



К 70-летию профессора В.Ф. Селеменова

Калиничев А.И.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

Шапошник В.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж



Доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, заслуженный деятель науки Российской Федерации Владимир Федорович Селеменов – крупный ученый в области ионообменной хроматографии и аналитической химии.

Владимир Федорович родился 20 октября 1939 г. в Белгородской области в семье учителей. Закончив школу с серебряной медалью, В.Ф. Селеменов в 1957 г. поступил на химический факультет Воронежского государственного университета, с которым жизнь связала его навсегда. После окончания учебы на химическом факультете В.Ф. Селеменова пригласил на работу в проблемной лаборатории, а затем в аспирантуру известный ученый и крупный организатор науки, профессор, ректор Воронежского университета

В.П. Мелешко. Первые работы молодого ученого связаны с исследованиями сорбции красящих веществ анионообменниками [1,7]. Решению этой проблемы была посвящена кандидатская диссертация, успешно защищенная В.Ф. Селеменовым в 1972 г.

Выбор ионообменников, в качестве объекта исследований, оказался исключительно удачным. Почва, горные породы и минералы являются природными ионообменниками. Прошлый век, который называют веком полимеров, позволил синтезировать искусственные ионообменники. Ионообменные полимеры стали объектом дальнейших исследований В.Ф. Селеменова. Со временем менялись методы исследования, объекты сорбции, но сохранялась преданность замечательным ионообменным сорбентам.

Метод инфракрасной спектроскопии в практике ионного обмена был известен как метод идентификации различных типов ионообменников, определения их

функциональных групп. Образно говоря, если потерялась этикетка или появилось сомнение в соответствии продукта товарной марке, то было принято использовать этот вид спектроскопии. В.Ф. Селеменев с коллегами увидели значительно более широкие возможности этого метода для изучения макроскопических и микроскопических свойств ионообменников. Были найдены пути расчета энергий водородной связи в ионообменнике и величин энтальпии [2,3]. Близкие задачи позволили решать термический метод анализа [4]. Он дал возможность количественно исследовать гидратацию и определять физико-химические характеристики ионообменников. Термодинамическое обобщение экспериментальных результатов, полученных различными методами анализа, позволило В.Ф. Селеменеву в 1993 г. успешно защитить докторскую диссертацию.

Выбор темы исследований – важнейшая черта, характеризующая личность любого, тем более, крупного ученого. Можно выбрать синтез новых веществ и это может быть актуальным. Можно получать взрывчатые вещества – они тоже нужны для работы и обороны. Владимир Федорович выбрал в качестве объекта исследований физиологически активные вещества, что в большей степени характеризует направленность личности, чем любые показатели. Наибольший акцент в его исследованиях был сделан на сорбции аминокислот [5]. Аминокислоты являются мономерами, на основе которых синтезируются белки, определяющие важнейшие физиологические функции организма человека и животных. Главной темой его исследований по-прежнему оставались физиологически активные вещества, но расширялось число классов соединений, среди которых появились фармацевтические препараты. Со временем изменялся и арсенал применяемых методов [6,9]. Одним из последних увлечений Владимира Федоровича стали химические сенсоры для аналитического определения физиологически активных веществ. Особое внимание в его работах уделяется экологическим проблемам, для решения которых совместно с А.А. Загородним и В.Ю. Хохловым им был предложен метод термической регенерации ионообменников при сорбции аминокислот. В настоящее время профессор Селеменев с сотрудниками разрабатывает сорбционные методы разделения фосфолипидов, выделения сапонинов из отходов сахарного производства. Владимир Федорович предложил использовать отработанные ионообменники для иммобилизации ферментов, модель трансформации анионообменников в амфотерные ионообменники при воздействии нуклеиновых кислот и меланоидинов. Результаты его научной деятельности реализованы в более, чем тысяче публикаций, среди которых 14 монографий, 37 учебных пособий, 8 авторских свидетельств СССР и 28 патентов Российской Федерации.

В 1995 г. Владимиру Федоровичу было присуждено ученое звание профессора, а в 1998 г. он был избран заведующим кафедрой аналитической химии. В 2007 г. Владимиру Федоровичу было присуждено почетное звание «Заслуженного деятеля науки Российской Федерации». Ранее он был награжден медалями: «За доблестный труд. В ознаменование 100-летия В.И. Ленина», «Ветеран труда», «90 лет Великой Октябрьской социалистической революции», серебряной медалью Международной конференции «Передовые технологии на пороге XX века». Владимир Федорович – член диссертационных советов на химическом и биологическом факультетах Воронежского государственного университета и Тамбовского государственного технического университета. Он является членом Научного совета РАН по аналитической химии и членом бюро Научного совета РАН

по адсорбции и хроматографии, одновременно возглавляя в нем секцию «Ионообменная хроматография».

Важным результатом его педагогической деятельности является подготовка 21 кандидата и 4 докторов наук.

Счастливым качеством Владимира Федоровича является организационный талант. Ему удалось в трудное, пережитое нами время возродить проведение традиционных Международных конференций по ионному обмену и хроматографии, а в 2001г. создать журнал «Сорбционные и хроматографические процессы», и выполнять в нем ответственные функции главного редактора. Очень важно отметить, что под руководством проф. В.Ф. Селеменова этот научный журнал стал популярен среди исследователей, вошел в перечень ВАК и в настоящее время эффективно публикует результаты актуальных работ по тематике журнала, находящихся на переднем крае науки. Состав редколлегии этого журнала стал международным, благодаря вхождению в нее таких известнейших зарубежных ученых в области ионного обмена как: Arup K. SenGupta (USA), F.Rossner (Germany).

Характеристика личности Владимира Федоровича Селеменова была бы неполной без характеристики его спортивных достижений, которые позволили сформировать его волевые качества и чувство коллективизма. Он многократный чемпион Воронежской области в беге на средние дистанции, кандидат в мастера спорта. Особую роль играет его деятельность в клубе «Память». Десятки маршрутов по местам боевой славы, сотни поселков и городов, через которые пролегал путь замечательного коллектива, созданного им. Но это уже отдельная глава и о ней говорить тем, кто был с ним рядом у памятников, кто вместе бежал по трудным дорогам, с кем вечером у костра он пел песни.

Около 10 лет назад по инициативе нашего юбиляра на основе совместных договоров между Институтом физической химии и электрохимии РАН им. А.Н. Фрумкина и Воронежским государственным университетом была организована совместная научная лаборатория по ионному обмену, в которой заместителем научного руководителя является проф. В.Ф. Селеменов. От имени сотрудников наших коллективов мы поздравляем Владимира Федоровича со знаменательной датой и желаем ему дальнейших успехов в научной и педагогической деятельности, здоровья и счастья!

Список литературы

1. Ионообменные методы очистки веществ. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1984. – 371 с.
2. Углянская В.А., Чикин Г.А., Селеменов В.Ф., Завьялова Т.А. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1989. – 208 с.
3. Славинская Г.В., Селеменов В.Ф. Фульвокислоты природных вод. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2001. – 165 с.
4. Котова Д.Л., Селеменов В.Ф. Термический анализ ионообменных материалов. М.: Наука, 2002. – 156 с.
5. Селеменов В.Ф., Хохлов В.Ю., Бобрешова О.В., Аристов И.В., Котова Д.Л. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. М., Стелайт, 2002. – 300 с.
6. Рудаков О.Б., Селеменов В.Ф. Физико-химические системы сорбат – сорбент – элюент в жидкостной хроматографии. Воронеж: Изд. ВГУ, 2003. – 300 с.
7. Селеменов В.Ф. Меланоидины. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2004. – 195 с.

8. Селеменов В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю., Иванов В.А., Горшков В.И., Тимофеевская В.Д. Практикум по ионному обмену. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2004. – 160 с.

9. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филиппов А.А., Селеменов В.Ф., Приданцев А.А. Спутник хроматографиста. Воронеж: Изд-во «Водолей», 2004. – 527 с.



УДК 543.544:577

Прогнозирование вида выходных кривых сорбции аминокислот низкоосновным анионообменником АН-251

Коротких О.И., Хохлова О.Н., Хохлов В.Ю., Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 22.07.2009 г.

Аннотация

На примере сорбции фенилаланина и триптофана показана возможность прогнозирования выходных кривых поглощения аминокислот низкоосновным анионообменником АН-251 по асимптотическому уравнению динамики сорбции при изменении гидродинамических условий.

Ключевые слова: сорбция; анионообменник; аминокислоты, выходная кривая.

The asymptotic sorption dynamics equation for calculate of adsorption curves of amino acids by low ionized anion exchanger AN-251 at various hydrodynamical conditions has been used.

Key words: sorption, anion exchanger, amino acids, dynamic curve

Введение

Оценка вида фронта сорбции без проведения экспериментальных исследований является важной практической задачей. Для ее решения используются различные подходы, основанные на построении математических моделей с использованием известных уравнений динамики сорбции, что позволяет оценивать поведение системы ионообменник-раствор при разных сочетаниях основных параметров, влияющих на эффективность поглощения: скорости потока, концентрации сорбтива, высоты слоя ионообменника, размера зерна ионита, реакции среды, температуры и т.д. [1-3]. Одним из важнейших параметров, влияющим на количество сорбированного вещества и вид выходной кривой, является скорость потока [4,5].

Поэтому, цель работы - исследование возможности прогнозирования выходных кривых сорбции аминокислот по асимптотическому уравнению динамики сорбции при изменении скорости пропускания раствора

Эксперимент

В качестве объектов исследования в работе использован низкоосновный сорбент АН-251, ароматическая аминокислота – фенилаланин и гетероциклическая триптофан. Некоторые характеристики сорбата и сорбента приведены в таблице 1 и 2.

Таблица 1. Некоторые физико-химические свойства аминокислот

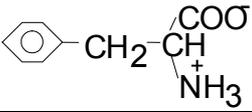
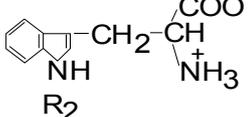
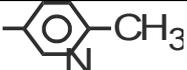
Аминокислота	Структура при рН 5.5-6.7	Мол. масса	Растворимость г/100г H ₂ O	рК протолиза		
				рК ₁ α-СООН	рК ₂ α-NH ₂	рК _R R-групп
Фенилаланин		165	3,00	2,58	9.24	-
Триптофан		204	1,10	2,38	9.49	11.60

Таблица 2. Некоторые характеристики исследуемого анионообменника

Строение функц. группы	Радиус пор, А	Ёмкость, мг-экв/г	Удельн. объем, мл/г (ОН ⁻)	Влажность, %	рК функц. групп
	160-200	5,1	3,26	10,9	4,77

В настоящей работе изучена динамика необменной сорбции аминокислот низкоосновным анионообменником АН-251 методом выходных кривых. Для этого через колонку с сорбентом в СI-форме массой 4 г и высотой 24 см с различными скоростями (0,5 мл/мин, 2 мл/мин, 4 мл/мин) потока пропускался водный раствор аминокислот с исследуемыми концентрациями (0,005М, 0,01М, 0,02М). В данных условиях аминокислоты существуют в виде цвиттерионов, перезарядки и ионообменного закрепления их в фазе сорбента не происходит, поэтому в системе протекает необменное поглощение. На выходе из колонки собирались фракции раствора по 20 мл, которые анализировались на содержание аминокислот спектрофотометрически при $\lambda=257$ нм и $\lambda=279$ нм для фенилаланина и триптофана соответственно. По результатам строились выходные кривые, являющиеся функцией степени завершенности процесса C/C_0 от объема V .

Обсуждение результатов

Поскольку необменная сорбция является диффузионным процессом, то она может лимитироваться как внешней диффузией, т.е. переносом вещества в тонком слое раствора вокруг зерна сорбента, или внутренней диффузией, т.е. переносом вещества непосредственно в зерне ионообменника. Также возможен вариант, когда установление равновесия контролируется обеими стадиями, тогда реализуется смешанно-диффузионный механизм кинетики. В работах [4,7] было предложено уравнение, для смешанно-диффузионной кинетики, позволяющее прогнозировать

вид выходной кривой при изменении концентрационно-гидродинамических условий проведения процесса.

Использованное асимптотическое уравнение выходной кривой, охватывающее все области кинетики, описано авторами [3-5]:

$$V_{\text{эксп}} = \frac{KE}{(1+\Theta)C_0} - \frac{ur_0^2}{12\bar{D}}(-\varphi)(\Theta, \eta, F), \quad (1)$$

где $V_{\text{эксп}}$ – объем раствора, очищенного до заданного проскока, см^3 ; K – константа равновесия; E – полная обменная емкость колонки, ммоль; u – скорость потока, $\text{см}^3/\text{с}$; \bar{D} – коэффициент диффузии вещества в зерне ионита, $\text{см}^2/\text{с}$; $F = C/C_0$ – концентрационное отношение (C и C_0 – текущая и исходная концентрации сорбтива, ммоль/дм³); n_0 – доля поглощаемого вещества в многокомпонентной системе; $\eta = 4K/Bi[1+(K-1)n_0]$, где η – критерий подобия по совокупности определяющих параметров процесса; φ – функция, определяемая системой уравнений:

$$\varphi(\Theta, \eta, F) = \ln \frac{f(1-f)}{1+\Theta(1-f)} - \frac{1+\eta}{\Theta} \ln \frac{f^{1+\Theta}}{1-f} + 1 - \eta + \frac{1+\Theta}{\Theta} \ln(1+\Theta), \quad (2)$$

$$F = f - \frac{\Theta}{1+\eta} \frac{f(1-f)}{1+\Theta(1-f)}, \quad 0 < f < 1,$$

f – степень отработанности поверхности зерен ионита для сечения колонки x , где x – расстояние от входа в слой колонки; Bi – критерий, показывающий соотношение вкладов внутренней и внешней диффузии в кинетику сорбции; $\Theta = (K-1)n_0$ – критерий подобия, характеризующий крутизну приведенной изотермы сорбции; r_0 – радиус зерна сорбента, см.

Явная зависимость параметра f (уравнение (2) от концентрационного отношения F имеет вид:

$$f = \frac{2(1+\Theta)(1+\eta)F}{1+\eta(1+\Theta) + \Theta(1+\eta) + \left\{ [1+\eta(1+\Theta) + \Theta(1+\eta)F]^2 - 4\Theta\eta(1+\Theta)(1+\eta)F \right\}^{1/2}} \quad (3)$$

Если изучаемая система однокомпонентная, то мольная доля иона в растворе $n_0 = 1$. Тогда $\Theta = K - 1$, $\eta = 4/Bi$, и уравнение (3) принимает вид:

$$V_{\text{эксп}} = \frac{E}{C_0} - \frac{ur_0^2}{12\bar{D}}(-\varphi)(\Theta, \eta, F) \quad (4)$$

т.е. является уравнением прямой в координатах $V_{\text{эксп}} - (-\varphi)$. Величина $E/C_0 = V_0$ – отрезок, отсекаемый на оси ординат данной прямой.

В уравнения (2) и (4) через параметр η входит диффузионный критерий Bi . Его можно определить путем графических построений выходной кривой в координатах $V_{\text{эксп}} - (-\varphi)$. Для этого следует найти его значение, при котором выполняется условие линейной зависимости $V_{\text{эксп}} - (-\varphi)$. В данном случае это осуществляется перебором вариантов, когда критерий Bi задается произвольно, в соответствии с внешними параметрами процесса и формой выходных кривых. Данная модель дает возможность прогнозирования выходной кривой сорбции аминокислот по асимптотическому уравнению динамики сорбции при изменении концентрационно-гидродинамических условий проведения процесса.

Приблизительную оценку преобладающего механизма кинетики можно получить по форме выходной кривой, полученной на слое ионита, который обеспечивает образование и параллельный перенос концентрационного фронта [6,7].

Если начальный участок выходной кривой размыт, а конечный заострен, то преобладает внешнедиффузионный механизм кинетики; если при обостренном начальном участке выходной кривой (резкое возрастание C/C_0 с увеличением объема пропущенного раствора) к концу сорбции кривая сильно размыта, то велик вклад внутридиффузионной стадии. Размытый фронт сорбции как на начальном участке выходной кривой, так и при ее завершении – признак смешанно-диффузионной кинетики.

Данный механизм кинетики, судя по виду выходной кривой на рис.1, реализуется при необменной сорбции 0,01М раствора триптофана на слое сорбента высотой $h = 24$ см при скорости пропускания раствора $u = 4$ см³/мин. Поэтому, эта кривая была выбрана в качестве "базовой" для нахождения значений Bi и $tg \alpha$.

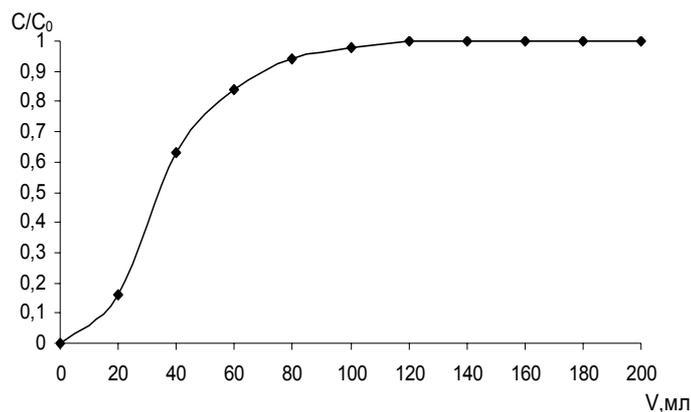


Рис. 1. Выходная кривая сорбции 0,01М раствора триптофана анионитом АН-251 в Cl⁻-форме при $u = 4$ см³/мин

Условие линейной зависимости $V_{\text{экср}} - (-\varphi)$ выполняется при $Bi = 4$ (рис. 3), что подтверждает смешанно-диффузионный механизм кинетики.

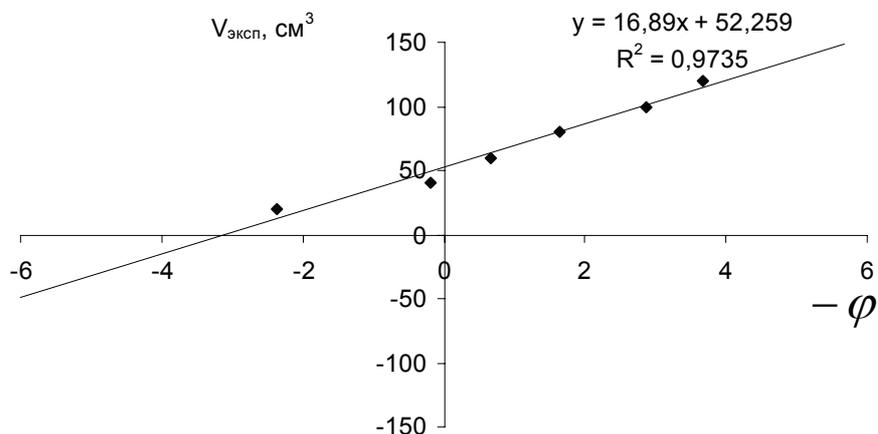


Рис. 2. Зависимость функции $-\varphi$ от объема пропущенного раствора триптофана через слой анионита АН-251 в Cl⁻-форме при $Bi = 4$

Тангенс угла наклона этой прямой к оси абсцисс равен $tg \alpha = 17$. Коэффициент диффузии рассчитывали по уравнению

$$\bar{D} = \frac{ur_0^2}{12tg\alpha}, \quad (7)$$

Подставив величины среднего радиуса частиц ионита $r_0 = 0,057$ см, скорость потока

$u = 0,03$ см³/с и найденное значение $tg \alpha = 17$ был рассчитан коэффициент диффузии

$$\bar{D} = 10,74 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с. При } \varphi=0 \text{ значение } V_0=52 \text{ см}^3.$$

С использованием этих данных рассчитан процесс адсорбции триптофана из раствора той же концентрации (0,01М), но при меньших скоростях потока $u_2 = 2$ см³/мин и $u_3 = 0,5$ см³/мин. Так как концентрация сорбтива не изменилась, то $V_0=52$ см³. Согласно [4], в новых гидродинамических условиях критерий Bi рассчитывается по формуле:

$$Bi = Bi_0 (u_2/u_0)^{1/2} \quad (8)$$

где Bi_0 - критерий Bi для базовой кривой, u_0 -исходная скорость потока, u_2 -скорость потока для прогнозируемой кривой.

Тогда для скорости 2 см³/мин критерий Bi будет $Bi = 4(2/4)^{1/2} \sim 3$, а для скорости 0,5 см³/мин $Bi = 4(0,5/4)^{1/2} \sim 1,4$.

Величина $ur_0^2 / 12\bar{D}$, рассчитанная при новой скорости потока $u_2 = 0,03$ см³/с и $u_3 = 0,0083$ см³/с, равна 8,4 и 2,09 соответственно. Тогда уравнение (5) для расчета теоретической выходной кривой при изменении скорости потока имеет вид: $W_{\text{экср}} = 52,259 - 8,4(-\varphi)$ (рис3а) и $W_{\text{экср}} = 52,259 - 2,09(-\varphi)$ (рис3б) [7].

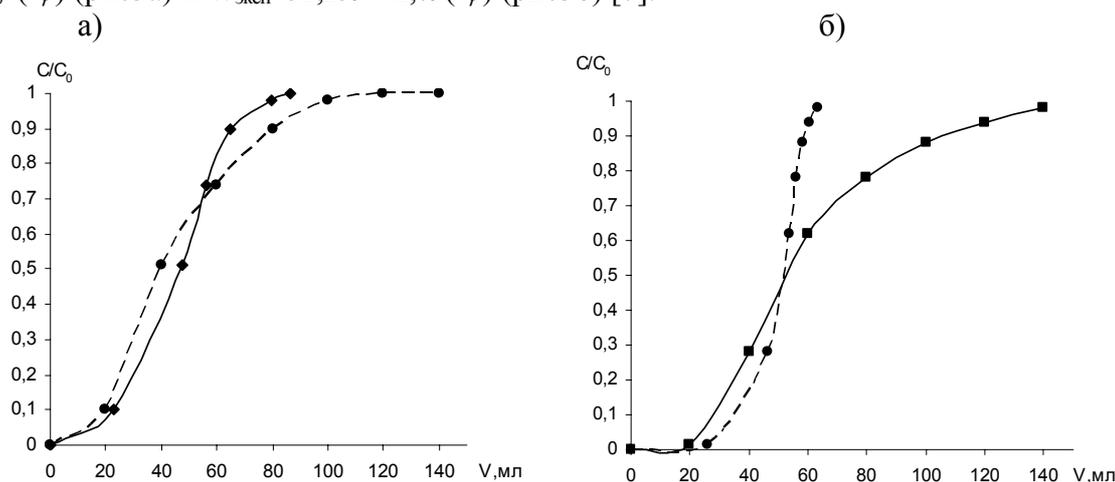


Рис. 3 Сравнение теоретических (----) и экспериментальных (—) выходных кривых сорбции 0,01М раствора триптофана анионообменником АН-251 в Cl-форме при $c=\text{const}=0,01\text{М}$ а) $u = 2$ см³/мин; б) $u = 0,5$ см³/мин

Из рис.3а видно, что при данном концентрационно-гидродинамическом режиме сохраняется смешаннодиффузионный механизм сорбции. Отклонение от экспериментальных результатов не превысило 5 %. При уменьшении скорости пропускания наблюдается увеличение внутридиффузионного вклада, поэтому теоретические и экспериментальные кривые не совпадают (рис 3 б). Это подтверждает не возможность прогнозирования во внутридиффузионной области.

Аналогично, было проведено прогнозирование выходных кривых сорбции ароматической аминокислоты - фенилаланина. В качестве "базовых" для нахождения значений Bi и tg были выбраны выходные кривые необменной сорбции раствора фенилаланина при концентрациях 0,005 М и 0,02 М и скорости пропускания раствора $u = 2$ см³/мин, а рассчитывались кривые при проведении процесса при тех

же концентрациях, но скорости $0,5 \text{ см}^3/\text{мин}$. Алгоритм расчета аналогичен вышеизложенному.

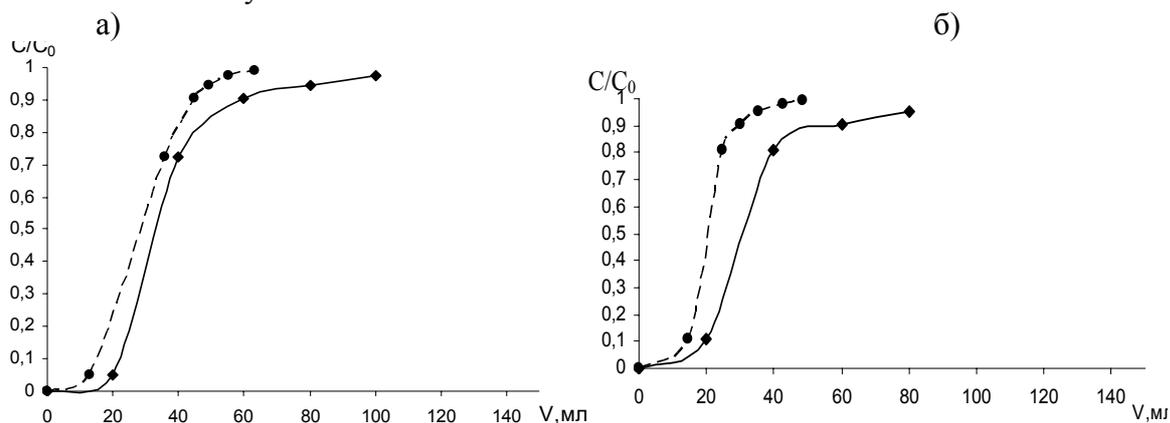


Рис. 4 Сравнение теоретических (----) и экспериментальных (—) выходных кривых сорбции раствора фенилаланина анионообменником АН-251 в Cl-форме $u = 0,5 \text{ см}^3/\text{мин}$ а) $0,02 \text{ M}$; б) $0,005 \text{ M}$

Из рис.4а видно, что при данном концентрационно-гидродинамическом режиме сохраняется смешаннодиффузионный механизм сорбции. Отклонение теоретических и экспериментальных выходных кривых не превысило 5 %. При уменьшении концентрации рис.4б наблюдается увеличение внешнедиффузионного вклада, поэтому теоретические и экспериментальные кривые не совпадают.

Заключение

Расчитаны выходные кривые сорбции по асимптотическому уравнению динамики сорбции при изменении скорости пропускания раствора. Установлено, что асимптотическое уравнение динамики сорбции применимо для прогноза выходных кривых необменной сорбции аминокислот низкоосновным анионообменником АН-251 в области смешаннодиффузионной кинетики

Список литературы.

1. Веницианов Е.В., Рубинштейн Р.Н. Динамика сорбции из жидких сред. – М.: Наука, 1983. – 237 с.
2. Сенявин М.М., Рубинштейн Р.Н., Колосова Г.М. и др. Теоретические основы деминерализации воды. – М.: Наука, 1975. – 326 с.
3. Кузьминых В.А., Мелешко В.П. // Журн. физ. химии. – 1980. – Т. 54. № 3. – С. 973.
4. Кузьминых В.А., Чикин Г.Л. // Теория и практика сорбц. процессов. – Воронеж: ВГУ, 1983. – Вып. 16. – С. 3-16.
5. Ионообменные методы очистки веществ / Под ред. Чикина Г.А., Мягкого О.Н. Воронеж: Изд-во Воронеж ун-та, 1984. – 372 с.
6. Практикум по ионному обмену / В.Ф. Селеменев и др. – Воронеж : ВГУ, 2004. – 160 с

7.Славинская Г.В. Расчет выходной кривой динамической сорбции триптофана высокоосновным анионитом / Г.В. Славинская и др. // Журн. физ. химии. – 2004. – Т. 78, № 8. – С. 1475-1478.

Коротких Оксана Ивановна – магистрант кафедры аналитической химии, г. Воронеж, тел. (4732) 208-932

Хохлова Оксана Николаевна - к.х.н., доцент аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732) 208-932

Хохлов Владимир Юрьевич - д.х.н., доцент кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732) 208-932

Селеменов Владимир Федорович – д.х.н., проф., заведующий кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732) 20-89-32

Korotkikh Oksana I. – student of Voronezh State University, department of analytical chemistry, e-mail: ksushkakor@mail.ru

Khokhlova Oksana N. - Ph. D., associate professor, department of analytical chemistry Voronezh State University

Khokhlov Vladimir Yu. - Dr. of Sci., associate professor, department of analytical chemistry Voronezh State University, e-mail: vlad@chem.vsu.ru

Selemenev Vladimir F. – professor, head of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: common@chem.vsu.ru



УДК 543.5

Определение йодид-иона в минерализованной природной воде методом изократической ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием

Колотилина Н.К., Долгоносов А.М.

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского РАН, Москва

Поступила в редакцию 02.09.2009 г.

Аннотация

Показана возможность определения йодида в природной минерализованной воде, в составе которой преобладает хлористый натрий, методом классической изократической ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием. Подобраны параметры режима разделения на колонке, наполненной центрально-привитым ионитом КанК-АСУ при элюировании карбонатно-щелочным раствором, содержащим добавку роданида калия. Предел обнаружения йодида в природной воде составил 0.07 мг/л йодида при объеме дозируемой пробы 300 мкл.

Ключевые слова: ионная хроматография, кондуктометрическое детектирование, природные минерализованные воды, йодид

An ion chromatography technique for the determination of iodide in saline water is reported. A KanK-ASU anion-exchange column with low capacity was used with a basic-carbonate eluent containing a little amount of KSCN. Conditions were established for isocratic baseline separation with post-column suppression and conductivity detection. The detection limit for iodide in natural saline water is about 0.07 mg/l for a 300- μ l injection.

Key words: ion chromatography, conductivity detection, natural mineralized waters, iodide

Введение

Определение йода в природных водах актуально по ряду причин. Йод – микроэлемент, необходимый для нормальной жизнедеятельности как водных, так и наземных организмов. Содержание йода в океанической воде является одним из индикаторов ее биологической продуктивности. В природных водах йод присутствует исключительно в одной из двух ионных форм: как йодат-ион в окислительной среде, как йодид-ион – в восстановительной. Благодаря этому йод является удобным элементом для характеристики окислительно-восстановительных условий в растворах. Кроме того, йод является одним из продуктов, высвобождающихся в результате работы ядерных реакторов.

Немногие инструментальные методы прямого определения микроколичеств йодида в минерализованных природных водах (вольтамперометрия [1], потенциометрия с проточным йодид-селективным электродом [2]) требуют

длительного времени анализа или слишком сложны. Ионная хроматография, как универсальный метод анионного анализа водных растворов, наиболее привлекательна для решения данной аналитической задачи.

Однако, при хроматографическом определении иодида в соленых природных водах, основным компонентом которых является NaCl, возникают проблемы, связанные с высокой минерализацией вводимой пробы: низкая эффективность разделения, недостаточная чувствительность. В литературе описаны способы решения этих проблем. Устранить негативное влияние большого избытка хлорида в пробе можно при введении его в состав подвижной фазы [3]. Другой подход – использование специальных модифицированных сорбентов и выбор условий, позволяющих уменьшить удерживание иодида и отделить его от матрицы. Так, авторы [4] применяют разделяющую колонку с обращенной фазой, модифицированной цвиттергентом; в работе [5] разделяющий сорбент представляет собой силикагель, химически модифицированный полиэтиленгликолем. Оригинальная методика приводится в работе [6]: в варианте изократической хроматографии используется послеклоночная реакция йодида с церием(IV) и проводится измерение флуоресценции при образовании церия(III). Авторы [7] переводят целевой компонент пробы в молекулярный йод и отделяют его от матрицы за счет ион-эксклюзионного удерживания комплекса йода с крахмалом. Необходимая чувствительность определения йодида в природных растворах достигается за счет применения современных высокоселективных к йоду детекторов: масспектрометрия [8], импульсная амперометрия [9], УФ спектрофотометрия [3,4,7]. Однако перечисленные выше детекторы обычно не входят в стандартную комплектацию ионного хроматографа. В настоящей работе рассматривается способ определения йодида в высокоминерализованной природной воде методом классической изократической ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием.

Эксперимент

Реагенты и методики приготовления растворов. Все рабочие и стандартные растворы готовили с использованием бидистиллята по навескам соответствующих солей квалификации «ХЧ». Стандартный раствор иодида с концентрацией 0.5 г/л готовили по точной навеске йодистого калия. Растворы с промежуточными значениями концентраций получали последовательным разбавлением основного раствора. Карбонатно-щелочной элюент готовили из 0.5 М раствора карбоната натрия и 2 М раствора NaOH, который хранили в кварцевой посуде, защищая от атмосферного углекислого газа аскаритовой трубкой. Добавку роданида в элюент, стандартные растворы и пробу вводили, дозируя 0.1 М раствор роданистого калия. Для моделирования общего солесодержания минеральной воды использовали 0.5 М раствор хлористого натрия.

Хроматографическая система. Определение проводили на хроматографе «Цвет-3006» (АО ЦВЕТ, РФ). Автоматическая запись хроматограмм в режиме реального времени проводилась с помощью совместимого с персональным компьютером аналого-цифрового преобразователя и соответствующей обслуживающей программы.

Элементы хроматографической системы: кран-дозатор с объемом дозирующей петли 30 и 300 мкл; предварительная колонка 6x200мм с анионитом АВ-17 в ОН-форме, осуществляющая очистку элюента от анионных примесей, в том

числе, карбонатов; разделяющая колонка размером 4x150мм с сорбентом КанК-АСУ [10] емкостью 0.0013 мэкв/мл и зернением 14 мкм; подавительная колонка размером 6x200мм с сорбентом КУ-2x8 емкостью 2мэкв/мл и зернением 150 мкм; кондуктометрический детектор. Элюент, содержащий 3мМ NaOH, 1мМ Na₂CO₃, 0.05мМ KSCN, подавали насосом высокого давления со скоростью 1.8 мл/мин.

Объект исследования. Определение иодида проводили в натуральной минеральной воде (пос.Берикей Республика Дагестан). Образец воды для проведения анализа, а также предварительная информация о минеральном составе и кислотности пробы были предоставлены Институтом проблем геотермии Дагестанского научного центра РАН. Содержание макрокомпонентов в минеральной воде (г/л): общая минерализация – 76-80, хлориды – 41, гидрокарбонаты – 0.2-0.6, натрий+калий – 24.5, кальций – 1.4 (общая жесткость – 90-100 мг-экв/л); рН7.22. Предположительная концентрация йодида в воде – на уровне 10мг/л.

Обсуждение результатов

Иодид-ион, обладая повышенным сродством к анионообменным группам разделяющего сорбента (четвертичные аммониевые основания), относится к категории сильноудерживаемых анионов. Использование сорбента малой емкости позволяет сократить время анализа и выбрать условия хроматографирования, при которых целевой компонент будет отделен от анионов матрицы, проходящих разделяющую колонку одной широкой полосой без разделения. В работе использовали сорбент из семейства центрально-локализованных сорбентов КанК, разработанных в ГЕОХИ РАН для разделения анионов [11]. КанК-АСУ предназначен для разделения сильноудерживаемых анионов (Г⁻, SCN⁻, S₂O₃²⁻ и др.). Его емкость составляет 0.0013 мэкв/мл, что примерно в 10 раз меньше, чем у стандартного сорбента КанК-АСт, используемого при определении среднеудерживаемых анионов (NO₂⁻, H₂PO₄⁻, NO₃⁻, Br⁻, SO₄²⁻ и др.). Состав карбонатно-щелочного элюента подбирали экспериментально, добиваясь отделения пика целевого компонента от анионов матрицы. С целью получения более четкой формы хроматографического пика йодида в элюент вводили небольшую добавку сильноудерживаемого хорошо проводящего роданид-иона.

Для определения йодида в высокоминерализованной минеральной воде необходимо, чтобы при минимально допустимом разбавлении пробы концентрация целевого компонента оставалась выше предела его обнаружения.

Для выявления области линейности градуировочной кривой и предела обнаружения йодида проводили его определение из водных растворов йодистого калия в диапазоне концентраций 0.25-10 мг/л J⁻ (объем дозирующей петли – 30 мкл). Результаты представлены на рис.1, из которого видно, что область линейности находится в интервале концентраций от 0.25 до 4 мг/л и описывается уравнением

$$Y = -0.150 + 2.720X; R = 0.998; s = 0.107 \text{ мг/л } (n = 7),$$

где Y – высота хроматографического пика (мВ), X – концентрация йодида (мг/л), R – коэффициент корреляции, s – стандартное отклонение.

Предел обнаружения йодид-иона при данных условиях составил 0.2 мг/л, что не позволяет проводить определение при минимально возможном 100-кратном разбавлении исходного образца.

Для повышения чувствительности методики увеличили объем вводимой пробы до 300мкл и получили градуировочную кривую. В интервале концентраций 0.1-4 мг/л график линеен и описывается уравнением

$$Y = 0.127 + 6.813X; R = 0.999; s = 0.057 \text{ мг/л } (n = 9).$$

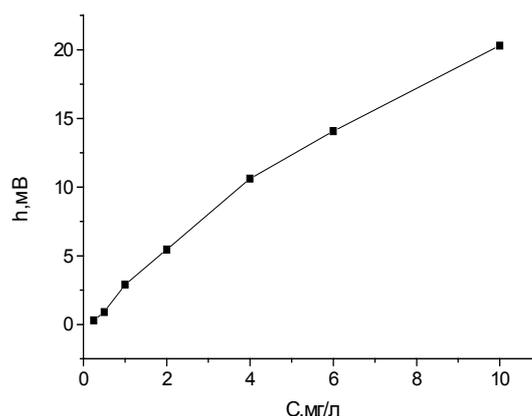


Рис.1. Градуировочный график определения йодид-иона из индивидуального раствора КJ. Объем пробы — 30мкл

Предел обнаружения йодида снизился до 0.07 мг/л, что делает возможным его определение при 100-кратном разбавлении исходной воды.

Хроматограмма стандартного раствора йодида калия с концентрацией йодида 0.2 мг/л представлена на рис.2.

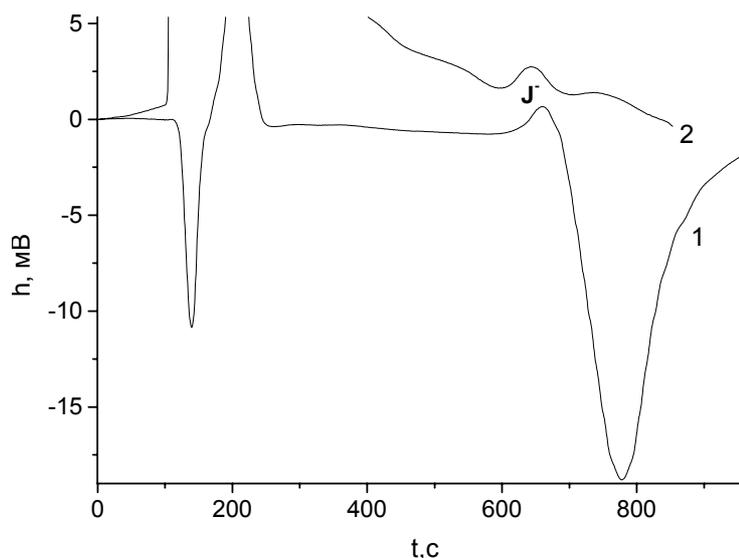


Рис.2. Хроматограммы стандартного раствора йодида с концентрацией 0.2 мг/л: 1 - на бидистиллированной воде, 2 - на фоне 530 мг/л хлорида и 0.095 мМ роданида. Объем пробы – 300 мкл

Присутствие в составе элюента проводящей добавки роданида привело к появлению отрицательного системного пика, величина которого зависит от солесодержания пробы и особенно чувствительна к содержанию в ней роданида. Экспериментально подобрали количество роданида (0.095 мМ), вводимое в градуировочные растворы и пробы с целью компенсации отрицательного пика. Для приведения стандартов в соответствие анализируемому образцу по макросоставу в стандартные растворы йодида калия вводили 530 мг/л хлорида, моделирующее общее солесодержание минеральной воды при 100-кратном разбавлении.

Для более точного определения йодида получили градуировочный график в узком диапазоне концентраций целевого компонента (0.1-0.3 мг/л) на фоне 530 мг/л хлорида и 0.095 мМ роданида (Рис.3), провели определение йодида при разбавлении исходной минеральной воды в 100 раз (Рис.4).

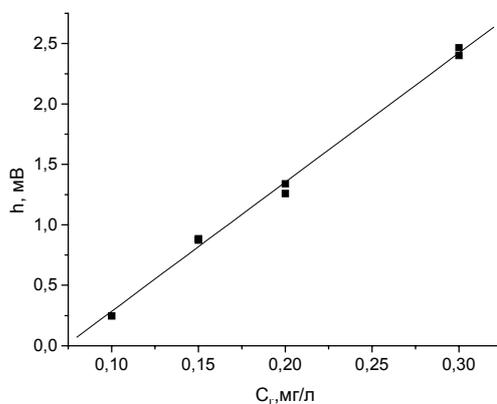


Рис.3. Градуировочный график определения йодида в диапазоне концентраций 0.1-0.3 мг/л на фоне 530мг/л хлорида и 0.095мМ роданида. Объем пробы – 300 мкл. $R = 0.997$; $s = 0.006$ мг/л ($n = 7$).

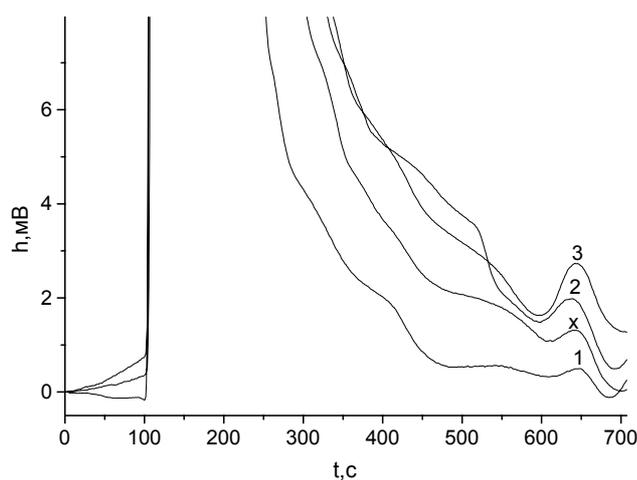


Рис.4. Хроматограммы (1,2,3) стандартных растворов йодида на фоне 530 мг/л Cl^- и 0.095 мМ SCN^- с концентрацией, соответственно, 0.1, 0.15 и 0.2. мг/л; x — хроматограмма минеральной воды, разбавленной в 100 раз, на фоне 0.095 мМ SCN^- . Разделяющая колонка размером 4x150 мм с сорбентом КанК-АСУ емкостью 0.0013 мэкв/мл, зернением 14 мкм. Подавительная колонка размером 6x20 мм с сорбентом КУ-2x8 емкость 2 мэкв/мл, зернением 150 мкм. Состав элюента: 3 мМ NaOH, 1мМ Na_2CO_3 , 0.05мМ KSCN. Скорость элюирования - 1.8 мл/мин. Объем пробы — 300 мкл

По результатам двух независимых определений концентрация йодида в минеральной воде составляет 13.0 ± 1.2 мг/л ($P = 0.95$).

Заключение

Проведено определение йодида в природной воде высокой минерализации. Показано, что подобные аналитические задачи можно удовлетворительно решать,

используя ионный хроматограф стандартной комплектации. Предел обнаружения иодида составил 0.07 мг/л, воспроизводимость $\leq 5\%$, коэффициент селективности по отношению к хлориду $\sim 3 \cdot 10^3$ г/г

Список литературы

1. Luther G.W., Branson-Swatz C., Ullman W.J. Direct determination of iodide in seawater by cathodic stripping square wave voltammetry // *Anal. Chem.* 1988. V 60. P.1721-1724.
2. Nakayama E., Kimoto T., Okasak S. Automatic determination of iodine species in natural waters by a new flow-through electrode system // *Anal. Chem.* 1985. T 57. P.1157-1160.
3. Ito K., Sunahara H. Ion chromatography with ultraviolet and amperometric detection for iodide and thiocyanate in concentrated salt solutions // *J. Chromatogr. A.* 1990.V. 502. P. 121-129.
4. Hu W., Yang P., Hasebe K., Haddad P. R., Tanaka K. Rapid and direct determination of iodide in seawater by electrostatic ion chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2002.V. 956. Iss 1-2. P.103-107.
5. Rong L., Lim L. W., Takeuchi T. Determination of iodide in seawater samples by ion chromatography with chemically-bonded poly(ethylene glycol) stationary phase. // *J. Chromatogr. A.* 2006.V. 1128. Iss. 1-2. P.68-72.
6. Miura Y., Hatakeyama M., Hosino T., Haddad P. R. Rapid ion chromatography of L-ascorbic acid, nitrite, sulfite, oxalate, iodide and thiosulfate by isocratic elution utilizing a postcolumn reaction with cerium(IV) and fluorescence detection. // *J. Chromatogr. A.* 2002.V. 956.Iss.1-2. P.77-84.
7. Li H.-B., Chen F., Xu X.-R. Determination of iodide in seawater and urine by size exclusion chromatography with iodine–starch complex // *J. Chromatogr. A.* 2001.V. 918. Iss.2 P.335-339.
8. Valentín-Blasini L., Blount B. C., Delinsky A. Quantification of iodide and sodium-iodide symporter inhibitors in human urine using ion chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2007.V. 1155. Iss.1. P.40-46.
9. Bruggink C., van Rossum W. J.M., Spijkerman E., van Beelen E. S.E. Iodide analysis by anion-exchange chromatography and pulsed amperometric detection in surface water and adsorbable organic iodide. // *J. Chromatogr. A.* 2007.V. 1144. Iss.2. P.170-174.
10. Долгоносов А.М., Сеньявин М.М., Волощик И.Н. Ионный обмен и ионная хроматография. М.Наука, 1993. 222с.
11. Долгоносов А.М., Способ получения сорбента для ионной хроматографии. Пат. РФ 1161513. Заяв.20.04.1992 (А.С. SU 1161513. Опубл. Б. и. № 22, 15.06.1985).

Колотилина Надежда Константиновна –
Научный сотрудник лаборатории сорбционных
методов ГЕОХИ РАН. тел 9397032 (раб)

Долгоносов Анатолий Михайлович – д.х.н.,
ведущий научный сотрудник лаборатории
сорбционных методов ГЕОХИ РАН.

Kolotilina Nadezhda K. – Research Scientist,
Laboratory of Sorption Methods, GEOKHI RAS.
nkolotilina@mail.ru

Dolgonosov Anatoly M. – Leading Research
Scientist, Laboratory of Sorption Methods,
GEOKHI RAS.



УДК 541.183; 543.544

Сопоставление термодинамических характеристик адсорбции аминокислот и их ассоциатов, рассчитанных молекулярно-статистическим методом, и их величин удерживания на углеродном сорбенте Гиперкарбе в варианте ОФ ВЭЖХ

Кузнецова Е.С., Буряк А.К.

Учреждение Российской Академии Наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фrumкина РАН, Москва

Поступила в редакцию 13.08.2009 г.

Аннотация

Исследовано влияние строения аминокислот, их димеров и ассоциатов с компонентами элюента на их адсорбцию на поверхности углеродных материалов. Проведен молекулярно-статистический расчет термодинамических характеристик адсорбции (ТХА) для ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина), гетероциклической аминокислоты (триптофана) и их димеров с трифторуксусной кислотой (ТФУ) на поверхности графитированной термической сажи (ГТС). Полученные данные сопоставлены с закономерностями удерживания аминокислот на пористом графитированном углероде Гиперкарбе в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Показано, что ТХА и величины удерживания аминокислот возрастают с увеличением углеродной цепи этих соединений.

Ключевые слова: аминокислоты, димеры, водородная связь, графитированная термическая сажа, Гиперкарб, термодинамические характеристики адсорбции, фактор удерживания, относительное удерживание

The influence of structure of amino acids, their dimers and associates with the components of eluent on their adsorption on the surface carbon sorbent was studied. Molecular statistical calculations of the thermodynamic characteristics of adsorption (TCA) of aromatic amino acids (phenylalanine, tyrosine), heterocyclic amino acids (tryptophan) and their dimmers with trifluoroacetic acid (TFA) on the surface graphitized thermal carbon black (GTCB) was carried out. The obtained data was compared with the regularities of retention of amino acids on the porous graphitic carbon Hypercarb in a variant of reversed-phase high-performance liquid (RP HPLC). It was shown that TCA and the values of retention of amino acids increase with lengthening of the carbon chain of these compounds.

Key words: Amino acids, dimers, hydrogen bond, graphitized thermal carbon black, Hypercarb, thermodynamic characteristics of adsorption, retention factor, relative retention

Введение

Аминокислоты как основные составные части белков, пептидов и некоторых антибиотиков участвуют в регуляции всех жизненных процессов организма. Димеры аминокислот интересны как пример образования водородной связи. Небольшие

димерные молекулы являются моделями для больших систем, где существуют сильные водородные связи, такие как в белках. В связи с этим изучение свойств аминокислот, особенностей их межмолекулярных взаимодействий, а также их разделение и идентификация в сложных смесях имеет большое практическое и теоретическое значение.

Аминокислоты представляют собой малолетучие соединения, обладающие кислотными и основными группами. Поэтому перед анализом их обычно переводят в различные производные путем защиты функциональных амино- или карбоксильных групп. Так, например, при проведении газохроматографического эксперимента используют производные аминокислот в виде N- трифторацетильных метиловых и n-бутиловых эфиров [1-3]. Высокая полярность аминокислот и низкие коэффициенты поглощения в УФ области (за исключением ароматических аминокислот) осложняют их анализ методом ВЭЖХ. Во многих работах с целью понижения предела обнаружения для определения примесных концентраций аминокислот используют методы пред- или послеклоночной дериватизации [4].

В то же время в последние десятилетия появился ряд работ, показывающих возможность разделения аминокислот, пептидов, гликопептидов, полипептидных антибиотиков методом ВЭЖХ с использованием пористого графитированного углерода Гиперкарба [5-9]. Этот сорбент представляет собой пористые сферические углеродные частицы, состоящие из плоских слоев гексагонально выстроенных атомов углерода. Валентности атомов углерода полностью замещены, и поэтому Гиперкарб обладает отличными от силикагельных и полимерных фаз характеристиками удерживания и селективности [10-12].

Пористый графитированный углерод проявляет превосходные свойства при анализе структурно близких соединений и позволяет разделять различные изомеры. Кроме того, Гиперкарб характеризуется стабильностью в широком диапазоне величин рН (0-14), температур и концентраций солей и эффективен для разделения высокополярных соединений. В этом случае сорбент удерживает вещества за счет эффекта полярного удерживания, при котором происходит тем большее взаимодействие вещества с сорбентом, чем больше полярность анализируемого соединения. В результате более полярные молекулы характеризуются большими временами удерживания по сравнению с фазами на основе силикагеля [13, 14]. Кроме того, колонки Гиперкарб идеально подходят для решения проблем разделения как в обращенно-фазовых, так и нормально-фазовых вариантах ВЭЖХ и ЖХ-МС, и могут переключаться между элюентами обращенно-фазовой и нормально-фазовой хроматографии в рамках одного анализа, например, от воды к ацетонитрилу и дихлорметану.

Одним из методов, с помощью которого возможна надежная оценка адсорбционных характеристик веществ, является молекулярно-статистический расчет термодинамических характеристик адсорбции (ТХА). Этот подход опирается на полуэмпирическую молекулярно-статистическую теорию адсорбции и атом-атомное приближение для взаимодействия адсорбат – адсорбент. Метод позволяет определять константы равновесия, теплоты и энтропии адсорбции для молекул разных классов, в том числе изомерных, на поверхности модельного углеродного сорбента – графитированной термической сажи в широком интервале температур [15, 16]. Выбор ГТС в качестве модельного сорбента обоснован такими преимуществами, как химическая и геометрическая однородность поверхности. ТХА на поверхности ГТС в значительной степени определяются геометрической структурой и поляризуемостью молекул адсорбатов. Поскольку аминокислоты являются сложным объектом для анализа ТХА при их экспериментальном

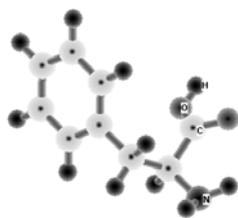
исследовании хроматографическими методами, то молекулярно-статистический расчет фактически оказывается единственным методом определения ТХА свободных аминокислот.

Физико-химическое состояние поверхности ГТС и пористого графитированного углерода Гиперкарба в значительной степени идентичны [11, 17]. Поэтому, рассчитанные ТХА могут быть использованы для прогнозирования закономерностей удерживания аминокислот и их производных при проведении ОФ ВЭЖХ на неполярных углеродных сорбентах типа Гиперкарб.

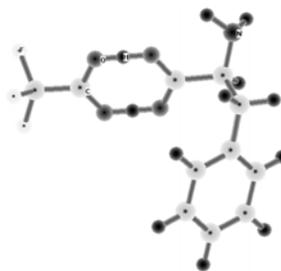
Цель данной работы заключается в изучении влияния строения аминокислот, их димеров и ассоциатов с компонентами элюента на их адсорбцию на поверхности ГТС и пористого графитированного углерода Гиперкарба.

Теоретическая часть

Молекулярно-статистический расчет ТХА проведен для следующих соединений: трифторуксусной кислоты (ТФУ), аминокислот – фенилаланина, тирозина, триптофана и их димеров с ТФУ. На рис.1 приведены графические формулы некоторых исследованных веществ.



Фенилаланин



Димер фенилаланина с ТФУ

Рис. 1. Графические формулы исследуемых соединений

Для расчета параметров атом-атомного потенциала (ААП) межмолекулярного взаимодействия атомов С, Н, О и N в молекуле адсорбата с атомами С базисной грани графита использован потенциал в форме Бакингема-Корнера [15, 16]

$$\varphi = -C_1 r^{-6} - C_2 r^{-8} + B \cdot \exp(-qr),$$

где C_1 и C_2 , кДж·нм·моль⁻¹ – параметры сил притяжения, B , кДж·нм·моль⁻¹ и q , нм⁻¹ – параметры сил отталкивания. Параметр сил отталкивания q принят равным 35.7 нм⁻¹, как в [15, 18]. Параметры сил притяжения рассчитаны из формулы Кирквуда-Мюллера [15].

Значения атомных поляризуемостей (α , м⁻³⁰) атомов N в аминогруппе и О в карбоксильной группе рассчитаны на основании экспериментальных данных по молекулярной рефракции молекул первичных аминов и карбоновых кислот [19]. Величины диамагнитной восприимчивости (χ , м⁻³⁶) атомов N и О взяты из [20].

Для аминогруппы в работе [21] рассчитаны параметры атом-атомной потенциальной функции для взаимодействия атома N в аминах с атомом С графита. В работе [22] проведен расчет параметров для атома О в карбоксильной группе аминокислот и выбраны два значения ААП при разных равновесных расстояниях r_0 . В настоящей работе использованы значения параметров ААП, рассчитанные авторами и полученные в [15, 21, 22]. В таблице 1 представлены данные, использованные при расчете параметров ААП молекул аминокислот и их димеров.

Таблица 1. Параметры ААП (при $q = 35,7 \text{ нм}^{-1}$) для атомов N, O в аминокислотах и атома F и CF_3 группы в ТФУ и димерах с ТФУ, рассчитанные в данной работе и взятые из работ [15], [21], [22] при различных значениях r_0 .

r_0 , нм	$C_1 \cdot 10^3$, кДж·нм ⁶ ·моль ⁻¹	$C_2 \cdot 10^5$, кДж·нм ⁸ ·моль ⁻¹	$B \cdot 10^{-5}$, кДж·моль ⁻¹
атом N			
0.370 [22]	1.754	4.835	2.250
0.360 [21]	1.684	4.055	1.719
атом O			
0.326 [22]	0.922	1.893	0.553
0.360 [22]	0.922	1.893	1.003
атом F			
0.32 [15]	0.877	1.035	0.646
группа CF_3			
0.36	4.222	5.562	4.118
	3.082*	4.060*	3.006*

* - уточненные в данной работе параметры ААП с поправкой $\beta = 0.73$

При расчете ТХА геометрические параметры исследованных веществ взяты из [23, 24], а значения длин водородных связей димерных молекул – из [25]. Мольные дифференциальные теплоты ($\overline{\Delta U}_1$) и энтропии ($\overline{\Delta S}_1$) адсорбции определяли как в [26] по формулам:

$$\overline{\Delta U}_1 = RT^2 \frac{d \ln K_1}{dT},$$

$$\overline{\Delta S}_1 / R = \ln K_1 + T \frac{d \ln K_1}{dT} - 1$$

на основе уравнения

$$\ln K_1 = A + B/T = (\overline{\Delta S}_1 + R)/R - \overline{\Delta U}_1 / (RT),$$

где $A = (\overline{\Delta S}_1 + R)/R$ – энтропийная константа, $B = -\overline{\Delta U}_1 / R$ – константа, связанная с дифференциальным мольным изменением энергии. Рассчитанные значения константы Генри, теплоты и энтропии адсорбции для аминокислот и их димеров представлены в таблице 2.

Эксперимент

Хроматографический анализ проводили методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, США), укомплектованном диодно-матричным детектором. Детектирование осуществляли при длинах волн 254, 210, 224 и 280 нм, охватывающих интервал определения ароматических и аминокислотных соединений. Использовали колонку Гиперкарб размером $2.1 \cdot 100$ мм с диаметром частиц сорбента 5 мкм и диаметром пор 250 Å, с удельной поверхностью – 120 м²/г. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.04 % трифторуксусной кислоты в воде (С) и 0.04% трифторуксусной кислоты в ацетонитриле (В). Элюирование проводили в градиентном режиме: 0 -10 мин – 100 % В, 11 мин – 100 % В, 20 мин – 5 % В со скоростью элюента 0.5 мл/мин. Образцы аминокислот фенилаланина, тирозина, триптофана (фирмы «Sigma», США) растворяли в растворе, содержащем ацетонитрил и воду при объемном отношении 1:1. Объем вводимой пробы составлял 5 – 10 мкл.

Для характеристики удерживания исследованных аминокислот использовали величину фактора удерживания k и относительную величину (селективность) α , которые рассчитывали по формулам:

$$k = (t_R - t_M) / t_M \quad \text{и} \quad \alpha = k_i / k_{st},$$

где t_R – время удерживания исследуемого вещества, t_M – время удерживания несорбирующегося вещества, k_i и k_{st} – факторы удерживания исследуемого вещества и стандарта. Мертвый объем определяли по объему удерживания нитрита калия. В качестве стандартов были выбраны диэтиламин (фирма FisherBiotech, чистота > 98.5 %) и фенол (Новомосковский Оргсинтез, чистота «ч»).

Для количественной оценки различий в удерживании исследуемых соединений были определены разности их дифференциальных мольных энергий адсорбции Гиббса по формуле:

$$\delta(\Delta G)_{1,2} = -RT \ln(k_i / k_{st}) = -RT \ln \alpha \quad (T = 298 \text{ K}).$$

Полученные характеристики удерживания для молекул фенилаланина, тирозина и триптофана представлены в таблице 3.

Обсуждение результатов

Для исследуемых ароматических аминокислот – фенилаланина и тирозина, а также гетероциклической аминокислоты – триптофана рассчитаны термодинамические характеристики адсорбции на поверхности ГТС с использованием параметров ААП [15, 21, 22]. Значения ТХА фенилаланина, тирозина и триптофана сопоставлены с полученными ранее в работе [27] данными для адсорбции гетероциклической аминокислоты – пролина, имеющей структуру ковалентно замкнутого пятичленного кольца. На рис. 2 представлена зависимость логарифма константы Генри ($\ln K_{I,C}$) от обратной температуры для адсорбции исследуемых соединений.

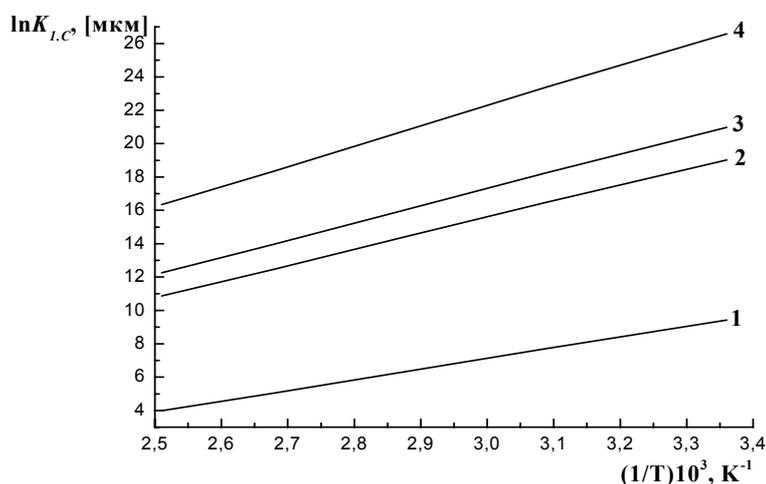


Рис. 2. Зависимость логарифма константы Генри от обратной температуры для молекул аминокислот: 1 – пролин, 2 – фенилаланин, 3 – тирозин, 4 – триптофан

Наибольшее значение константы Генри получено для молекулы триптофана, молекулярный вес которой наибольший среди исследованных аминокислот. Молекулы фенилаланина и тирозина имеют близкие значения константы Генри, что объясняется сходным химическим строением. Различие в строении этих веществ

выражается только наличием дополнительной гидроксильной группы в бензольном кольце у молекулы тирозина. Таким образом, наблюдается возрастание значений ТХА рассмотренных аминокислот с увеличением углеродной цепи этих соединений.

Важную роль оказывает межмолекулярная водородная связь на адсорбцию ассоциатов аминокислот с компонентами элюента. В качестве подвижной фазы при хроматографическом анализе аминокислот использовали смеси воды и ацетонитрила с добавлением ТФУ. В молекулярно-статистических расчетах для ТФУ и димера пролина с ТФУ использовали параметры ААП для атома F из литературных данных [15]. Для димеров фенилаланина и тирозина с ТФУ был использован ААП группы CF_3 , полученный суммированием атом-атомных потенциалов каждого атома и уточненный поправкой, учитывающей расчетные данные для адсорбции ТФУ на ГТС при использовании ААП для отдельных атомов в группе CF_3 (таблица 1). Значение длин водородных связей $O(H)\cdots O(C=O)$ в рассмотренных димерах составляет 2.667 \AA [25].

На рис. 3 представлена зависимость логарифма константы Генри ($\ln K_{I,C}$) от обратной температуры для адсорбции ТФУ, аминокислот и их димеров с ТФУ.

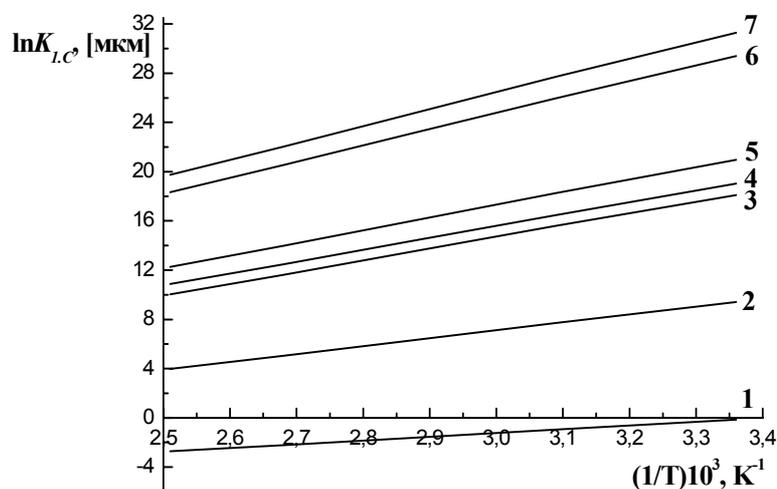


Рис. 3. Зависимость логарифма константы Генри от обратной температуры для трифторуксусной кислоты, аминокислот и их димеров с трифторуксусной кислотой: 1 – ТФУ, 2 – пролин, 3 – димер пролина с ТФУ, 4 – фенилаланин, 5 – тирозин, 6 – димер фенилаланина с ТФУ, 7 – димер тирозина с ТФУ

Как видно из рис. 3 для димеров фенилаланина и тирозина с ТФУ получены наибольшие значения константы Генри. Сравнительный анализ ТХА димерных молекул и исходных соединений показывает, что значения константы Генри больше для димеров аминокислот с ТФУ, чем для молекул исходных аминокислот.

Из рассчитанных значений констант Генри определены теплоты и энтропии адсорбции аминокислот и их димеров с ТФУ на ГТС (табл. 2). Значения теплоты адсорбции ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина) и триптофана существенно больше, чем соответствующие значения для пролина. Молекулы фенилаланина и тирозина имеют близкие теплоты адсорбции, что связано со сходной геометрической структурой этих соединений. Следует отметить, что наибольшие теплоты адсорбции получены для димеров ароматических аминокислот с ТФУ.

Таблица 2. Рассчитанные значения ТХА для исследованных соединений в интервале температур 298-398 К.

Соединение	$-\Delta\bar{U}_1^0$,	$-\Delta\bar{S}_1^0$,	$\ln K_{I,C}$, (мкМ)
	кДж · моль ⁻¹	Дж · моль ⁻¹ · К ⁻¹	
ТФУ	25.2	94.1	-0.1
Аминокислоты			
Пролин	53.5	109.4	9.4
Фенилаланин	80.5	120.0	19.0
Тирозин	85.8	121.9	20.9
Триптофан	100.9	125.9	26.5
Димерные молекулы			
Димер пролина с ТФУ	79.5	124.7	18.1
Димер фенилаланина с ТФУ	108.8	129.2	29.4
Димер тирозина с ТФУ	113.9	130.3	31.3

В целом при анализе адсорбции исследуемых веществ на ГТС прослеживается следующая закономерность: константы Генри и теплоты адсорбции аминокислот и их димеров с ТФУ возрастают с увеличением углеродной цепи этих соединений.

Методом ВЭЖХ проведено исследование удерживания аминокислот на углеродном сорбенте Гиперкарбе в обращенно-фазовом варианте. В работе [28] показано, что удерживание на пористом графитированном углероде определяется сочетанием двух факторов: дисперсионными взаимодействиями между веществом – подвижной фазой и веществом – поверхностью сорбента, с одной стороны, и индуцированными зарядом взаимодействиями полярного вещества с поляризуемой поверхностью сорбента, с другой стороны. Таким образом, сила взаимодействия вещества с сорбентом зависит от площади его молекулы при контакте с поверхностью пористого графитированного углерода и также от типа и расположения функциональных групп по отношению к поверхности сорбента. Предполагается, что плоские молекулы подходят к поверхности пористого графитированного углерода на меньшие расстояния, сильнее взаимодействуют и долго удерживаются. У неплоских молекул уменьшается взаимодействие с поверхностью сорбента и уменьшается удерживание. Одно из главных отличий Гиперкарба от других обращенно-фазовых материалов состоит в том, что на этом сорбенте сильно удерживаются полярные соединения.

В качестве добавки к подвижной фазе в работе использовали ТФУ. Этот прием широко используется в ОФ ВЭЖХ белков и пептидов. Типичные концентрации этой кислоты составляют 0.01 – 0.1% при добавлении к водной и органической составляющим подвижной фазы. ТФУ действует как ион-парный агент, присоединяясь к положительно заряженным функциональным группам пептидов и белков, увеличивая их удерживание. Поскольку ТФУ очень сильная кислота, она эффективно подавляет ионизацию карбоксильных групп и переводит аминокислоты в протонированную форму.

Для исследованных аминокислот подобраны условия удовлетворительного разделения и удерживания на колонке Гиперкарб в градиентном режиме. На рис. 4 приведена хроматограмма смеси ароматических аминокислот и гетероциклической аминокислоты (триптофана).

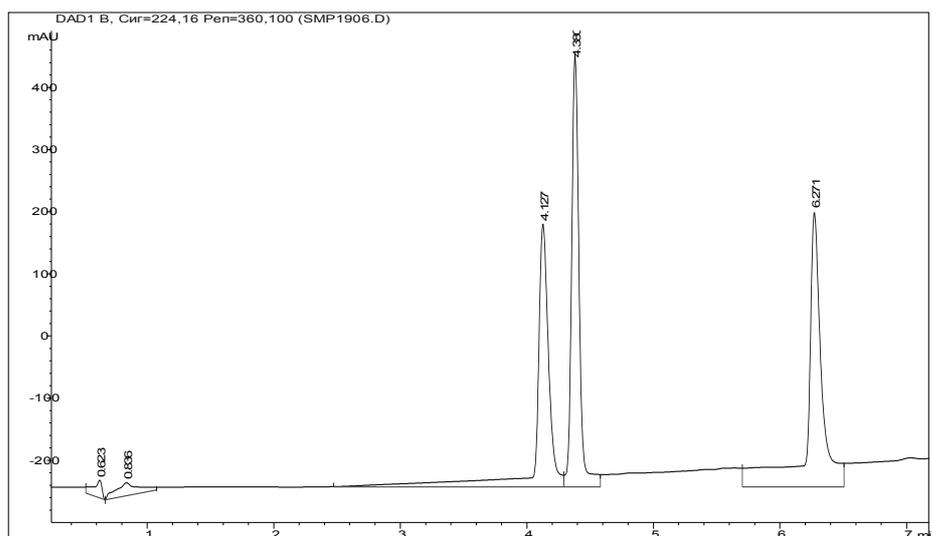


Рис. 4. Хроматограмма смеси аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана) на колонке Гиперкарб в градиентном режиме. Детектирование: 224 нм

Для оценки влияния изменения структуры аминокислот на их удерживание в ОФ ВЭЖХ были рассчитаны разности мольных энергий Гиббса δ (ΔG) (таблица 3).

Таблица 3. Факторы удерживания, относительные величины удерживания и разности мольных энергий Гиббса (кДж/моль) сорбции аминокислот в условиях ОФ ВЭЖХ

Соединение	k	α		δ (ΔG), кДж/моль	
		стандарт		стандарт	
		фенол	диэтиламин	фенол	диэтиламин
Фенол	6.26	1	-	0	-
Диэтиламин	1.42	-	1	-	0
Фенилаланин	5.01	0.80	3.52	0.5	-3.1
Тирозин	5.35	0.86	3.76	0.4	-3.3
Триптофан	8.1	1.29	5.69	-0.6	-4.3

Из представленных данных видно, что фенилаланин и тирозин имеют близкие параметры удерживания, однако их можно разделить при хроматографическом анализе смеси аминокислот (рис. 4). Наибольшие характеристики удерживания получены для молекулы триптофана. Это объясняется увеличением молекулярного веса, а также сильным удерживанием этой полярной аминокислоты.

На рис. 5 (а, б) сопоставлены экспериментальные результаты, полученные методом ОФ ВЭЖХ, и рассчитанные молекулярно-статистическим методом ТХА для исследованных аминокислот. Как видно из рисунка наблюдается удовлетворительная корреляция между экспериментальными и расчетными значениями. Коэффициенты корреляции составляют 0.989 (рис. 5 а) и 0.995 (рис. 5 б). Таким образом, показана возможность априорного предсказания хроматографического поведения аминокислот в градиентной обращено-фазовой ВЭЖХ на Гиперкарбе методом молекулярно-статистического расчета констант адсорбционного равновесия. Сопоставление рис. 5 б и данных табл. 2 позволяют предположить, что образование димеров исследованных аминокислот с ТФУ не изменит порядка выхода димеров из колонки с Гиперкарбом, а только изменит абсолютные величины удерживания.

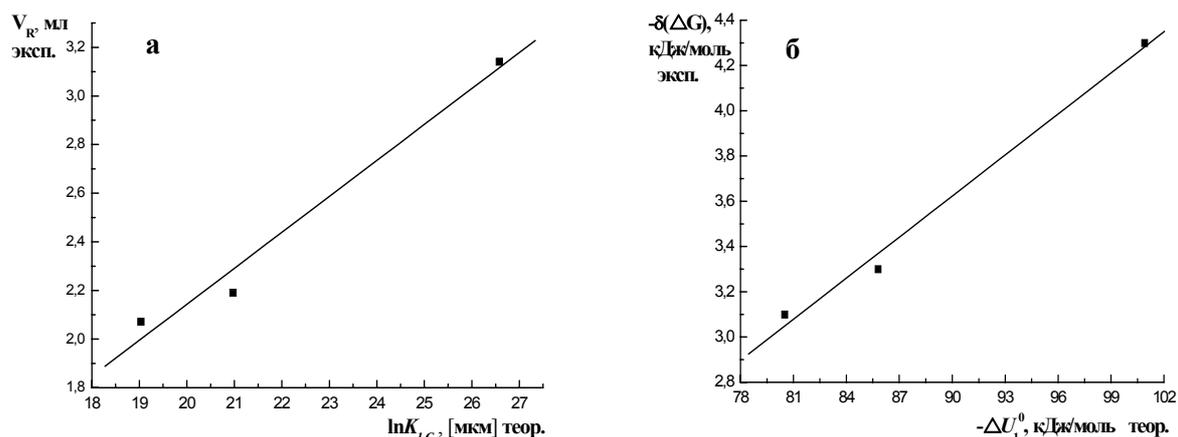


Рис. 5. Корреляционная зависимость между экспериментально определенными параметрами удерживания аминокислот на Гиперкарбе в условиях ОФ ВЭЖХ и рассчитанными молекулярно-статистическим методом ТХА этих соединений на ГТС

Заключение

Проведены молекулярно-статистические расчеты термодинамических характеристик адсорбции для аминокислот и их ассоциатов на поверхности ГТС. Показано, что значения константы Генри и теплоты адсорбции исследуемых соединений возрастают с увеличением их углеродной цепи и значения ТХА больше для димеров аминокислот с ТФУ, чем для исходных молекул.

Методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на пористом графитированном углероде Гиперкарбе получены характеристики удерживания ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина) и гетероциклической аминокислоты (триптофана). Обнаружено, что удерживание аминокислот возрастает с увеличением углеродной цепи сорбатов (от фенилаланина к триптофану).

Установлена корреляция между экспериментальными характеристиками удерживания аминокислот на углеродном сорбенте Гиперкарбе и термодинамическими характеристиками адсорбции этих веществ, рассчитанных молекулярно-статистическим методом.

Список литературы

1. Сунозова Е.В., Трубников В.И., Сакодынский К.И. Газовая хроматография аминокислот. М.: Наука, 1976. -83 с.
2. Gavrilova T.B., Kiselev A.V., Kulikov N.S., Vlasenko E.V. Gas Chromatography-Mass Spectrometry in the Study of the Adsorption of Sulfur-containing Amino Acids on Graphitized Thermal Carbon Black // *Chromatographia*. 1986. V. 22. P. 59 - 62.
3. Casal S., Oliveira M.B., Ferreira M.A. Gas chromatographic quantification of amino acid enantiomers in food matrices by their N(O,S)-ethoxycarbonyl heptafluorobutyl ester derivatives // *J. Chromatogr. A*. 2000. 866. P. 221-230.
4. Kim T.-Y., Kim H.-J. Chiral separation of 9-fluorenylmethylchloroformate- and dansyl chloride-derivatized D,L-serine by γ -cyclodextrin-bonded high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2001. 933. P. 99-106.

5. Chaimbault P., Petritis K., C. Elfakir C., Dreux M. Ion-pair chromatography on a porous graphitic carbon stationary phase for the analysis of twenty underivatized protein amino acids // *Journal of Chromatography A*. 2000. V. 870. Issues 1-2. P. 245-254.
6. Nemeth-Kiss V., Forgacs E., Cserhati T. Anomalous retention behavior of peptides on porous graphitized carbon column // *J. Chromatogr. A* 1997. 776. P. 147- 152.
7. Davies M. J., Smith K. D., Carruthers R. A., Chai W., Lawson A. M, Hounsell E. F Use of a porous graphitised carbon column for the high-performance liquid chromatography of oligosaccharides, alditols and glycopeptides with subsequent mass spectrometry analysis // *Journal of Chromatography*. 1993. 646 (2). P. 317-26.
8. Monser L., Darghouth F. Rapid liquid chromatographic method for simultaneous determination of tetracyclines antibiotics and 6-Epi-doxycycline in pharmaceutical products using porous graphitic carbon column // *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2000. V. 23. Issue 2-3. 15. P. 353-362.
9. Barrett D.A., Pawula M., Knaggs R.D., Shaw P.N. Retention behavior of morphine and its metabolites on a porous graphitic carbon column // *Chromatographia*. 1998. V. 47. No. 11/12. P. 667-672.
10. Csiktusnadi-Kiss G.A., Sagi G., Tegyei Z., Hypercarb – Effect of chemical structure on the chromatographic retention characteristics // *Chemia-Analytica*. 1999. 44 (5). P. 795-804.
11. Anderson David J. High-performance liquid chromatography (advances in packing materials) // *Anal. Chem*. 1995. 67 (12). P. 475-486.
12. Chaimbault P., Petritis K., Elfakir C., Dreux M., Hypercarb - Ion-pair chromatography on a porous graphitic carbon stationary // *J. of Chromatography A*. 2000. 870 (1-2). P. 245-254.
13. Echols K.R., Gale R.W., Feltz K., O'Laughlin J., Tillitt D.E., Schwartz T.R., Hypercarb – Loading capacity and chromatographic behavior // *J. of Chromatography A*. 1998. 811 (1-2). P. 135-144.
14. Ayrton J., Evans M. B., Harris A. J. and Plumb R. S. Porous graphitic carbon shows promise for the rapid chromatographic analysis of polar drug metabolites // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1995.V. 667. Issue 1. P. 173-178.
15. Авгуль Н.Н., Киселев А.В., Пошкус Д.П. Адсорбция газов и паров на однородных поверхностях. М.: Химия, 1975. – 384 с.
16. Буряк А.К. Применение молекулярно-статистических методов расчета термодинамических характеристик адсорбции при хромато-масс-спектрометрической идентификации органических соединений // *Успехи химии*. 2002. Т. 71. № 8. С. 788 -800.
17. Petritis K., Chaimbault P., Elfakir C., Dreux M. Parameter optimization for the analysis of underivatized protein amino acids by liquid chromatography and ionspray tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography A*. 2000. V. 896. Issues 1-2. P. 253-263.
18. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. М.: Химия, 1986. – 272 с.
19. Иоффе Б.В. Рефрактометрические методы химии. Л.: Химия, 1974. -400 с.
20. Краткий справочник физико-химических величин / Под ред. Равделя А.А., Пономаревой А.М. С.-П.: Специальная литература, 1999. – 232 с.
21. Яшкин С.Н., Григорьева О.Б., Буряк А.К. Экспериментальное и молекулярно-статистическое исследование адсорбции аминокислот на графитированной термической саже // *Изв. АН, Сер. хим.* 2001. Т.50. №6. С. 938-943.

22. Кузнецова Е.С., Ульянов А.В., Буряк А.К. Молекулярно-статистический расчет термодинамических характеристик адсорбции изомерных аминокислот на графитированной термической саже // Защита металлов. 2008. Т. 44. № 3. С. 260 - 266.
23. Гурская Г.В. Структура аминокислот. М.: Наука, 1966. – 158 с.
24. Rodrigues V. H., Paixao J. A., Costa M. M. R. R. and Beja A. Matos Glycinium trifluoroacetate // Acta Crystallographica Section C. 2002. 58. P. 658-660.
25. Chocholoušová J., Vacek J., Huisken Fr., Werhahn Ol., Hobza P. Staked Structure of Glycine Dimer Is More Stable than the Cyclic Planar Geometry with Two O-H...O Hydrogen Bonds: Concerted Action of Empirical, High-Level Nonempirical ab Initio, and Experimental Studies // J. Phys. Chem. A. 2002. V. 106. No. 47. P. 11540 - 11549.
26. Экспериментальные методы в адсорбции и молекулярной хроматографии / Под ред. Киселева А.В. и Древинга В.П. Л. М.: Московский Университет, 1995. – 447 с.
27. Кузнецова Е.С., Ульянов А.В., Буряк А.К. Молекулярно-статистические расчеты адсорбции пролина и его гидроксипроизводных на графитированной термической саже // Журнал Физической химии. 2009. Т. 83. № 4. С. 638 - 642.
28. Ross P. and Knox J. H. Carbon-Based Packing Materials for Liquid Chromatography, Applications // In Advances in Chromatography. V. 37., Marcel Dekker, Inc., New York. 1997. P. 120.

Кузнецова Елена Сергеевна – аспирант, Учреждение Российской Академии Наук Институт физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина, Москва, тел. +7 (495) 3301929, +7 495 9554419

Буряк Алексей Константинович – д.х.н., заведующий лабораторией физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, Учреждение Российской Академии Наук Институт физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина, Москва, тел. +7 495 3301929

Kuznetsova Elena S. - Post graduate student, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: eskuznetsova8@yandex.ru

Buryak Aleksey K. - Doctor of chemical science, Head of laboratory of physical-chemical basis of chromatography and chromate-mass-spectrometry, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: AKBuryak@ipc.rssi.ru



УДК 541.64:678.01

Целлюлозно-неорганические сорбенты в радиохимическом анализе

I. Перспективные сорбенты для радиохимического анализа

Ремез В.П.

Уральский научно-исследовательский химический институт (УНИХИМ), Екатеринбург

Зеленин В.И., Смирнов А.Л., Распопин С.П.,
Матерн А.И., Моржерин Ю.Ю.

Уральский государственный технический университет – УПИ, Екатеринбург

Поступила в редакцию 22.06.2009 г.

Аннотация

Проведена оценка возможности использования для радиохимического анализа неорганических сорбентов и их модификации – целлюлозно-неорганических сорбентов. Исследованы условия их синтеза.

Ключевые слова: целлюлозно-неорганические сорбенты, сорбция, ферроциансодержащие растворы, модификация, радиометрический анализ, радионуклиды

The estimation of an opportunity to use inorganic sorbents and their modification (cellulose-inorganic sorbents) has been carried out. Also, conditions of their synthesis have been examined.

Key words: cellulose-inorganic sorbents, sorption, ferrocyan-containing solutions, modification, the radiometric analysis, radio nuclides

Введение

Радиохимический мониторинг окружающей среды и прогнозирование миграции радионуклидов в экосистемах вызывают необходимость в создании экспресс-методов массового радиохимического анализа природных вод с пределом обнаружения определяемой активности порядка 1 Бк/м^3 , что соответствует уровню загрязнений, связанному с глобальными выпадениями радионуклидов. К таким экспресс-методам предъявляются требования высокой селективности, воспроизводимости, небольших погрешностей определения, а также обеспечения возможности выполнения всех стадий предварительного концентрирования, выделения и измерения активности полученного препарата непосредственно в полевых или судовых условиях.

Перед исследователями, занимающимися разработкой экспресс-методов радиохимического анализа природных водных сред, стоит задача подбора состава сорбентов, селективных к анализируемым радионуклидам. Такие сорбенты должны иметь хорошие фильтрационные характеристики, быть механически и химически устойчивы при длительной фильтрации через них больших (до 10 м³) объемов различных водных сред, обладать высокой скоростью сорбции и не должны содержать радиохимических примесей.

Анализ современных литературных данных [1, 2] позволяет сделать следующие выводы:

1. Наиболее перспективными для радиохимического экспресс анализа больших объемов природных водных сред являются композиционные неорганические ионообменные материалы (НИМ), состоящие из прочных гранул какого-либо вещества, покрытых устойчивым слоем сорбционно-активного, неорганического материала, селективного к анализируемым ионам.

2. В качестве материала гранул носителя композиционных НИМ успешно может быть использована древесная целлюлоза, на поверхности которой есть возможность прочно закрепить слои различных неорганических веществ.

3. Одной из важнейших задач радиохимического мониторинга окружающей среды является контроль содержания в природных водных средах радионуклида цезия-137, являющегося одним из наиболее опасных, долгоживущих продуктов деления ядерного горючего.

4. Лучшими для концентрирования радионуклидов цезия являются смешанные ферроцианиды переходных металлов.

5. Перспективным для получения композиционных целлюлозно-неорганических сорбентов (ЦНС) является способ обработки гранул целлюлозы раствором феррата натрия с последующим модифицированием полученного материала в ферроцианид железа [3, 4].

В статье описываются методические аспекты и результаты поиска оптимальных условий модифицирования композиционных ЦНС для промышленного получения ферроцианидов железа-калия с заданными свойствами, промышленное производство которых организовано на предприятии НПП «Экосорб»

Результаты и их обсуждение

Растворы феррата (VI) натрия получали в электрохимической ячейке из оргстекла, катодное и анодное пространство которой были разделены полихлорвиниловой мембраной. Размеры ячейки 200 × 100 × 100 мм, объем анодного пространства 1,8 л, объем катодного пространства 0,2 л. В качестве анода использовали пластины, изготовленные из стали марки СТ-3, катодом служила никелевая пластина. Напряжение в ячейку подавали через выпрямитель ВСА-11АК. Электролитом служили растворы едкого натра различных концентраций. Температуру электролита регулировали скоростью подачи холодной воды в водяной холодильник, находящийся в ячейке, электролиз вели при постоянном перемешивании электролита механической мешалкой МЛ-3. Содержание феррата в растворе определяли йодометрическим методом.

В работе были исследованы зависимости выхода феррата от концентрации щелочи в электролите, продолжительности анодного растворения и температуры электролита. Эксперименты показали, что выход феррата резко увеличивается с

повышением содержания едкого натра в электролите и при увеличении температуры. Способ получения ЦНС на основе гидроксида железа (III) заключался в обработке специально подготовленной поверхности гранулированной древесной целлюлозы раствором феррата (VI) натрия.

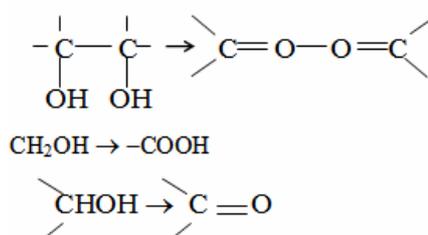
Древесную целлюлозу, используемую в качестве носителя для синтеза ЦНС, предварительно подготавливали с целью придания ей повышенной реакционной способности и удаления химически неустойчивых составляющих (гемицеллюлоза, лигнин) по следующей методике. Гранулы нужного размера (например, 0,2-0,6 мм) заливали пятью объёмами 5%-го раствора щелочи и перемешивали в течение 3-5 часов.

На этой стадии обработки происходит набухание целлюлозы, приводящее к увеличению капиллярной системы материала, растворение неустойчивых низкомолекулярных составляющих целлюлозы и удаление гемицеллюлоз и лигнина. После перемешивания в щелочном растворе целлюлозу промывали на сите водопроводной водой до нейтральной реакции, заливали тремя объёмами 5%-ой соляной кислоты и перемешивали 1-2 часа. Кислотная обработка в таких условиях приводит к дополнительному растворению гемицеллюлоз, удалению из материала продуктов щелочной деструкции и повышению реакционной способности целлюлозы. После перемешивания целлюлозы в кислотном растворе её отмывали дистиллированной водой до нейтральной реакции, сушили до воздушно-сухого состояния и использовали в качестве носителя для синтеза ЦНС.

Феррат (VI) натрия проявляет окислительные свойства в широком диапазоне рН. В щелочной среде в присутствии целлюлозы, являющейся восстановителем, феррат разлагается по реакции:



Молекулы целлюлозы имеют группировки, которые могут окисляться ферратом по схемам [5]:



Образующиеся при этом новые связи, по-видимому, и позволяют присоединять молекулы гидроксида железа (III) к поверхности целлюлозного носителя. Поскольку для синтеза использовались растворы феррата (VI) натрия в концентрированном едком натре при температуре 50°C, то одновременно с процессом окисления целлюлозы происходила её мерсеризация, приводящая к изменению структуры и реакционной способности материала. О степени мерсеризации целлюлозы, её окислении, перестройке водородных связей, являющихся наиболее существенным типом межмолекулярного взаимодействия в структуре целлюлозы, можно судить по спектрам инфракрасного (ИК) поглощения.

При сравнении ИК-спектров исходной целлюлозы и целлюлозы, обработанной концентрированным едким натром при 50° - "щелочной целлюлозы" можно отметить уширение полос гидроксильных групп на участке 2500 - 3580 см⁻¹, повышение интенсивности полос 1280 и 1240 см⁻¹ и увеличение поглощения в диапазоне, соответствующем 970 и 900 см⁻¹. Эти факты говорят о мерсеризации целлюлозы [6]. Специфика ИК-спектра "щелочной целлюлозы" свидетельствует об особенностях её водородных связей по сравнению с целлюлозой природной

модификации. Мерсеризованная целлюлоза обладает повышенной водоудерживающей способностью, и, следовательно, содержит больше влаги на единицу массы. В условиях обработки целлюлозы растворами феррата одновременно с мерсеризацией происходит её окисление, о интенсивности которого можно судить по полосе 1750 см^{-1} , соответствующей двойной связи $\text{C} = \text{O}$.

При обработке целлюлозы $0,05\text{M}$ раствором феррата (VI) натрия интенсивность поглощения в области 1750 см^{-1} заметно выше, чем при обработке раствором с концентрацией феррата $0,01\text{M}$.

Предположение о мерсеризации целлюлозы при её обработке раствором феррата (VI) натрия, сделанное на основании ИК-спектрометрических исследований, было подтверждено данными рентгенографического анализа. Переход целлюлозы из кристаллической модификации означает мерсеризацию целлюлозного носителя в процессе его обработки раствором феррата.

С целью получения сорбента с максимальным содержанием железа (III) было проведено изучение образования слоев гидроксида железа (III) в широком интервале концентраций растворов феррата, температуры проведения процесса и условий подготовки носителя.

Гранулированный целлюлозный носитель (древесная целлюлоза, из которой путём щелочно-кислотной обработки удалены неустойчивые гемицеллюлозы и лигнины) гранулометрического состава $0,2 - 0,6\text{ мм}$ заливали двумя объёмами раствора едкого натра марки "ХЧ" концентрации от 5 до 45%, перемешивали 30 мин. и к полученной суспензии при интенсивном перемешивании приливали три объёма феррата (VI) натрия. Был использован диапазон концентраций феррата от $0,01$ до $0,2\text{ M}$ при температурах от 20° до 50°C . Образующийся на поверхности целлюлозы в результате восстановления железа (VI) до железа (III) гидроксид железа (III) каталитически разлагает феррат (VI) натрия, поэтому реакция разложения феррата идёт быстро, в течение 3 - 5 минут. После обесцвечивания ярко-фиолетового раствора феррата (VI) натрия, соответствующего полному разложению феррата, целлюлозный носитель с образовавшимся на его поверхности гидроксидом железа (III) отделяли от щелочного раствора на сите, отмывали дистиллированной водой до нейтральной реакции промывного раствора и сушили до воздушно-сухого состояния. Щелочной раствор, оставшийся после синтеза сорбента, центрифугировали для удаления осадка, образовавшегося в объёме раствора и направляли на обработку новых партий целлюлозы. Полученный ЦНС анализировали на содержание железа (III) после перевода его в раствор 1M соляной кислоты комплексонометрическим титрованием с индикатором - сульфосалициловой кислотой.

При увеличении концентрации едкого натра в растворе, используемом для набухания целлюлозы, до 12% происходит повышение выхода железа (III) в слой гидроксида. При набухании в более крепких щелочных растворах целлюлоза мерсеризуется прямо в процессе набухания, ещё до обработки ферратом, что снижает выход железа (III) в сорбент. Максимальный выход, близкий к 100%, наблюдается после проведения набухания целлюлозы в 10-12%-ных растворах едкого натра, поэтому в дальнейшем набухание носителя осуществляли в растворах с такой концентрацией щелочи. Чем выше температура раствора феррата тем полнее мерсеризация [7], и, следовательно, тем более глубинные слои гранул целлюлозы активизируются и приобретают высокую реакционную способность. Этим и объясняется увеличение выхода железа (III) в твёрдую фазу гидроксида железа при повышении температуры феррата. Максимальный выход, близкий к 100%,

достигается при температурах раствора феррата 50°-70°, при дальнейшем нагревании раствора феррат разрушается, что приводит к снижению выхода железа.

Максимальный выход железа (III) в слой гидроксида железа достигается при использовании растворов, содержащих 0,01-0,015 М феррата. Количество железа (III) в сорбенте, полученном в этих условиях, колеблется в пределах 0,45 -0,9 ммоль/(грамм целлюлозы). При повышении концентрации феррата в растворе до 0,025-0,05 М содержание железа (III) в сорбенте повышается до 1,2-1,5 ммоль/(грамм целлюлозы), но выход железа (III) падает до 35-50%. При дальнейшем увеличении концентрации феррата в растворе содержание железа (III) в гидроксидном слое сорбента не увеличивается, выход железа (III) в сорбент снижается, основная масса феррата разлагается в объёме раствора, не участвуя в образовании сорбента.

Проведённые эксперименты позволили выбрать оптимальные условия синтеза гидроксида железа (III) на гранулированном целлюлозном носителе, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Оптимальные условия синтеза ЦНС на основе гидроксида железа

Наименование параметра	Значение параметра
Концентрация едкого натра в растворе при набухании целлюлозы, %	10 ± 0,5
Концентрация феррата (VI) натрия, М	0,015 ± 0,001
Температура раствора феррата, °С	50 ± 0,5
Выход железа в слой гидроксида железа, %	90 ± 5

Заключение

1. Найдены оптимальные условия синтеза феррата (VI) натрия, используемого для получения ЦНС гидроксида железа (III).

2. В качестве носителя для ЦНС на основе гидроксида железа удобно использовать гранулированную древесную целлюлозу, полученную путём щелочно-кислотной десорбции гемицеллюлозы и лигнинов из древесного опила.

3. Методами инфракрасной спектроскопии и рентгенофазового анализа установлено, что в процессе синтеза гидроксида железа на стадии обработки целлюлозы раствором феррата (VI) натрия в концентрированном едком натре происходит мерсеризация целлюлозного носителя, приводящая к перестройке структуры материала и изменению его свойств.

4. При исследовании взаимодействия целлюлозы с ферратом натрия установлено, что выход железа в гидроксидный сорбент из раствора феррата зависит от условий набухания носителя, температуры и концентрации раствора феррата.

Список литературы

1. Мелихов И.В., Бердоносова Д.Г., Сигейкин Г.И. Механизм сорбции и прогнозирование поведения сорбентов в физико-химических системах. // Успехи химии, 71(2) 2002, с.159-178.

2. Вольхин В.В., Егоров Ю.В., Белинская Ф.А. и др. Неорганические сорбенты// Ионный обмен. – М.: Наука, 1981. – С. 25 – 44.

3. Ремез В.П., Сингуров С.Ю. Зависимость сорбционных свойств ферроцианида железа от его состава // Тез. докл. конф. «Физико-химические основы природы селективности неорганических сорбентов», Свердловск, 1979. – С. 37 – 40.

4. Ремез В.П., Сингуров С.Ю. Исследование химизма модифицирования оксигидратных пленок железа в смешанные ферроцианиды железа-калия // Тез. докл. II Всесоюзной Конференции «Неорганические ионообменные материалы», Ленинград, 1980. – С.109 – 110.

5. Богомолов Б.Д. Химия древесины и основы химии высокомолекулярных соединений. – М.: Лесная промышленность, 1973. – 398 с.

6. Жбанков Р.Г. Инфракрасные спектры и структуры углеводов. – Минск: Химия, 1972. – 340 с.

7. Панков С.П., Файнберг Э.З. Взаимодействие целлюлозы и целлюлозных материалов с водой. М.: Химия, 1976, 231 с.

Ремез Виктор Павлович – д.т.н., зав. лабораторией 420 Уральского научно-исследовательского химического института (УНИХИМ)

Зеленин Виктор Иванович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Смирнов Алексей Леонидович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Распопин Сергей Павлович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Матерн Анатолий Иванович – д.т.н., проф., зав. кафедрой аналитической химии, ректор Уральского государственного технического университета –УПИ

Моржерин Юрий Юрьевич – д.т.н., проф. кафедры технологии органического синтеза Уральского государственного технического университета –УПИ

Remez Victor P. - Dr.Sci.Tech., head of the Laboratory 420 Ural Research Chemical Institutes (URCI)

Zelenin Victor I. - Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI, e-mail: vizel@isnet.ru

Smirnov Alexey L.- Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI

Raspopin Sergey P.- Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI

Matern Anatoly I. - Dr.Sci.Tech., the professor, зав. Faculty of analytical chemistry, the rector of the Ural State Technical University-UPI

Morzherin Jury Ju. – Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of technology of organic synthesis of the Ural State Technical University-UPI



УДК 547.1'128:620.22-022.53

Модифицирование силикатных поверхностей путем силилирования их кремнийорганическими соединениями

Фоменко О.Е., Рёсснер Ф.

Университет им. Карла фон Оссиетски города Ольденбург, Германия

Поступила в редакцию 12.08.2009 г.

Аннотация

Проведено модифицирование силикагеля с помощью бензилхлордиметилсилана. С применением инфракрасной спектроскопии и термогравиметрического анализа изучена температурная стабильность полученного композита. Установлено, что привитые группы стабильны до 450 °С, при дальнейшем нагревании происходит деструкция функционального слоя, сопровождающаяся восстановлением силