоленков А.Д., Цизин, Г.И., Формановский А.А., Шпигун О.А. Выбор условий динамического сорбционного концентрирования производного "гептила" – *N,N*-диметилгидразона 4-нитробензальдегида на гидрофобизированном кремнеземе. // *Журн. аналит. химии.* 2001. Т.56. №12. С. 1238-1244.
12. Денисов А.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Определение 1,1- диметилгидразина методом обращенно- фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием в виде производного с 4- нитробензальдегидом. // *Журн. аналит. химии.* 2004. V.59. №5. С. 511-515.
13. Wright D. New method for the determination of 1,1-dimethylhydrazine residues in apples and peaches. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1987. V.70. №4. P.718-720.
14. Cathum S., Atamaniouk V., Ananieva L. Gas chromatography – mass spectrometric determination of unsymdimethylhydrazine in soil and water by derivatization with aromatic aldehydes. // *Can. J. Chem. Eng.* 1998. V.76. № 3. P. 680-686.
15. Rutschmann A., Buser R. Determination of daminozide and dimethylhydrazine residues in Swiss apple juice concentrates using gas chromatography -mass spectrometry. // *J. Agric. Food. Chem.* 1991. V.39. №1. P. 176-181.
16. Сотников Е.Е., Московкин А.С. Газохроматографическое определение несимметричного диметилгидразина в воде // *Журн. аналит. химии.* 2006. Т.61. №2. С.139-142.
17. Евгеньев М. И., Евгеньева И. И., Гармонов С. Ю., Исмаилова Р. Н., Победимский Д. Г. Экстракционно-хроматографическое определение 1,1-диметилгидразина в водах с диодно-матричным детектированием // *Заводская лабор.* 2000. Т.66. №7. С.14-16.
18. Евгеньев М.И., Евгеньева И.И., Гармонов С.Ю., Исмаилова Р.Н., Белов П.Е. Сорбционно-хроматографическое определение гидразина и его замещенных в воздухе. // *Журн. аналит. химии.* 2006. Т.61. №5. С.492-498.
19. Smolenkov A.D., Pirogov A.V., Shpigun O.A. Separation of hydrazine and its methyl derivatives by ion chromatography with amperometric detection. // *Anal. Sci.* 2001. V.17 (Suppl.). P.i769-i772.
20. Smolenkov A.D., Krechetov P.P., Pirogov A.V., Koroleva T.V., Bendryshev A.A., Shpigun O.A., Martynova M.M. Ion chromatography as a tool for the investigation of unsymmetrical hydrazine degradation in soils. // *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 2005. V. 85. No.14. P. 1089-1100.
21. Newsome W.H., Collins P. An improved method for the determination of 1,1-dimethylhydrazine in apple and cherry products. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 1988. V.34. P. 155-166.

22. Abdou H. M., Medwick T., Bailey L. C. Determination of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine, separately or in mixtures, by high-pressure liquid chromatography. // *Anal. Chim. Acta.* 1977. V.93. P. 221 -226.

23. Олиферова Л.А., Статкус М.А., Цизин Г.И., Ван Д., Золотов Ю.А. Проточные сорбционно-жидкостно-хроматографические методы анализа. // *Журн. аналит. химии.* 2006. Т. 60. №5. С. 454-480.

Затираха Алла Валерьевна – аспирант 3 года обучения кафедры аналитической химии МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, тел.: +7 (495) 939-4608

Смоленков Александр Дмитриевич – к.х.н., доцент, химический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова, тел.: +7 (495) 939-4608

Елфимова Яна Андреевна – студент 5 курса химического факультета, МГУ им. М.В.Ломоносова

Шпигун Олег Алексеевич – член-корр. РАН, д.х.н., профессор, химический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова

Zatirakha Alla V. – PhD student, 3rd year. M.V. Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, e-mail: zatirakha@rambler.ru

Smolenkov Alexander D. – PhD, associate professor, M.V. Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, e-mail: smolenkov@bk.ru

Elfimova Yana A. – diploma student, Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University

Shpigun Oleg A. – PhD, corresponding member of Russian Academy of Science, professor Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University



УДК 543:537.228.1:547.551

Сорбция легколетучих соединений винограда на тонких пленках сорбентов различной природы

Кучменко Т.А., Лисицкая Р.П.

ГОУ ВПО «Воронежская государственная технологическая академия», Воронеж

Поступила в редакцию 20.04.2009 г.

Аннотация

Изучена сорбция паров сложной смеси органических соединений различных классов (органические кислоты и их эфиры, спирты и лактоны, альдегиды, кетоны, углеводороды, терпены) на пленках – модификаторах электродов пьезокварцевого резонатора. В качестве матрицы, генерирующей аромат, выбран виноград, модификаторы электродов – пленки традиционных газохроматографических сорбентов и специфических реагентов. На основании кинетических и количественных параметров сорбционного взаимодействия в системах с легколетучими веществами винограда разработан способ оценки качества виноградного и виноградно-яблочного сока по аромату. Оптимизированы условия анализа сока с применением массива масс-чувствительных сенсоров. Визуализация аналитического сигнала массива сенсоров в виде масс-ароматограмм позволяет быстро сопоставлять результаты, находить сходства и различия в поведении сорбционных систем и оценить качество тестируемых проб.

Ключевые слова: масс-чувствительные сенсоры, сорбция, легколетучие соединения винограда, анализ по аромату

The absorption of vapors of the complex mixture of the organic compounds of different classes (organic acids and their ethers, alcohols and lactone, aldehydes, ketones, hydrocarbons, terpenes) on the films - the modifiers of the electrodes of piezoelectric quartz crystal resonator is studied. As the matrix, which generates aroma, it is selected grapes, modifiers of electrodes - film of traditional gas-chromatographic sorbents and specific reagents. On the basis the kinetic and quantitative parameters of sorption interaction in the systems with the highly volatile substances of grapes is developed the method of evaluating the quality of grape and grape- apple juice according to the aroma. The conditions for the analysis of juice with the application of a massif of mass- sensitive sensors are optimized. The visualization of the analytical signal of the massif of the sensors in the form of masses-aromatogramm makes it possible to rapidly compare results, to find similarities and differences in the behavior of sorption systems and to estimate the quality of the tests.

Key words: mass- sensitive sensors, absorption, the highly volatile connections of grapes, analysis of the arom

Введение

Изучение сорбционных равновесий комплекса легколетучих соединений пищевых продуктов на границе раздела фаз газ – тонкая пленка сорбента, создание высокоселективных и емких модификаторов электродов пьезокварцевого резонатора

(ПКР) служат основой для разработки тест-способов оценки качества продуктов питания по одному из основных показателей – аромату.

Для суммарного определения соединений, формирующих аромат пищевого продукта, в методе пьезокварцевого микровзвешивания применяют массивы сенсоров, характеризующихся перекрестной чувствительностью к компонентам газовой фазы. Принципиальная возможность суммарного детектирования многокомпонентных газовых смесей зависит от правильного выбора модификаторов (сорбционных фаз) электродов ПКР.

Запах фруктов образуется из комплексного смешения множества летучих веществ. Аромат виноградного сока сложен, зависит от присутствия эфирных масел (метилантранилат – до 3,8 мг/кг), в которых идентифицированы органические кислоты (уксусная, масляная, валериановая, глиоксалева, лауриновая), эфиры уксусной, капроновой, каприловой, каприновой кислот, спирты и лактоны (этанол, бутанол, н-гексанол, изогексанол, гептанол, октанол, 2-фенилэтанол, ацетилметилкарбинол, фуранеол), альдегиды (2-гексеналь, бутаналь, ацетоксибутаналь, уксусный и муравьиный альдегиды), углеводороды (пентан, изопентан, 3-метилпентан, гексан, метилциклогексан, о- и п-этилтолуол, мирцен, лимонен и др.), терпены (линалоол, гераниол, β -ионон, α -терпинеол, нерол) [1]. В состав виноградного сока входят около 330 летучих ароматобразующих соединений. Химический состав многих сортов винограда включает более 80 углеводов, до 50 кислот, более 30 спиртов, 23 альдегида, 18 кетонов, более 10 эфиров, более 10 терпеноидов.

Сложность анализа запахов объясняется многими факторами, в частности: пределом обнаружения и селективностью современных методов анализа, зависимостью состава от неконтролируемых внешних факторов (температуры, качества почвы, климатических условий, сорта культуры).

Сенсорометрический анализ с применением масс-чувствительных пьезовесов решает задачу количественной оценки органолептических показателей, например, запаха, которая позволяет установить аутентичность и качество пищевых продуктов [2–6].

Цель исследования – изучение сорбционных равновесий легколетучих соединений аромата винограда на границе раздела фаз газ – тонкая пленка сорбента и создание массива масс-чувствительных сенсоров, позволяющих различать натуральный и искусственный аромат винограда.

Эксперимент

Изучена сорбция комплекса летучих соединений виноградного сока в статических условиях на пленках сорбентов – модификаторов Ag-электродов ПКР АТ-среза с собственной частотой колебаний 9–10 МГц (ОАО «Пьезо, Москва»). На электроды ПКР нанесены сорбенты, избирательно реагирующие с ароматобразующими компонентами равновесной газовой фазы (РГФ) над соком. В результате взаимодействия легколетучих компонентов с пленками сорбентов изменяется частота колебаний сенсоров (ПКР с пленкой сорбента). Массив сенсоров является измерительным элементом анализатора газов «МАГ-1» (ООО «СенТех»). Выходной сигнал (частота колебаний кварцевых пластин) массива сенсоров регистрировали и обрабатывали электронно-вычислительным комплексом, включающим микропроцессоры, компьютер и программу обработки данных.

Электроды ПКР модифицировали равномерным нанесением микрошприцем растворов сорбентов (концентрация 2,5–10 мг/см³) с последующим статическим испарением свободных растворителей в сушильном шкафу или эксикаторе над слоем осушителя. Оптимальный диапазон термической стабильности сорбентов 40–50 °С, время термической обработки 20–30 мин. Полноту удаления растворителя подтверждали постоянством частоты колебания сенсора $F_{пл}$.

Модификаторы электродов ПКР выбирали по критерию чувствительности на основе сформированного банка данных (методы пьезокварцевого микровзвешивания, экстракционного концентрирования, газовой хроматографии) [7–10]. В качестве модификаторов электродов изучены полимерные фазы, различающиеся полярностью, а также специфические сорбенты: полиэтиленгликоль ПЭГ-2000 (ПЭГ-2000), полиэтиленгликолядипинат (ПЭГА), поливинилпирролидон (ПВП), триоктилфосфиноксид (ТОФО), апиэзон L (ApL), апиэзон N (ApN), тритон X-100 (ТХ-100), полистирол (ПС), пчелиный воск (ПчВ), пчелиный клей (ПчК), краун-эфир – дициклогексан-18-краун-6 (КрЭ) [6]. Оптимизировали массу наносимой пленки-модификатора [11, 12], которая составляет 9–12 мкг.

Сок в бюксе выдерживали 10–15 мин, после установления равновесия между газовой и жидкой фазами через полиуретановую мембрану отбирали шприцем оптимальный объем РГФ (5 см³). Пробу быстро инжесктировали в ячейку детектирования измерительной системы. Одновременно фиксировали частоту колебаний всех сенсоров в массиве (ΔF_c) в виде выходной кривой с дискретностью точек опроса в 5 с (программное обеспечение «МАГ СОФТ» ООО «Квадро Софт», ООО «Сенсорные технологии»). Аналитическим сигналом анализатора газов «МАГ-1» является многомерная матрица откликов сенсоров, визуализированная в виде временной «лепестковой» диаграммы – масс-ароматограмма.

Сопоставление масс-ароматограмм РГФ исследуемых проб со стандартами проводили с применением компьютерной программы (язык программирования Turbo Pascal на платформе NET 2.0 и базы данных MS SQL Server, ООО «Квадро Софт»). В качестве критерия идентичности аромата проб виноградного или виноградно-яблочного сока выбрана степень соответствия аналитических сигналов массива сенсоров, полученных для стандартных и анализируемых проб при одном режиме функционирования измеряемого комплекса. Оценка соответствия стандарту принимается при совпадении аналитических сигналов более чем на 80 %; «соответствует условно» – при совпадении 65–80%; «не соответствует» - менее 65 %.

В качестве матрицы, генерирующей аромат винограда, выбраны: натуральный свежеприготовленный сок винограда столовых сортов «Кишмиш» – стандарт 1, «Кардинал» – стандарт 2, красного винограда «Молдова» (стандарт 3), натуральный виноградно-яблочный сок (розовый виноград) в объемном соотношении 70:30 (стандарт 4); искусственный ароматизатор «Виноград», ООО «Теско Пак», Украина (стандарт 5); соки и нектары российских производителей категорий: 100 % восстановленный осветленный виноградный сок (пробы 1, 2); 100 % восстановленный виноградно-яблочный сок (пробы 3, 4); виноградный нектар (красный виноград) – проба 5; виноградно-яблочные нектары с содержанием сока до 50 % (пробы 6–8).

Обсуждение результатов

Выбор оптимальных пленок-модификаторов. Химический состав виноградного сока сложен, представлен веществами различной природы и

полярности (углеводороды, спирты, альдегиды, эфиры, кислоты, терпены и др.). Задача распознавания и сравнения состава многокомпонентной смеси веществ решается с применением массива сенсоров, модифицированных, по меньшей мере 6-тью пленками сорбентов различных групп полярности.

Большая часть компонентов аромата относится к полярным соединениям, поэтому нами изучены сенсоры на основе полярных (ПЭГ-2000, ПЭГА, ПВП, ТХ-100, АрL, АрN), а также специфических сорбентов (ТОФО, КрЭ). Малополярные вещества удерживаются неполярными сорбентами (ПС, ПчВ). Прополис по природе и химическому составу нельзя отнести к какой-либо группе сорбентов. Однако, учитывая общность химического состава и происхождения с ПчВ, а также наличие в прополисе аминокислот, белков, углеводов, других соединений и элементов, позволяет охарактеризовать этот сорбент как промежуточный между малополярными и среднеполярными [11].

Вода оказывает наибольшее мешающее влияние на сигнал масс-чувствительных сенсоров. Выбор оптимальных пленок-модификаторов обусловлен высокой сорбционной способностью некоторых из них (ПЭГ-2000, ПЭГА, ТХ-100) по отношению к парам воды. Пленки на основе данных соединений, сорбируя воду, практически не восстанавливаются, десорбцию необходимо проводить в сушильном шкафу в течение 15–20 мин [6]. Пленки на основе апиезонов L и N нестабильны, претерпевают таутомерные изменения. Выбраны оптимальные пленки-модификаторы электродов ПКР для определения незначительных изменений состава аромата виноградного сока – ТОФО, ПчВ, ПчК, ПВП, и КрЭ, имеющие стабильный и воспроизводимый сигнал; время полной сорбции легколетучих компонентов аромата не превышает 30 с, десорбции – 120 с.

Кинетические и количественные параметры сорбции легколетучих соединений винограда. Информативной характеристикой функционирования сенсора в многокомпонентных газовых смесях является хроночастотограмма, которая фиксирует отклик масс-чувствительных сенсоров во времени и позволяет оценить избирательность, скорость и эффективность взаимодействия компонентов в сорбционной системе.

Закрытая ячейка с инжекторным вводом пробы сорбатов относится к интегральным детектирующим устройствам, однако, как показывают многочисленные исследования, доминирующее влияние на форму хроночастотограммы сенсоров оказывает природа пленки-модификатора и сорбатов. Полученные хроночастотограммы (рис. 1, а) сорбции легколетучих соединений столового красного винограда «Молдова» позволяют выделить некоторые особенности. Сорбционные процессы на пленках-модификаторах протекают с большой скоростью, время максимальной сорбции τ_{\max} составляет 10–15 с, в системе не наблюдается самопроизвольной десорбции. Наиболее чувствительны к терпеноидам, алифатическим (C_3 – C_8) и ароматическим спиртам (бензиловому и 2-фенилэтиловому) и их эфирам, а также сложным эфирам уксусной, капроновой, каприловой кислот пленки на основе ТОФО, ПВП и КрЭ [1]. Кроме указанных соединений в состав ароматобразующих компонентов столовых и технических сортов винограда входят углеводороды, которые избирательно сорбируются пленками на основе ТОФО.

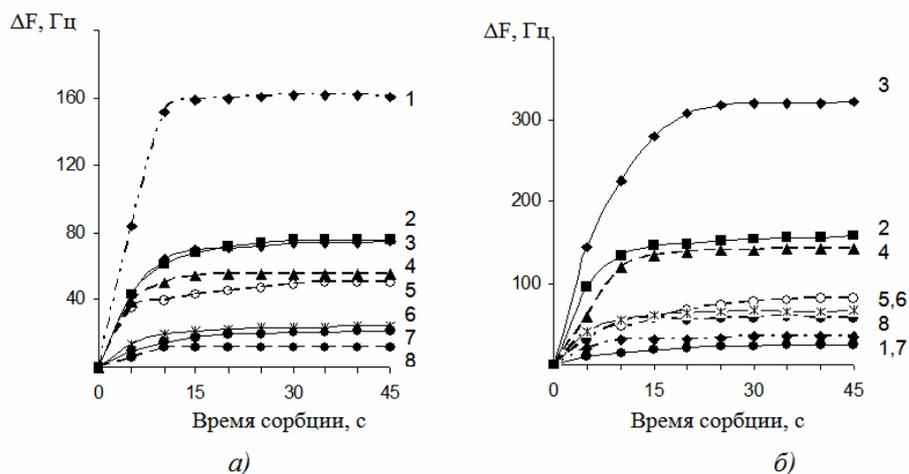


Рис. 1. Хроночастотограммы сенсоров на основе смесей ТОФО и ПС (1), КрЭ (2), ПВП (3), ТОФО и ПчК (4), ПчК (5), Ар L (6), ПчВ (7) и Ар N (8) в аромате натурального виноградного сока сортов «Молдова» (а) и «Кишмиш» (б)

Хроночастотограммы сенсоров при сорбции легколетучих соединений аромата белого винограда сорта «Кишмиш» (рис. 1, б) отличаются высокой эффективностью процессов на большинстве пленок сорбентов, что говорит о другом качественном и количественном составе ароматобразующих соединений в равновесной газовой фазе. Большинство сортов столового винограда «Кишмиш» являются гибридами сорта Мускат и других сортов винограда [13]. Легким мускатным ароматом характеризуется и сорт столового винограда «Кардинал». Аромат мускатных сортов определяется присутствием терпеновых спиртов (линалоол, гераниол, нерол, α -терпинеол), алифатических (C_6 – C_9) и ароматических спиртов (бензиловый и 2-фенилэтанол) и их эфиров [1], заметно усиливающих аромат винограда. Пленки на основе ПВП, а также ТОФО с ПС и КрЭ наиболее чувствительны к аромату данного виноградного сока. Пленки на основе ПчК и ПчВ характеризуются минимальной чувствительностью к легколетучим соединениям сока. Сорбция длится более 60 с на всех пленках-модификаторах.

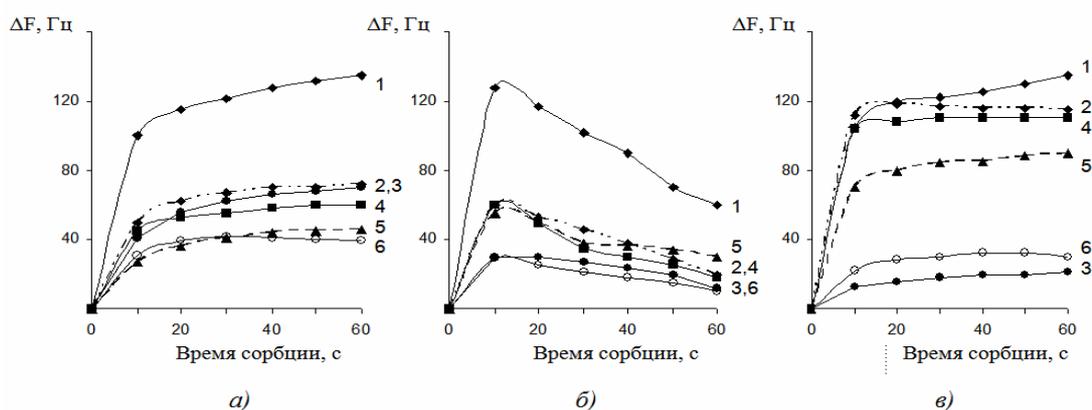


Рис. 2. Хроночастотограммы сенсоров на основе ПВП (1), ТОФО и ПС (2), ПчВ (3), КрЭ (4), ТОФО и ПчК (5), ПчК (6) в аромате натурального винограда Кардинал (а), виноградно-яблочного сока (б) и искусственного ароматизатора «Виноград» (в).

На основании кинетических и количественных параметров сорбционного взаимодействия в системах со сложными смесями легколетучих веществ винограда рекомендованы 6 сорбентов различной полярности и структуры для модифицирования электродов ПКР и формирования массива сенсоров с целью идентификации натурального аромата винограда.

Кинетика сорбции летучих соединений аромата винограда на выбранных пленках сорбентов, показывает существенное различие качественных и количественных параметров сорбции соединений, определяющих натуральный (рис. 2, *а*) и искусственный (рис. 2, *в*) аромат винограда, в парах смешанного виноградно-яблочного аромата наблюдается самопроизвольная десорбция (рис. 2, *б*).

Анализ аромата виноградного сока предполагает несколько критериев оптимизации условий функционирования массива сенсоров, в том числе количество откликов каждого сенсора и их расположение в суммарной матрице сигналов.

Визуализация аналитического сигнала массива сенсоров в виде масс-ароматограмм позволяет быстро сопоставлять результаты, находить сходства и различия в поведении сорбционных систем. Оценена метрологическая надежность суммарного аналитического сигнала газоанализатора в смеси легколетучих веществ аромата винограда. Установлено, что погрешность воспроизводимости масс-ароматограммы не превышает 8 %.

В качестве проб-стандартов выбраны свежеприготовленный виноградный сок разных сортов, виноградно-яблочный сок и искусственный ароматизатор «Виноград». Полученные масс-ароматограммы приняты за стандарты для распознавания натурального и искусственного аромата (рис. 3).

Масс-ароматограмма РФФ винограда сорта «Кишмиш» отличается от масс-ароматограмм РФФ других сортов столового винограда большими значениями аналитического сигнала массива сенсоров и, как следствие, более широкими «лепестками» в тимплете (рис. 3, *а*). Масс-ароматограммы столового красного винограда «Кардинал» и белого «Кишмиш» (рис. 3, *б*) имеют общую геометрию. Различие наблюдается в количественном соотношении терпеноидных соединений, органических кислот, спиртов и эфиров: мускатный аромат винограда «Кишмиш» выражен в два раза интенсивнее, чем аромат винограда «Кардинал». Аромат винограда столового сорта «Молдова» отличается от аромата «Кардинала» и «Кишмиш» по качественному составу (предположительно, большое содержание кислородсодержащих углеводов).

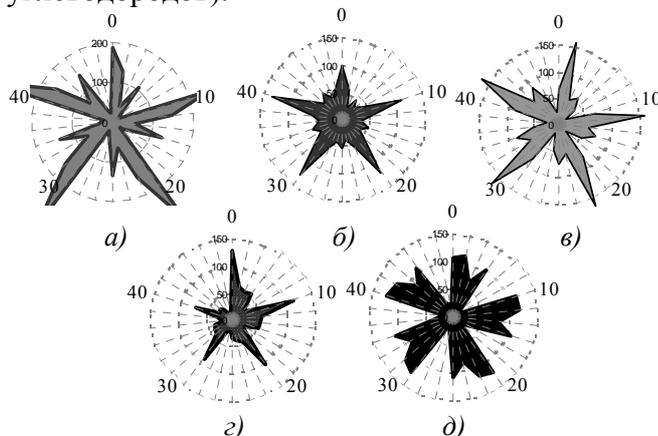


Рис. 3. Масс-ароматограммы проб-стандартов: виноград «Кишмиш» (*а*), виноград «Кардинал» (*б*), виноград «Молдова» (*в*), виноградно-яблочный сок (виноград «Кардинал») (*г*), искусственный ароматизатор «Виноград» (*д*)

Правильный выбор набора сенсоров и алгоритмов регистрации и формирования суммарного аналитического сигнала позволил установить тонкие отличия в аромате сока различных сортов винограда.

Масс-ароматограмма РГФ искусственного ароматизатора «Виноград» имеет иную геометрию (рис. 3, д). Это свидетельствует о присутствии в РГФ ароматизатора веществ, нехарактерных для природного концентрата ароматобразующих компонентов.

В идентичных условиях проведено тестирование различных образцов виноградного и виноградно-яблочного сока и нектара, приобретенных в розничной сети, с применением анализатора газов «МАГ-1». Масс-ароматограммы РГФ анализируемых проб представлены на рис. 4.

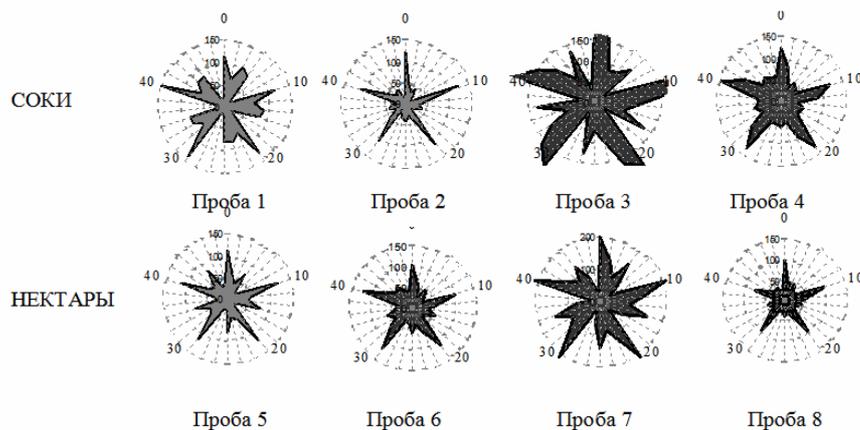


Рис. 4. Масс-ароматограммы образцов 100 % восстановленного виноградного (пробы 1, 2), виноградно-яблочного (пробы 3, 4) сока и виноградного (проба 5) и виноградно-яблочного (пробы 6–8) нектара

Полученные результаты позволяют сделать выводы:

1. Сорбция летучих соединений винограда на пленках сорбентов сформированного массива сенсоров протекает интегрально. Однако кинетические и количественные параметры сорбции на отдельных сорбентах позволяют различить аромат искусственного и натурального комплекса ароматобразующих веществ винограда.

2. При анализе проб 100 %-го восстановленного виноградно-яблочного сока и виноградно-яблочного нектара можно выделить, по меньшей мере, 2 образца (пробы 3 и 7), содержащих искусственный ароматизатор. В данных пробах присутствуют вещества, которых нет в исходном сырье, либо ароматобразующие соединения присутствуют в концентрациях, нехарактерных для подлинного виноградного сока. Вероятно, при производстве сока для усиления аромата натурального продукта добавлен ароматизатор «Виноград».

3. Масс-ароматограммы проб 2, 5 и 8 позволяют говорить об отсутствии фальсификации введением ароматизатора и соответствии натуральному виноградному соку, изготовленного преимущественно из сортов красного винограда (соответствие стандарту 2, б).

4. Для производства виноградного сока фальсификация продукта добавлением искусственного ароматизатора менее характерна, чем при изготовлении смешанных соков и нектаров. Очевидно, основным сырьем в производстве смешанных соков является яблочный концентрат, а восстановление виноградного аромата производится введением искусственных ароматизаторов.

Результаты анализа представлены в таблице.

Таблица. Результаты анализа сока и нектара на основе винограда

Проба	Результаты анализа		
	№ пробы	Соответствие стандарту «виноградный сок» или «виноградно-яблочный сок»	Соответствие стандарту «искусственный ароматизатор»
На основе винограда	1	± (соответствует условно)	±
	2	соответствует стандарту	не соответствует
	5	соответствует стандарту	не соответствует
На основе винограда и яблока	3	не соответствует	соответствует
	4	соответствует	не соответствует
	6	± (соответствует условно)	±
	7	не соответствует	соответствует
	8	соответствует	не соответствует

Заключение

Изучена кинетика сорбции легколетучих соединений винограда на границе раздела фаз газ – тонкая пленка сорбента. Оптимизированы условия функционирования массива сенсоров на основе пленочных модификаторов электродов ПКР. Установлены некоторые закономерности сорбции комплекса легколетучих соединений, определяющих натуральный и искусственный аромат винограда.

На основе полученных данных разработан тест-способ оценки качества виноградного сока и нектара по аромату с целью установления грубой фальсификации путем добавления искусственных ароматизаторов с применением анализатора газов «МАГ-1». Предлагаемый подход к объективной оценке аромата соков и напитков может быть рекомендован разработчикам новых видов продукции, для контроля технологических процессов, ассортиментной идентификации продуктов, соответствия их принятым нормам.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере в рамках программы «СТАРТ-05».

Список литературы

1. Родопуло А. Ароматобразующие вещества винограда и виноградного сока // Виноделие и виноградарство. 1987. № 4. С. 53–55.
2. Cao Zh, Xu D., Jiang Jian-Hui. Mimicking the olfactory system by a thickness-shear-mode acoustic sensor array // Anal. Chim. Acta. 1997. V. 335, № 1–2. P. 117–125.
3. Власов Ю.Г., Ермоленко Ю.Е., Легин А.В. и др. Мультисенсорные системы для анализа технологических растворов // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54, № 5. С. 542–546.
4. Легин А.В., Рудницкая А.М., Макарычев-Михайлов С.М. Мультисенсорные системы типа «электронный язык» для контроля качества фруктовых соков и напитков // Сенсор. 2002. № 1. С. 2–4.

5. Коренман Я.И., Кучменко Т.А. Подходы к анализу пищевых продуктов. Разработка масс-чувствительных сенсоров // Рос. хим. журн. 2002. Т. 46, № 4. С. 34–42.
6. Кучменко Т.А., Лисицкая Р.П., Коренман Я.И. и др. Применение пьезосенсоров для анализа апельсинового сока // Сенсор. 2004. № 1. С. 46–52.
7. Пецев Н., Коцев Н. Справочник по газовой хроматографии. М.: Мир, 1987. 264 с.
8. Кучменко Т.А. Применение метода пьезокварцевого микровзвешивания в аналитической химии. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. технол. акад., 2001. 280 с.
9. Торгов В.Г., Дроздова М.К., Николаева И.В. и др. Алифатические Р- и N-оксиды как эффективные экстрагенты для концентрирования фенола // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50. № 6. С. 618–623.
10. Коренман Я.И., Лисицкая Р.П., Калач А.В. Экстракционное концентрирование оксидами триоктиламина и триоктилфосфина при определении дигидроксибензолов // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54. № 5. С. 474–478.
11. Кучменко Т.А. Метод пьезокварцевого микровзвешивания в газовом органическом анализе. Дис...д-ра. хим. наук. Воронеж, 2003. 473 с.
12. Кучменко Т.А., Лисицкая Р.П. Микровзвешивание паров анилина на пленках алкилоксидов в статических условиях // Сенсор. 2002. № 3. С. 35–40.
13. Трошин Л.П., Радчевский П.П., Мисливский А.И. Сорты винограда юга России. Краснодар: РИЦ «Вольные мастера», 2001. 192 с.

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

Лисицкая Раиса Павловна – к.т.н., доц. кафедры аналитической химии ГОУ ВПО «ВГТА», Воронеж, тел. (4732) 55-07-62

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

Lisitskaya Raisa P. – candidate in technical sciences, the docent of analytical chemistry department of Voronezh state technological academy, Voronezh, e-mail: lisitskaya.raisa@mail.ru



УДК 543.544.5.068.7:547.92

Хроматографический контроль качества яичной продукции: определение холестерина в желтке

Гостищев И.А., Вострикова С.М., Шапошников А.А.,
Дейнека Л.А., Дейнека В.И.

Белгородский государственный университет, Белгород

Поступила в редакцию 10.09.2008 г.

Аннотация

В работе предложен простой, быстрый и надежный метод определения холестерина в желтке куриных яиц, использующий простую экстракцию холестерина из желтка ацетоном и последующее количественное определение с использованием обращено-фазовой ВЭЖХ в неводных подвижных фазах с рефрактометрическим детектированием. Рассмотрены особенности подготовки пробы и хроматографического анализа. Метод использован для определения содержания холестерина в желтке куриных яиц и другой домашней птицы. Установлено, что обычно концентрация холестерина в желтке куриных яиц реализуемых на рынке Белгорода, находится в пределах от 8 до 20 мг на 1 г желтка.

Ключевые слова: холестерол, определение, желток куриных яиц, обращено-фазовая ВЭЖХ

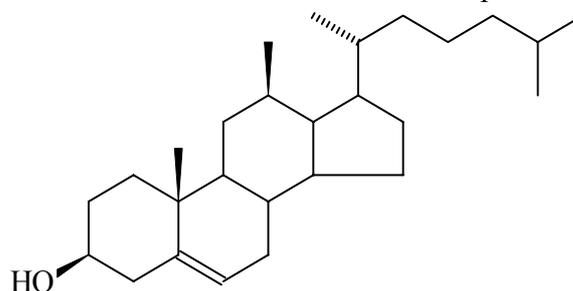
A simple not time consuming as well as reliable method of eggs yolk cholesterol quantification has been proposed. The method includes extraction with acetone and reversed-phase HPLC in non-water mobile phases with refractive index detection. Particularities of sample handling and chromatographic determination were discussed. The method was applied for eggs yolk cholesterol determination; the latter being as high as 8 – 20 mg per 1 g of the yolk.

Key words: cholesterol, determination, hen's egg yolk, RP HPLC

Введение

Ограничение в суточном рационе человека на пищу, богатую холестерином, связано с ростом его концентрации и концентрации липопротеинов низкой плотности в крови, что усиливает риск заболевания сердечно-сосудистой системы [1]. К числу наиболее богатых холестерином продуктов относится желток куриных яиц, содержащий от 122 до 408 мг на одно яйцо со средним показателем около 220 мг [2]. Поскольку для лиц, склонных к коронарному заболеванию сердца, необходимо ограничение суточного потребления холестерина на уровне 150-300 мг, то желателно использование яичной продукции из которой удалено более 85 % холестерина [3]. Следовательно, разработка быстрых и надежных аналитических методов контроля содержания холестерина в продуктах питания весьма актуальна.

С начала прошлого века основными способами определения холестерина были варианты спектрофотометрических (фотометрических) методов. Но они предполагали предварительное химическое превращение холестерина, не имеющего характеристических полос в УФ- и видимой областях электромагнитного спектра.



Холестерол

Колориметрические методы включали обработку образцов концентрированной серной кислотой, уксусным ангидридом, трихлоруксусной кислотой, трихлоридом мышьяка, хлоридом железа и комбинациями этих реагентов [4, 5]. В дальнейшем с развитием теории и материальной базы хроматографии удалось добиться более высокой селективности и эффективности анализа [6 - 12]. Метод ВЭЖХ позволяет определять содержание как самого холестерина, так и его эфиров [11]. В большинстве работ по использованию метода ВЭЖХ при анализе липидных фракций используют омыление исходного материала, но по данным работы [12] омыление не приводило к статистически значимому различию результатов определения холестерина в желтке куриных яиц с данными, полученными без этой обработки.

Данная работа посвящена разработке простого и быстрого способа определения содержания холестерина в желтке куриных яиц и использованию разработанного метода для исследования продукции птицефабрик, частных хозяйств, а также полученной в результате эксперимента по целенаправленному увеличению накопления ксантофиллов в результате применения специальных кормовых добавок.

Эксперимент

В работе использовали хроматографическую систему, составленную из насоса Beckman 110B, крана дозатора Rheodyne 7215 с петлей объемом 20 мкл, рефрактометрического детектора R-401 (Waters Millipore). Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП Мультихром 1.5 (Ampersand Ltd. 2005). Подвижные фазы готовили смешиванием ацетонитрила и ацетона (ч.д.а.) в нужном соотношении; разделение и детектирование проводили при комнатной температуре.

Аналізу подвергали продукцию ряда белгородских специализированных и частных хозяйств, приобретенную на рынке, а также полученную в результате эксперимента по использованию кормовых добавок обогащенных ксантофиллами (в рациионе кур-несушек) [13].

Методика определения холестерина в желтке яиц

Хроматографические условия: колонка 250×4 мм, Диасфер-110-С18, 5 мкм; подвижная фаза: 12 об. % ацетонитрила в ацетоне, 1 мл/мин. Температура 18 – 25°С. Детектор рефрактометрический. Для градуировки отклика детектора использовали

серию (3 – 5) стандартных растворов холестерина в ацетоне в диапазоне $0,2 \div 1,5$ мг/мл.

Определение содержания холестерина: навеску желтка массой, $m = 1,25 \div 2,50$ г, разминали под слоем ацетона (20 мл) стеклянной палочкой в течение 5 – 10 мин. Раствор отделяли от осадка фильтрованием, осадок на фильтре отжимали от раствора, и промывали небольшим количеством ацетона; фильтрат доводили до метки в колбе объемом 25 мл ацетоном. Полученный раствор вводили в хроматограф при помощи крана дозатора с петлей 20 мкл, содержание холестерина определяли по площади соответствующего пика на хроматограмме.

Результаты и обсуждение

Предварительный анализ хроматограмм экстрактов яичного желтка показал, что пик, соответствующий холестеролу сопоставим по величине с пиками экстрагируемых вместе с ним триацилглицеролов при использовании не отличающегося высокой чувствительностью рефрактометрического метода детектирования, рис.1.

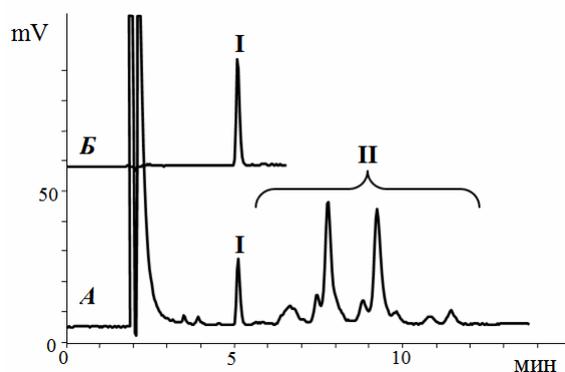
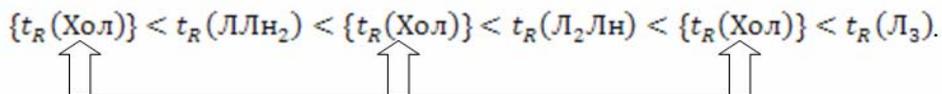


Рис.1. Разделение компонентов экстракта желтка куриных яиц
А – ацетоновый экстракт желтка; Б – стандартный раствор холестерина.
I – холестерол; II – триацилглицеролы

Поэтому нет необходимости в дополнительной обработке экстрактов для выделения и концентрирования или дериватизации холестерина. Единственная задача в таком случае состоит в выборе условий, при которых пик холестерина не накладывается на пики триацилглицеролов. Эта задача вполне разрешима, поскольку, как показывает анализ карты разделения [14], удерживание холестерина при изменении составов подвижной фазы изменяется медленнее по сравнению с удерживанием триацилглицеролов, рис.2, и могут быть выбраны условия разделения пика холестерина и пика триацилглицерола любой степени ненасыщенности. В частности, в соответствии с данными, представленными на рис.2, возможно изменение места элюирования холестерина в ряду с постоянным порядком элюирования триацилглицеролов, образованных линолевой (Л) и α -линоленовой (Лн) кислотами:



Следует отметить, что по нашим данным положение элюирования пика холестерина зависит от активности остаточных силанольных групп сорбента используемой колонки и может изменяться по мере «старения» или замены стационарной фазы, но возможность коррекции состава подвижной фазы для полного разделения соответствующих пиков всегда существует. Кроме того,

содержание триацилглицеролов с эквивалентными углеродными числами менее 42 (т.е. с удерживанием меньшим по сравнению с удерживанием трилинолеата, L_3) незначительно, что позволяет использовать достаточно широкий диапазон подвижных фаз – от порядка 10 – 12 об. % до больших концентраций ацетонитрила в ацетоне; ограничение при этом связано только с увеличением длительности хроматографирования и уменьшением растворимости жира желтка в подвижной фазе с ростом концентрации ацетонитрила.

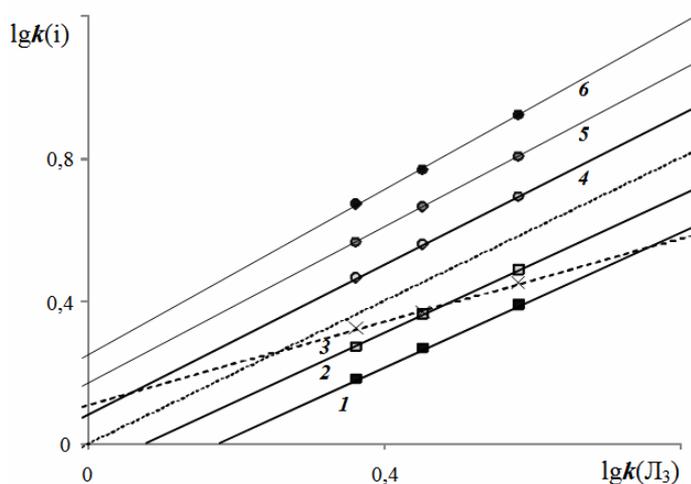


Рис.2. Карта разделения холестерина и некоторых триацилглицеролов
1 – α -Дилиноленоат-линолеат, $L_{n_2}L_1$; 2 – L_nL_2 ; 3 – холестерол;
4 – дилинолеат-олеат, L_2O ; 5 – LO_2 ; 6 – O_3 .

Особенность метода анализа, предлагаемого в данной работе, связана с тем, что при подготовке образца к хроматографированию используется экстракция холестерина ацетоном из липофильной матрицы, образованной рядом веществ, в том числе нерастворимым в ацетоне лецитином. На рис.3 показано изменение концентрации холестерина в исследуемом образце экстракта при изменении соотношения желток – ацетон. При увеличении соотношения (R) массы желтка к объему экстрагента (ацетона) более 0,1 концентрация холестерина в экстракте оказывается уменьшенной. При этом повторная экстракция из остатка на фильтре при $R = 0,1$ показала отсутствие остаточного холестерина в образце, что свидетельствовало о полной экстракции холестерина в первом объеме экстрагента.

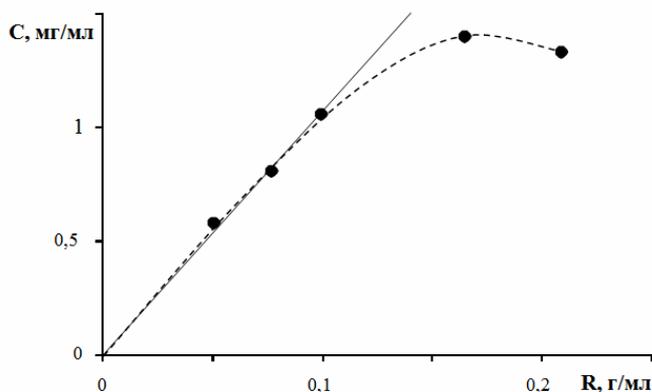


Рис.3. Концентрация холестерина в экстракте желтка при различных R - соотношениях желток/экстрагент

Появление максимума сопровождается еще более существенным изменением концентрации триацилглицеролов в экстракте, что свидетельствует о замене экстракции перераспределением веществ между двумя фазами при больших соотношениях желток / экстрагент.

Градуировочный коэффициент оставался постоянным, по крайней мере, в диапазоне 0,2 – 1,5 мг/мл; однако следует учесть, что для приготовления растворов холестерина в ацетоне желательно использовать небольшое нагревание на водяной бане (30 - 40°C). Кроме того в холодное время возможно выпадение из экстрактов желтка осадка, который также легко растворяется при нагревании на водяной бане. В целом, максимально допустимая относительная погрешность определения холестерина по предлагаемой методике не превышала 4.5 % ($P = 0,95$) при использовании в качестве результата среднего значения двух параллельных определений (для двух параллельных экстрактов образца яичного желтка), каждое из которых является средним значением двух параллельных результатов хроматографирования каждого экстракта. При этом основная погрешность определялась, по-видимому, неоднородностью гомогенизации желтка без использования механических устройств. Важно, что навески желтка необходимо брать в течение не более 5 мин после гомогенизации, вследствие испарения влаги с поверхности желтка. Изменение исходного образца можно частично предотвратить, закрывая поверхность полиэтиленовой пленкой.

Таблица 1. Концентрация холестерина в желтке куриных яиц, мг·г⁻¹

Месяц года	Источник продукции	Содержание холестерина	Среднее значение, число образцов
Декабрь (2007 г.)	Спец.хозяйства	8.3 – 12.2	9.9 (n = 4)
Январь (2008 г.)	Спец.хозяйства	10.1 – 17.1	12.7 (n = 5)
Февраль	Спец. хозяйство*	12.4 – 24.6	17.2 (n = 21)
	Частн.	14.2 – 20.3	17.6 (n = 5)
Март	Частн.	9.4 – 10.2	9.9 (n = 3)
Апрель	Спец.хозяйства	8.1 – 9.3	8.6 (n = 5)
Май	Спец.хозяйства	7.2 – 11.2	8.9 (n = 5)
	Частн.	10.6 – 11.1	10.8 (n = 3)
Июнь	Спец.хозяйства	7.9 – 10.5	9.3 (n = 3)
	Частн.	9.0 – 11.4	n = 2
Июль	Спец.хозяйства	8.0 – 12.5	9.8 (n = 5)
Август	Спец.хозяйства	6.9 – 9.8	8.1 (n = 3)
Сентябрь	Спец.хозяйства	9.3 – 14.6	12.6 (n = 3)
	Частн.	16.7 – 20.4	18.9 (n = 3)

* - хозяйство, специализирующееся на производстве племенной птицы

Результаты применения предложенной в работе методики определения холестерина представлены в табл.1 и табл.2. Для анализа приобретали на рынке образцы яиц специализированных и частных хозяйств; анализ образцов выполняли партиями примерно с интервалом в один месяц. Содержание холестерина в желтке куриных яиц составляло 8 – 20 мг на 1 г с заметным разбросом показаний (до 50 % и даже более) внутри партии, что связано, вероятно, с особенностью организма каждой курицы. Однако наблюдение в течение года проявило тенденцию к росту концентрации холестерол в зимний период, к заметному снижению этого показателя

в летний период, и с последующим ростом с наступлением осени. Наибольшее содержание холестерина было найдено в хозяйстве, специализирующемся на выращивании племенной птицы. В эксперименте, выполненном нами для получения продукции, обогащенной ксантофиллами, при 2-х – 3-х кратном росте концентрации суммы лютеина и зеаксантина заметных различий по накоплению холестерина не было обнаружено (среднее содержание 14,1 мг на 1 г желтка).

Таблица 2. Концентрация холестерина в желтке яиц домашних птиц, мг·г⁻¹

Птица	Месяц года	Содержание холестерина	Среднее значение, количество образцов
Голубь	Апрель	15.0 – 18.0	n = 2
Гусь	Апрель	12.9 – 18.0	14.6 (n = 4)
Индюк	Март	13.6 – 14.7	14.2 (n = 5)
Павлин	Апрель	14.2	n = 1
Перепел	Февраль	14.6 – 19.1	16.9 (n = 5)
Утка	Октябрь	12.0	n = 1
Фазан	Декабрь	11.8	n = 1
Цесарка	Декабрь	13.9	n = 1
	Май	9.0 – 10.4	9.6 (n = 3)

Высокое содержание холестерина, по-видимому, является необходимым для развития зародыша (основное назначение яиц в природе) и вряд ли может быть сильно уменьшено изменением диеты; экспериментально установлено, что даже введение ловастатина (гиполипидемическое средство, нарушающее ранние стадии синтеза холестерина в печени) не сильно сказывается на накоплении холестерина [15, 16]. Не удивительно, что наивысшее накопление холестерина было найдено именно в желтке яиц, предназначенных для выращивания племенной птицы. На это указывает и то, что примерно такой же уровень содержания холестерина характерен и для других (кроме кур) домашних птиц (табл.2), яйца которых не входят в обычную диету человека. В таком случае действительно эффективным методом улучшения качества яичной продукции может быть прямое удаление холестерина из желтка [17].

Заключение

Разработан простой и быстрый метод определения холестерина в желтке яиц с использованием экстракции липофильной фракции ацетоном с последующим использованием обращено-фазовой ВЭЖХ с рефрактометрическим детектированием в неводных подвижных фазах. Использование разработанного метода позволило определить уровень накопления холестерина в желтке нескольких десятков куриных яиц и яиц других домашних птиц и установить закономерности изменения этого показателя при смене времен года.

Список литературы

1. Chen Z.-Y., Jiao R., Ma K.Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods // J. Agric. Food Chem. - 2008. - V.56. - P. 8761–8773.

2. Vorlová L., Siegllová E., Kapříšková R., Kopřiva V. Cholesterol content in eggs during the laying period // *Acta Vet. Brno.* - 2001. - V.70. - P. 387-390.
3. Patent EP 0450769.
4. Lamb F.W., Mueller A., Beach G.W. Quantitative determination of ergosterol, cholesterol, and 7-dehydrocholesterol. // *Ind. Eng. Chem.* - 1946. - v.18, №3. - P.187-190
5. Shin Y.S., Lee J.C. Rapid spectrophotometric determination of total cholesterol in small amounts of blood and cerebrospinal fluid // *Anal. Chem.* - 1961. - v.33, №9. - P.1220-1222
6. Osman H., Yap Kwee Chin. Comparative sensitivities of cholesterol analysis using CG, HPLC and spectrophotometric methods // *Malay. J. Anal. Sci.* - 2006. - v.10, №2. - P. 205-210
7. Quaife M.L., Geyer R.P., Bolliger H.R. Rapid paper chromatographic microassay of free and ester cholesterol of blood // *Anal. Chem.* - 1959. - v.31, №5. - P. 950-955
8. Du M., Ahn D.U. Simultaneous analysis of tocopherols, cholesterol, and phytosterols using gas chromatography // *J. Food Sci.* - 2002. - v.67, №5. - P.1696-1700
9. Colin H., Guiochon G., Siouffi A. Comparison of various systems for the separation of free sterols by high performance liquid chromatography // *Anal. Chem.* - 1979. - v.51, №11. - P.1661-1666.
10. Manzi P., Panfili G., Pizzoferrato L. Normal and reversed-phase HPLC for more complete evaluation of tocopherols, retinoids, carotenes and sterols in dairy products // *Chromatographia.* - 1996. - v.43, №1/2. - P. 89-93.
11. Carroll R.M., Rudel L.L. Evaluation of a high-performance liquid chromatography method for isolation and of cholesterol and quantitation of cholesterol and cholesteryl esters // *J. Lipid Res.* - 1981. - v.22. - P.359-363.
12. Zhang R.-Z., Li L., Liu S.-T., Chen R.-M., Rao P.-F. An improved method of cholesterol determination in egg yolk by HPLC // *J. Food Biochem.* - 1999. - v.23. - P. 351-361.
13. Вострикова С.М., Шапошников А.А., Дейнека Л.А. Изучение накопления ксантофиллов в желтке куриных яиц при введении в диету специальных биологически активных добавок / Международная конференция «Достижения супрамолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнии» 22-25 сентября 2008 г. Москва, Россия. Сборник тезисов. С. 159. <http://www.mgavm.ru/>
14. В.И. Дейнека. Карта хроматографического разделения и инкрементные зависимости в методе относительного анализа удерживания в ВЭЖХ // *Ж. физ. химии.* - 2006. - Т.80, №3. - С. 511-516.
15. Rowghani E., Boostani A.D., Mahmoodian Fard H.R., Frouzani R. Efficacy of dietary fish meal on production performance and cholesterol content of laying hens // *Pak. J. Biol. Sci.* - 2007. - V.10. - P. 1747-1750.
16. Elkin R.G., Rogler J.C. Reduction of the cholesterol content of eggs by the oral administration of lovastatin to laying henst // *J. Agric. Food Chem.* - 1990. - V.38. - P. 1635-1641.
17. Awad A.C., Bennink M.R., Smith D.M. Composition and Functional Properties of Cholesterol Reduced Egg Yolk // *Poultry Sci.* - 1997. V.76. - P.649-653.

Гостищев Игорь Александрович – магистрант биолого-химического факультета БелГУ, Белгород, Моб.т. 89038843233

Gostishchev Igor A. – student of Biological-Chemical department of Belgorod State University, E-mail: dzelu@yandex.ru

Вострикова Светлана Михайловна – аспирант кафедры биохимии и фармакологии медицинского факультета БелГУ; Белгород, Моб.тел. 89202097399

Шапошников Андрей Александрович – доктор биологических наук, профессор, зав.кафедрой биохимии и фармакологии медицинского факультета БелГУ, Белгород, т. (4722)301411

Дейнека Виктор Иванович – д.х.н., доцент кафедры общей химии биолого-химического факультета БелГУ, Белгород, тел. (4722)-301159

Дейнека Людмила Александровна – к.х.н., доцент кафедры ОНАХ биолого-химического факультета БелГУ, Белгород, тел. (4722)-301159

Vostrikova Svetlana M. – post-graduate of Medical Department of Belgorod State University, E-mail: svetavostrikova@yandex.ru

Shaposhnikov Andrei A. – Dr.Sci.(Biology), Professor of Belgorod State University, E-mail: shaposhnikov@bsu.edu.ru

Deineka Viktor I. - Dr.Sci.(Chemistry), Associate professor of Belgorod State University; E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Deineka Ludmila A. – Ph.D.(Chemistry), Associate professor of Belgorod State University; E-mail: deineka@bsu.edu.ru



УДК 543.544 : 664.36

Газохроматографическое определение жирнокислотного состава заменителей молочного жира и других специализированных жиров

Нифталиев С.И., Мельникова Е.И., Селиванова А.А.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Поступила в редакцию 6.04.2009 г.

Аннотация

Проведен газохроматографический анализ жирнокислотного состава специализированных жировых смесей, применяемых в пищевой промышленности. Идентифицированы растительные масла, использованные для производства спецжиров – соевое, пальмовое, пальмоядровое, кокосовое и подсолнечное. Определены жировые композиции, наиболее полно соответствующие формуле гипотетически идеального жира.

Ключевые слова: жирнокислотный состав, газовая хроматография, пищевые жиры, заменители молочного жира, растительные масла, эталонный жир

Analyses of the fatty-acid compound in the specialized mixed fats applied in the food industry were carried out by the gas chromatography. The vegetable oils used for the manufacture of specialized fatty mixes were identified. It was established that fatty compositions consisted of soybean, palm, palm-kernel, coconut, sunflower-seed oils. The fatty compositions mostly corresponding to the formula of hypothetically perfect fat were determined.

Key words: fatty-acid compound, gas chromatography, food fats, substitutes of dairy fat, vegetable oils, hypothetically perfect fat

Введение

Ввиду сложности разделения жиров и масел на индивидуальные триглицериды, их химические особенности принято характеризовать жирнокислотным составом. Жирнокислотный состав индивидуальных растительных масел, применяемых в молочной промышленности, хорошо изучен. Однако, в последнее время при получении жиросодержащих продуктов все чаще применяют специализированные смеси растительных жиров, качественный и количественный состав которых неизвестен.

Нижний предел массовой доли молочного жира в жировой фазе спредов должен составлять 15 % [1], поэтому жирнокислотный состав заменителей молочного жира имеет весьма существенное значение для получения качественного продукта. Подбор немолочных жиров в производстве спредов осуществляют с учетом органолептических, структурно-механических и функционально-

технологических показателей, пищевой ценности и биологической эффективности таким образом, чтобы они наиболее полно соответствовали эталонному жиру.

Идентификация жирнокислотного состава заменителей молочного жира с последующим подбором рецептур спредов позволит вырабатывать продукт с улучшенными технологическими и функциональными характеристиками.

Фальсификация животных жиров, в т.ч. молочного, – одна из актуальных проблем масложировой отрасли. Замена какого-либо ингредиента приводит к изменению вкуса, аромата, текстуры, срока годности, биологической эффективности и других показателей продукта, нормируемых техническим регламентом [1]. Несмотря на многообразие технологий производства масложировой продукции с заменой жирами растительного происхождения, рецептуры и способы выработки подбираются, как правило, эмпирически, без учета требований современной науки о питании. Это определяет ряд отрицательных моментов: отклонения от традиционных органолептических свойств продукции и более низкая биологическая и питательная ценность аналогов.

Таблица 1. Жирнокислотный состав молочного жира и растительных масел, применяемых в молочной промышленности.

Жирные кислоты	Массовая доля жирных кислот, %						
	Молочный жир	Кокосовое	Пальмоядровое	Пальмовое	Подсолнечное низкоолеиновое	Кукурузное	Соевое
1	2	3	4	5	6	7	8
Масляная (C _{4:0})	2,0 – 5,0	–	–	–	–	–	–
Капроновая (C _{6:0})	1,0 – 3,5	0,4 – 0,6	до 0,8	–	–	–	–
Каприловая (C _{8:0})	0,4 – 2,0	5,8 – 10,2	2,4 – 6,2	–	–	–	–
Каприновая (C _{10:0})	0,8 – 6,5	4,5 – 7,8	2,0 – 5,0	–	–	–	–
Лауриновая (C _{12:0})	0,8 – 4,0	43,0 – 51,0	41,0 – 55,0	0,1 – 0,4	–	до 0,3	–

1	2	3	4	5	6	7	8
Миристиновая (C _{14:0})	7,6 – 14,6	16,0 – 21,0	14,0 – 18,6	0,5 – 2,0	до 0,2	до 0,3	до 0,2
Пальмитиновая (C _{16:0})	20,0 – 38,0	7,5 – 10,0	6,5 – 10,0	39,0 – 47,0	5,6 – 7,6	8,0 – 19,0	8,0 – 13,3
Пальмитолеиновая (C _{16:1})	1,5 – 4,0	0,2 – 1,5	до 0,1	до 0,6	до 0,3	до 0,5	до 0,2
Стеариновая (C _{18:0})	5,5 – 13,7	2,3 – 4,0	1,0 – 3,5	3,5 – 6,0	2,7 – 6,5	0,5 – 4,0	2,4 – 5,4
Олеиновая (C _{18:1})	16,7 – 37,6	5,0 – 10,0	12,0 – 19,0	36,7 – 43,0	14,0 – 39,4	19,0 – 50,0	17,7 – 26,1
Линолевая (C _{18:2})	1,0 – 5,2	1,0 – 2,5	0,8 – 3,4	6,5 – 12,0	18,3 – 75,0	34,0 – 62,0	49,8 – 57,1
Линоленовая (C _{18:3})	0,1 – 2,1	до 0,5	до 0,1	до 0,5	до 0,2	до 2,0	5,5 – 9,5
Арахидиновая (C _{20:0})	0,3 – 1,3	до 0,5	до 0,1	до 1,0	0,2 – 0,4	до 1,0	0,1 – 0,6
Гадолеиновая (C _{20:1})	–	до 0,5	до 0,1	–	до 0,2	до 0,5	до 0,3
Арахидоновая (C _{20:4})	0,2 – 1,7	–	–	–	–	–	–

1	2	3	4	5	6	7	8
Бегеновая (C _{22:0})	до 0,1	до 0,5	до 0,1	–	0,5 – 1,3	до 0,5	0,3 – 0,7
Лигноцериновая (C _{24:0})	–	до 0,5	до 0,1	–	0,2 – 0,3	до 0,5	до 0,4

Из всех природных жиров молочный по химическому составу является самым сложным и уникальным (табл. 1). Особенность жирнокислотного состава молочного жира – наличие низкомолекулярных короткоцепочечных жирных кислот (ЖК). Жиры немолочного происхождения в основном состоят из высокомолекулярных ЖК (табл. 1), поэтому для выбора оптимальной композиции заменителей жира, близкой по составу и свойствам к молочному, целесообразно использовать смесь жиров немолочного происхождения.

При производстве спредов используют подсолнечное, соевое, арахисовое, кукурузное, рапсовое, кокосовое, оливковое, пальмоядровое, пальмовое масла. Сравнительный жирнокислотный состав растительных масел, наиболее часто применяемых в молочной промышленности, приведен в табл. 1 [2 – 5].

Эксперимент

Объекты анализа – специализированные растительные жиры для молочной и кондитерской промышленности СОЮЗ 71, СОЮЗ 103, ЭКОНАТ 1203-34.

Пробоподготовку и определение жирнокислотного состава осуществляли в соответствии с ГОСТ 51483-99 «Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме», основанном на превращении триглицеридов жирных кислот в их метиловые эфиры и газохроматографическом анализе последних [6]. Метиловые эфиры имеют более низкую температуру кипения по сравнению с исходными кислотами, что значительно облегчает хроматографирование.

В колбу помещали навеску исследуемого образца жира массой 1 г и добавляли 10 см³ 1 % раствора метилата натрия в метаноле. Присоединяли к колбе обратный холодильник и нагревали до кипения на водяной бане в течение 15 мин, затем в колбу добавляли 13 см³ 1 М раствора серной кислоты в метаноле и нагревали еще 15 мин. После охлаждения под струей воды добавляли 25 см³ дистиллированной воды и содержимое колбы переносили в делительную воронку, экстрагировали 10 см³ гексана 2 раза. Объединенные экстракты промывали дистиллированной водой порциями по 7 см³ до полного удаления кислоты (контролировали метиловым оранжеевым). Экстракт сушили фильтрованием через слой безводного сульфата натрия и использовали для испытания. В качестве стандартной применяли смесь метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот.

Разделение и идентификацию компонентов заменителей молочного жира СОЮЗ проводили на газовом хроматографе HP 6890 Plus с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой DB-5ms размером 30 м × 0,25

мм (неподвижная фаза состоит из 5 % дифенила и 95 % диметилполисилоксана, толщина фазы 0,25 мкм). Газ-носитель – гелий (расход 1 см³/мин); программирование температуры: температура T₁ колонки 40 °С (выдержка 1 мин), T₂ от 40 до 210 °С, скорость 15 град/мин, T₃ от 210 до 280 °С, скорость 5 град/мин (20 мин); температура испарителя и интерфейса детектора 280 °С. Объем вводимой пробы составлял 0,2 мкл без деления потока (лайнер HP 5062-3587 splitless).

Анализ жировой композиции ЭКОНАТ 1203-34 выполняли на газовом хроматографе GC AGILENT Technology с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой Supelka размером 100 м × 0,25 мм. В качестве газа-носителя использовали гелий; осуществляли программирование температуры колонки (температура T₁ колонки 50 °С (выдержка 2 мин), T₂ от 50 до 150 °С (4 мин), T₃ 150 °С (4 мин), T₄ от 150 до 250 °С (7 мин), T₅ 250 °С (15 мин); температура испарения и детектора 230 °С; объем вводимой пробы – 1 мкл.

Обсуждение результатов

В исследуемых жировых композициях идентифицированы масляная, капроновая, каприловая, каприновая, капролеиновая, лауриновая, миристиновая, миристолеиновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, арахидиновая, бегеновая кислоты (табл. 2). Количественное определение проводили методом внутренней нормировки.

Таблица 2. Жирнокислотный состав исследуемых образцов

Жирные кислоты	Концентрация в образцах, % мас.		
	СОЮЗ 103	СОЮЗ 71	ЭКОНАТ 1203-34
1	2	3	4
Масляная (C _{4:0})	0,74	0,99	–
Капроновая (C _{6:0})	1,42	2,15	–
Каприловая (C _{8:0})	2,39	2,84	0,03
Каприновая (C _{10:0})	5,20	9,81	0,03
Капролеиновая (C _{10:1})	5,74	–	–
Лауриновая (C _{12:0})	12,44	6,31	0,27
Миристиновая (C _{14:0})	12,95	7,68	1,19
Миристолеиновая (C _{14:1})	5,46	4,05	–
Пальмитиновая (C _{16:0})	8,22	3,60	44,95
Пальмитолеиновая (C _{16:1})	–	5,74	0,15
Стеариновая (C _{18:0})	8,26	5,32	4,21
Олеиновая (C _{18:1})	10,69	18,93	37,99
Линолевая (C _{18:2})	9,29	24,87	9,52
Линоленовая (C _{18:3})	10,68	7,72	0,40
Арахидиновая (C _{20:0})	6,51	–	0,42
Бегеновая (C _{22:0})	–	–	0,17
Σ	100,00	100,00	100,00

В результате исследований были получены хроматограммы жировых смесей (рис. 1 – 3).

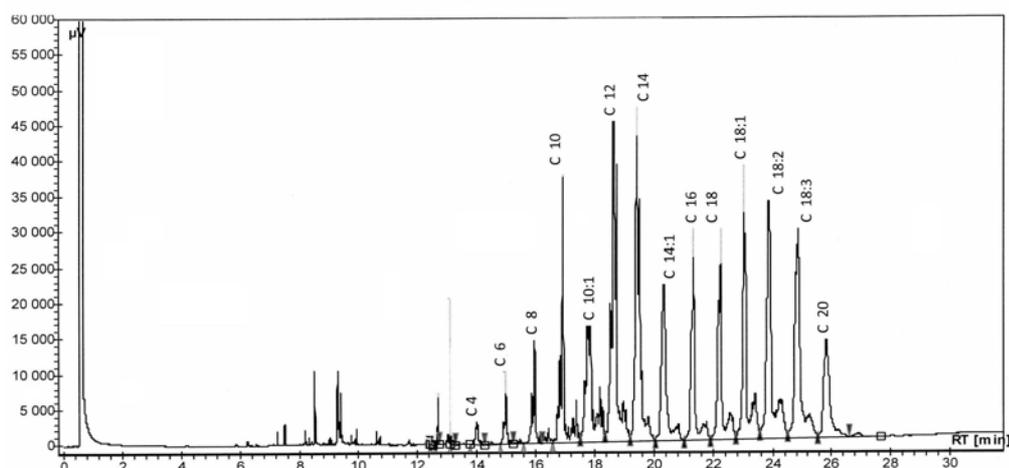


Рис. 1. Хроматограмма заменителя молочного жира СОЮЗ 103

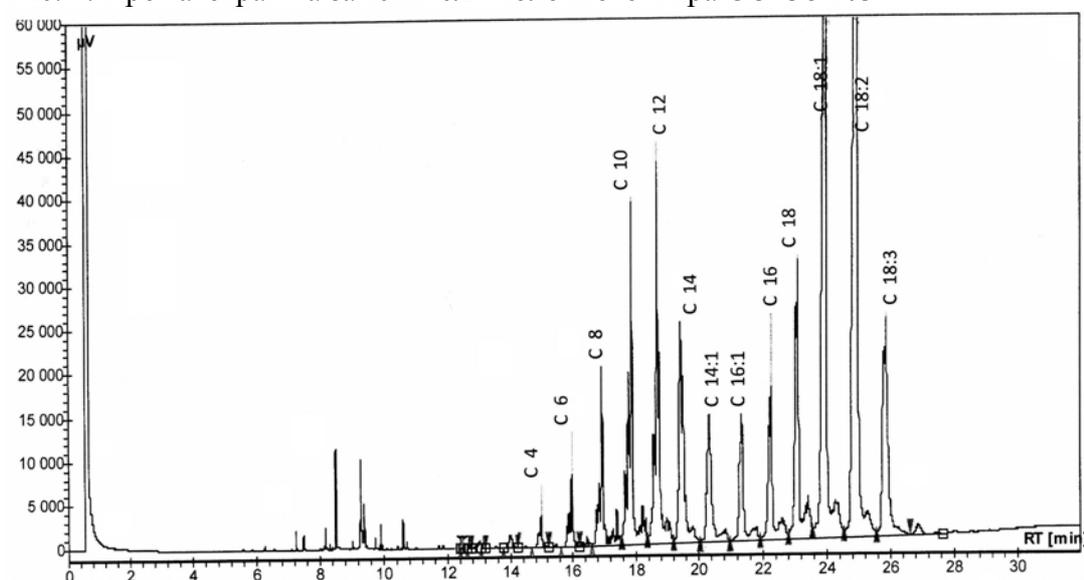


Рис. 2. Хроматограмма заменителя молочного жира СОЮЗ 71

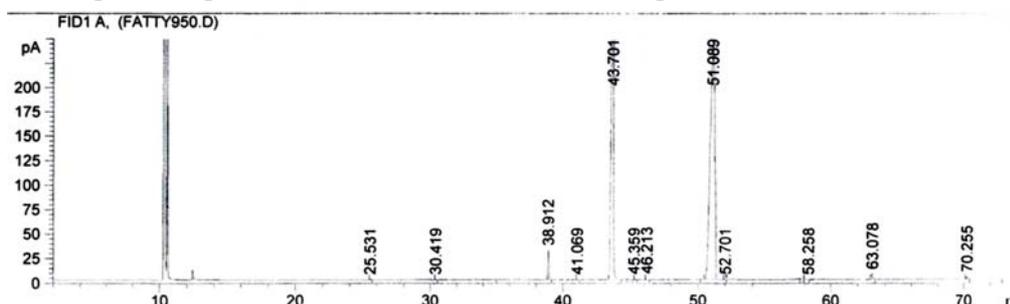


Рис. 3. Хроматограмма кондитерского жира ЭКОНАТ 1203-34

По результатам газохроматографического определения может быть установлена принадлежность исследуемой продукции к одной или нескольким группам растительных масел [7].

Образец жировой смеси СОЮЗ 103 отличается высоким содержанием лауриновой, миристиновой, олеиновой и линоленовой кислот. Довольно большое

количество арахидиновой кислоты (6,51 %) среди рассмотренных образцов наблюдается только в составе композиции СОЮЗ 103.

В жировой смеси СОЮЗ 71 присутствуют каприновая, лауриновая, миристиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая. Образец характеризуется высоким содержанием линолевой (24,87 %) и олеиновой (18,93 %) кислот, такое содержание кислот присуще соевому маслу (табл. 1).

В исследуемых жирах СОЮЗ наблюдается содержание низкомолекулярных жирных кислот $C_6 - C_{12}$ в больших количествах, что свидетельствует о наличии в их рецептурах кокосового, пальмоядрового масел. Причем в спецжире СОЮЗ 71 содержание каприновой кислоты (9,81 %) почти в два раза больше, чем в спецжире СОЮЗ 103; такое количество ЖК не свойственно для пальмоядрового масла. В жировой смеси ЭКОНАТ 1203-34 отсутствуют низкомолекулярные ЖК, что свидетельствует об отсутствии кокосового и пальмоядрового масел.

Для специализированного жира ЭКОНАТ 1203-34 характерно самое высокое среди анализированных образцов содержание пальмитиновой кислоты (44,95 %), это позволяет сделать вывод о том, что в его рецептуре основным компонентом является пальмовое масло (табл. 1). Жирнокислотный состав этого образца существенно отличается от других (содержание насыщенных и ненасыщенных ЖК практически в равных соотношениях (табл. 3)), данная особенность также является характерным признаком пальмового масла. Олеиновая кислота присутствует в жировой смеси ЭКОНАТ 1203-34 в большом количестве (37,99 %), такое содержание ЖК свойственно подсолнечному маслу.

Количественным выражением биологической эффективности продукта является его соответствие формуле гипотетически идеального жира, разработанной Институтом питания РАМН. Исследуемые жировые смеси были проанализированы по степени их соответствия формуле гипотетически идеального жира (табл. 3).

Таблица 3. Основные показатели гипотетически идеального жира и специализированных жиров

№ показателя	Соотношение содержания жирных кислот	Продукт			
		Идеальный жир	СОЮЗ 103	СОЮЗ 71	ЭКОНАТ 1203-34
1	Отношение ненасыщенных к насыщенным	0,60 – 0,90	0,72	1,58	0,94
2	Отношение линолевой к линоленовой	7,00 – 40,00	0,87	3,22	23,80
3	Отношение линолевой к олеиновой	0,25 – 4,00	0,87	1,31	0,25
4	Отношение суммы олеиновой и линолевой к сумме пентадекановой и стеариновой	0,90 – 1,40	2,42	8,23	11,29

Составом, наиболее полно соответствующим идеальному жиру, среди объектов исследования обладает СОЮЗ 103 (совпадает по первому и третьему показателям, наиболее близок к четвертому).

Заключение

Широкий ассортимент заменителей молочного и других пищевых жиров позволяет сделать выбор в пользу композиций, наиболее полно отвечающих требованиям здорового питания и технологии производства. Для некоторых жировых смесей, применяемых в пищевой промышленности, получены данные о жирнокислотном составе, являющемся исходным критерием качества масложировой продукции. Данные о количестве жирных кислот в образцах была рассмотрена с целью идентификации растительных масел, использованных для производства специализированных жиров. Установлено, что в рецептуры жировых смесей входят соевое, пальмовое, пальмоядровое, кокосовое и подсолнечное масла.

Список литературы

1. Федеральный закон № 90-ФЗ от 24.06.2008 «Технический регламент на масложировую продукцию» // Собрание законодательства РФ, 2008. – № 26. – С. 7875 – 7900.
2. ГОСТ 30623-98 «Масла растительные и маргариновая продукция. Метод обнаружения фальсификации». Масла растительные. Методы анализа. М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – С. 117 – 133.
3. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания. М.: ДеЛи принт, 2007. – 276 с.
4. О'Брайен Р. Жиры и масла. Производство, состав и применение. СПб: Профессия, 2007. – 752 с.
5. Касторных М.С., Кузьмина В.А., Пучкова Ю.С. Товароведение и экспертиза пищевых жиров, молока и молочных продуктов. М.: Академия, 2003. – 288 с.
6. ГОСТ 51483-99 «Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме». Масла растительные. Методы анализа. М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. – С. 151 – 159.
7. Корнена Е.П., Калманович С.А., Мартовщук Е.В., Терещук Л.В., Мартовщук В.И., Позняковский В.М. Экспертиза масел, жиров и продуктов их переработки. Качество и безопасность. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2007. – 272 с.

Нифталиев Сабухи Ильич – д.х.н., проф. зав. кафедрой общей и неорганической химии ВГТА, Воронеж

Мельникова Елена Ивановна – д.т.н., доц., проф. кафедры технологии молока и молочных продуктов, ВГТА тел. (4732) 53-13-09

Селиванова Анна Александровна – асп. кафедры общей и неорганической химии, ВГТА

Niftaliev Sabukhi I. – head of chair of the general and inorganic chemistry, Doctor of Chemistry, Voronezh State Technological Academy, Voronezh, e-mail: sabukhi@gmail.com

Melnikova Elena I. – Doctor of Technical Science, professor of chair of technology of milk and dairy products, Voronezh State Technological Academy, Voronezh

Selivanova Anna A. – post-graduate student of chair of the general and inorganic chemistry, Voronezh State Technological Academy, Voronezh, e-mail: sanna130485@rambler.ru



УДК 543.544.5.068.7:543.054

Экстракционно-хроматографическое определение антиоксидантов фенольного типа в бутилкаучуке

Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Григорьев А.М., Черепяхин А.М.

Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж

Поступила в редакцию 15.06.2009 г

Аннотация

Разработаны методики жидкостной экстракции низкомолекулярных фенольных антиоксидантов и Ирганокс-1010 из бутилкаучука и их определения методом обращено-фазовой ВЭЖХ.

Ключевые слова: антиоксиданты, аддитивы, каучук, методы экстракции, высокоэффективная жидкостная хроматография

Methods of liquid extraction of low-molecular phenolic antioxidants and Irganox-1010 from butyl rubber and their identification by reversed-phase HPLC are developed.

Key words: antioxidants additives, rubber, extraction methods, high performance liquid chromatography

Введение

Бутилкаучуки имеют большую практическую значимость. Их применяют для изготовления автокамер, варочных камер, прорезиненных тканей; для пищевых и медицинских изделий, в строительной промышленности. По химическому строению бутилкаучук – это сополимеры изобутилена с небольшим количеством изопрена общей формулы $[-C(CH_3)_2-CH_2-]_n-[-CH_2C(CH_3)=CH-CH_2-]_m$ [1]. Присутствие большого числа ненасыщенных двойных связей обуславливает необходимость введения высокоэффективных антиоксидантов, в качестве которых чаще всего применяют гидрофобные соединения фенольного типа с разветвленными алкильными заместителями — Агидол-1, Агидол-2, Ирганокс-1010 или их смеси с концентрацией от 0,02 до 0,4 % [2].

Ирганокс-1010 - эффективный стабилизатор широкого спектра полимерных материалов, различных видов каучуков. Является термостабилизатором полиолефинов, полистирола, термопластичных клеев и покрытий, защищает от окисления смазочные и трансформаторные масла, бензины, различные виды топлив, нетоксичен, разрешен для применения в изделиях, контактирующих с пищевыми продуктами и биологическими организмами. Не растворим в воде. Растворим в маслах, толуоле, ацетоне, частично в этаноле, хлорорганических растворителях. По

сравнению с остальными антиокислителями, применяемыми в производстве бутилкаучука Ирганокс-1010 имеет ряд преимуществ, например, бесцветность, более высокую антиокислительную эффективность, что позволяет уменьшить его массовую долю в целевом материале, длительность действия и хорошую совместимость с другими добавками, например, стабилизаторами (тиоэфиры, фосфиты, фосфониты и другие функциональные стабилизаторы). С другой стороны, из-за большой молекулярной массы (1178 г/моль) и химического строения (реакционноспособные группы -ОН экранированы объёмными заместителями) Ирганокс-1010 более инертен в химическом отношении (рис. 1). Поэтому его труднее определять в условиях типовой химической лаборатории. В настоящее время для его определения используют спектрофотометрическую методику, основанную на горячей экстракции пробы суспензии в этиловом спирте или в смеси этанола с гексаном [2]. Данная методика имеет трудоёмкую стадию пробоподготовки продолжительностью около 1 часа. Спектрофотометрическая методика по своей природе также не позволяет определить Ирганокс-1010 в присутствии других антиокислителей фенольного типа. Селективностью не обладают и методы прямого определения, такие как ультрафиолетовая и инфракрасная спектрофотометрия, флуориметрия [3-5].

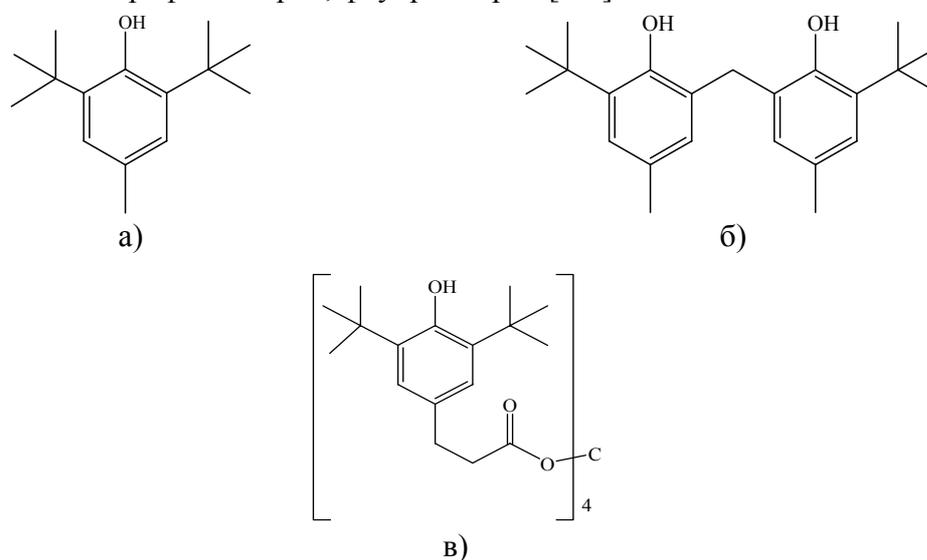


Рис. 1. Химическая структура фенольных антиоксидантов: а) Агидол-1 (ионол), б) Агидол-2, в) Ирганокс-1010

Цель настоящей работы заключалась в оптимизации условий извлечения Ирганокс-1010 и других фенольных антиоксидантов из бутилкаучука и подбор условий их отдельного определения методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ).

Эксперимент

Торговые марки, химические названия и поставщики антиокислителей приведены в табл. 1. Образцы бутилкаучука марки БК-1675Н был предоставлен ООО «Тольяттикаучук». Все растворители имели классификацию «для хроматографии».

Таблица 1. Антиоксиданты и их производители

Антиоксидант	Химическое название	Производитель
Агидол-1	4-метил-2,6-ди-трет-бутилфенол	Стерлитамакский нефтехимический завод, Россия
Агидол-2	2,2'-метилтен-бис(4-метил-6-трет-бутилфенол)	Стерлитамакский нефтехимический завод, Россия
Ирганокс-1010	Пентаэритрол тетраакис(3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропионат)	Ciba Specialty Chemicals, Швейцария

Экстракция ацетонитрилом. Образец бутилкаучука (1 г) нарезали на кубики (0,2 см × 0,2 см × 0,2 см), помещали в колбу с притёртой крышкой, добавляли 10 мл ацетонитрила, и перемешивали в течение 15 мин на вибросмесителе. После экстракции отфильтровали содержимое колбы и анализировали полученный экстракт на жидкостном хроматографе (рис.2).

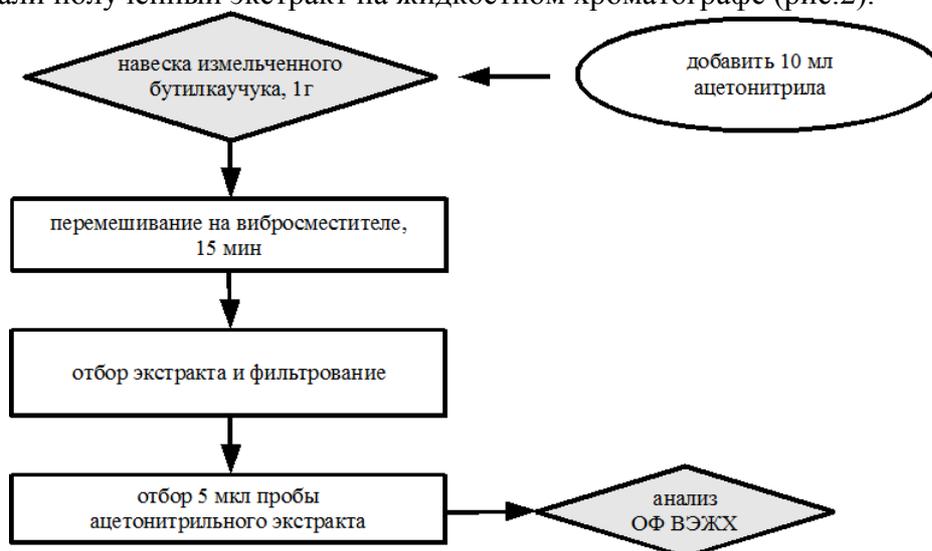


Рис. 2. Блок-схема анализа с использованием ацетонитрила

Экстракция водно-изопропанольным раствором аммиака. Образец бутилкаучука (1 г) нарезали на кубики (0,2 см × 0,2 см × 0,2 см), помещали в колбу с притёртой крышкой, добавляли 10 мл водно-изопропанольного раствора аммиака с концентрацией 7 моль/л. Данный экстрагент был успешно использован ранее для извлечения фенольных антиоксидантов из перцового пластыря [6] и трансформаторного масла [7]. После проведения экстракции содержимое колбы подкисляли раствором серной кислоты до pH 2-3, добавляли сульфат аммония в количестве, необходимом для расслоения водно-солевой и изопропанольной фазы. Отбирали несколько мл изопропанольной фазы, отфильтровывали и проводили анализ полученного экстракта методом ВЭЖХ [6,7] (рис.3).

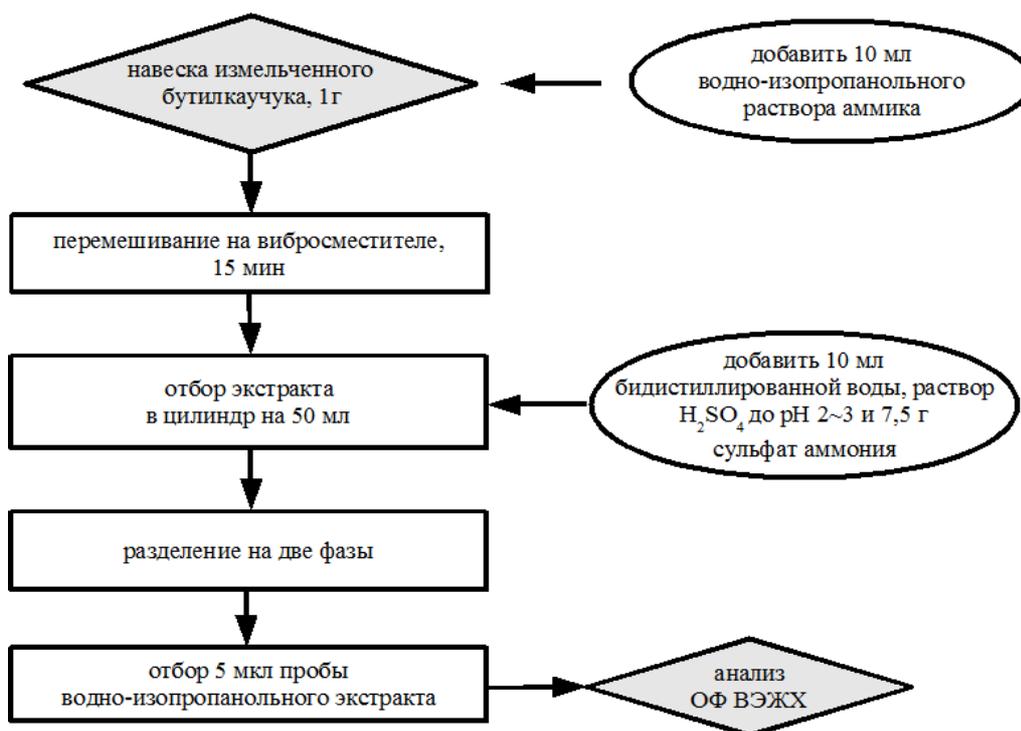


Рис. 3. Блок-схема анализа методом ВЭЖХ с использованием раствора аммиака в изопропанол

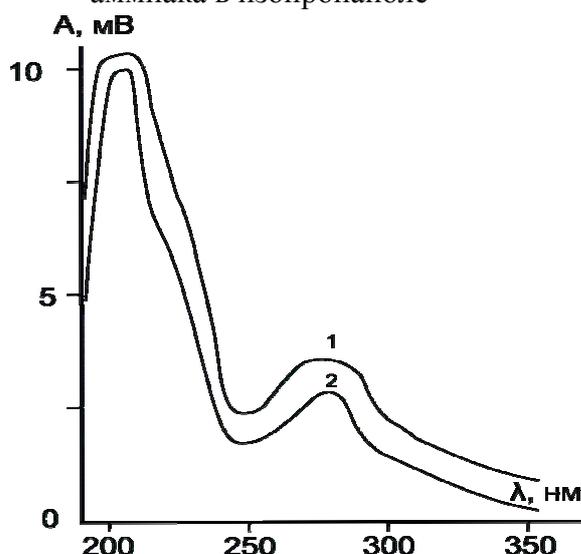


Рис. 4. Спектр поглощения в ацетонитриле: 1) Ирганокс-1010, 2) Агидол-1

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Для анализа Ирганокса-1010 в присутствии агидола-1 и агидола-2 методом ВЭЖХ нашли следующие условия: колонка (размер $4,6 \times 150$ мм), заполненная сорбентом SB-C18; в качестве элюента использовали смесь ацетонитрила и изопропанола с объёмным соотношением 8:2; расход - 1 мл/мин, УФД, аналитическая длина волны $\lambda = 280$ нм соответствует максимуму поглощения фенольных антиокислителей (рис. 4). Для раздельного определения смеси агидолов использовали элюент ацетонитрил-вода (75:25), колонка, расход элюента и условия детектирования те же.

Результаты и их обсуждение

Ирганокс-1010 относится к высокогидрофобным соединениям. Для характеристики его гидрофобности воспользуемся критерием Шатца. Этот критерий H основан на том, что размер молекул анализата определяется в первую очередь числом атомов углерода, а снижение гидрофобности при введении в его молекулу полярной функциональной группы определяется для полифункциональных соединений не столько специфической гидрофильностью группы, сколько самим фактом ее наличия.

$$H = n_h - 4\sqrt{n_f}, \quad (1)$$

где n_h – число элементарных гидрофобных фрагментов в молекуле, т. е. сумма атомов углерода и галогенов, а n_f – число полярных групп. Для этого антиоксиданта $H=62,1$. Для агидола-1 $H=11,0$, а для агидола-2 $H=17,4$. Нормально-фазовую хроматографию этих соединений не целесообразно применять, так как известно, что удерживание фенольных соединений в ее условиях резко уменьшается с увеличением степени экранирования гидроксильной группы *орто*-заместителями и увеличением гидрофобности [8]. Анализ данных в [8,9] показал, что в нормально-фазовой ВЭЖХ высокогидрофобных соединений ($H=18-62$) разного строения благоприятные условия хроматографирования высокогидрофобных соединений зачастую лимитируются их растворимостью в подвижной фазе и ее полярностью. Оптимальные элюенты имеют, как правило, повышенное содержание модификаторов средней полярности (до 20 об. %). В целом, для таких соединений специфические взаимодействия с сорбентом существенно ослаблены гидрофобными *орто*-заместителями. Для рассматриваемых производных фенола важным является не только низкая доступность ОН-группы, но и параллельная ориентация ароматических колец к поверхности силикагеля. Чем более плоской является молекула, чем доступней ее сорбционно-активные фрагменты для взаимодействия с поверхностью адсорбента, тем сильнее удерживание. Вероятно, с ослаблением специфической адсорбции полярной группы возрастает роль ориентационной составляющей, которая определяется стереохимическими особенностями хроматографируемого соединения. Например, разделение фуллеренов ($H = 60-94$) происходит не по числу атомов углерода, а по ориентации той или иной структуры к поверхности адсорбента. Если эти структуры одинаковы, тогда и времена удерживания фуллеренов равны. В этом плане показательны хроматографические свойства Ирганокса-1010 ($H = 62,1$), которые практически не отличаются от свойств веществ, имеющих в 2-3 раза меньшую гидрофобность [8]. Скорее всего, молекулы Ирганокса-1010 способны адсорбироваться на полярном сорбенте только одним из 4-х фенольных фрагментов, а размеры гидрофобного "поплавка" и наличие в нем того или иного числа полярных групп играют второстепенную роль. Поэтому для анализа этого антиоксиданта актуален подбор условий ВЭЖХ в обращенно-фазовом варианте. Из-за высокого сродства к гидрофобной обращенной неподвижной фазе (к «щетке» октадецильной привитой фазы) и нерастворимости в воде для хроматографии Ирганокса-1010 надо применять, как, например, для триглицеридов, имеющих аналогичную гидрофобность, безводные элюенты с большой элюирующей силой, позволяющие вымывать этот антиоксидант из колонки за приемлемое время.

В связи с тем, что нами в качестве экстрагента использованы в одном случае ацетонитрил, в другом - изопропанол, эти растворители для максимальной адаптации стадии экстракционной пробоподготовки к условиям ОФ ВЭЖХ использованы и в подборе состава подвижной фазы. В табл.2 приведены значения фактора удерживания k для разных составов обращенной подвижной фазы.

Таблица 2. Величины фактора удерживания к антиоксидантов для различных подвижных фаз

Антиоксидант	Ацетонитрил, %, в воде		
	70	80	90
Агидол-1	11,17	5,11	2,33
Агидол-2	17,72	6,86	2,67
Ирганокс-1010	Изопропанол, %, в ацетонитриле		
	10	15	30
	5,91	4,02	1,40

В условиях ОФ ВЭЖХ (смесь ацетонитрила и изопропанола 90:10), в которых время удерживания Ирганокса-1010 составляет 5,5 мин, Агидол-1 и Агидол-2 не разделяются, их время удерживания близко к мертвому и составляет $t_R = 1,2$ мин. Однако этот режим позволяет определять основной антиокислительный компонент в присутствии агидолов. Смесь агидолов после экстракции можно хроматографировать водно-ацетонитрильным элюентом с объемной долей последнего $\geq 70\%$.

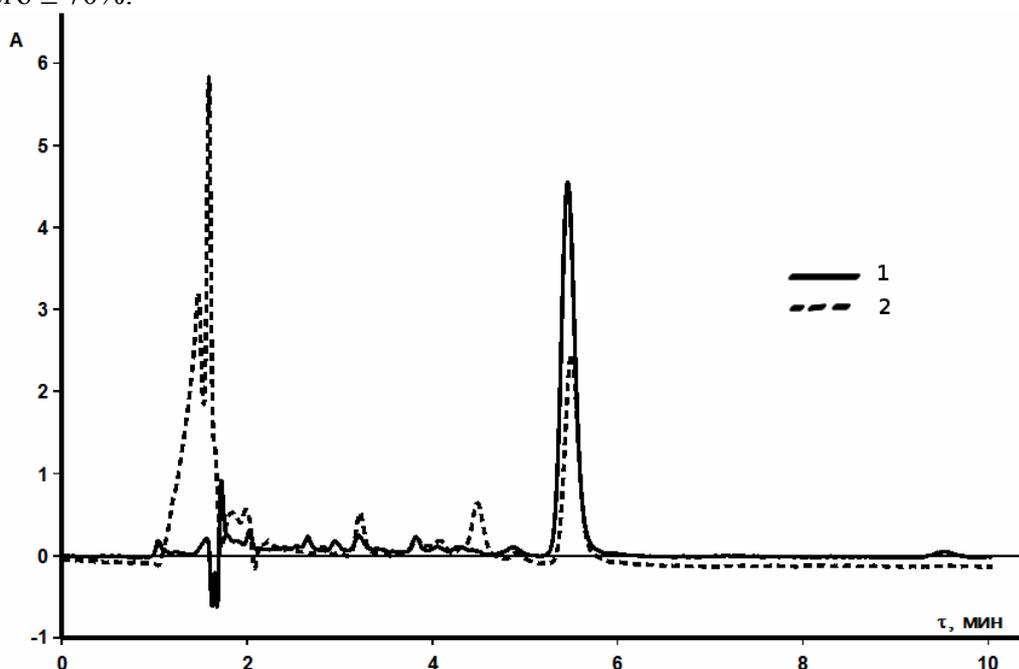


Рис. 3. Хроматограмма анализа экстрактов из бутилкаучука: 1- ацетонитрильный экстракт; 2 – изопропанольный экстракт. Колонка SB-C18 (4,6×150 мм, 7 мкм), УФД, 280 нм, подвижная фаза ацетонитрил - изопропанол (90:10), расход 1 мл/мин

На рис. 3 приведена хроматограмма 2 экстрактов из одного реального образца бутилкаучука. Полученная хроматограмма показывает, что в обоих экстрактах содержится Ирганокс-1010, а низкомолекулярные антиоксиданты отсутствуют. Экстракционная система на основе изопропанола, хорошо зарекомендовавшая себя при экстракции агидола-1, менее эффективна и имеет больше стадий, чем ацетонитрильная, о чем свидетельствует меньшее количество Ирганокса-1010, извлеченное из одного и того же образца каучука БК-1675Н. Это связано с тем, что перевод в ионную форму экранированных фенольных гидроксидов затруднен с одной стороны, а с другой – он сравнительно мало увеличивает растворимость в

экстрагенте такого высокогидрофобного соединения, имеющего 4 бензольных ядра в молекуле. Преимущество этой экстракционной методики в том, что она весьма эффективна для экстракции низкомолекулярных фенолов (более токсичных, менее стойких при эксплуатации каучука) и выгоднее не только экономически, но и с точки зрения экологии и безопасности жизнедеятельности, так как изопропанол в несколько раз дешевле и менее токсичен чем ацетонитрил.

Выводы

Рассмотренные методики жидкостной экстракции ацетонитрилом и водно-изопропанольным раствором аммиака пригодны для экстракции фенольных антиоксидантов из бутилкаучука, включая такие высокогидрофобные соединения как Ирганокс-1010. Метод обращенно-фазовой ВЭЖХ позволяет определять содержание антиокислителей в совместном присутствии. Разработанная методика апробирована в заводской лаборатории ООО «Тольяттикаучук» и может быть рекомендована для внедрения в промышленность.

Список литературы

1. Сангалов Ю.А., Минскер К.С. Полимеры и сополимеры изобутилена. - Уфа: Гилем. 2001. 384 с.
2. Каучук изобутиленизопреновый (бутиловый) БК-1675Н. ТУ-2294-021-48158319-2001.
3. Spell H. L., Eddy R. D. Determination of additives in polyethylene by absorption spectroscopy// Anal. Chem. 1960 v. 32, p. 1811.
4. Drushel H. V., Sommers A. L., Direct Determination of Inhibitors in Polymers by Luminescence Techniques// Anal. Chem. 1964, v. 36, p. 836-840.
5. Wheeler D. A. Determination of antioxidants in polymeric materials// Talanta, 1968 v. 15, p. 1315.
6. Рудаков О. Б., Хорохордина Е.А., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудакова Л.В. Определение капсаициноидов и ионола в перцовых пластырях методом микроколоночной ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2008. - Т.8. - Вып. 2. - С. 339.
7. Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Харитоновна Л.А. Применение микроколоночной ВЭЖХ для контроля ионола в трансформаторном масле // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып. 1. с. 141.
8. Рудаков О.Б. Экспертная система для жидкостной хроматографии: принципы построения и применение в химическом анализе. Дис. ... д-ра хим. наук, Воронеж. 2004, 400 с.
9. Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Определение фенольных аддитивов и мономеров в строительных материалах// Научный вестник ВГАСУ. Серия: Физико-химические проблемы строительного материаловедения. – 2009, - Вып. 2, - с. 67.

Рудаков Олег Борисович - д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж, тел. (4732) 717617

Фан Винь Тхинь – аспирант кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Черепяхин Александр Михайлович – аспирант кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Григорьев Андрей Михайлович – к.х.н., докторант кафедры химии Воронежского государственного архитектурно-строительного университета, Воронеж

Rudakov Oleg B. - d.kh.n., professor, head of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh, rudakov@vgasu.vrn.ru

Phan Vinh Thinh - post-graduate student of the chair of chemistry Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh, phanvinhthinh@gmail.com

Cherepahin Alexander M. - post-graduate student of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh

Grigoryev Andrey M. - k.kh.n., competitor of a doctor's degree of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh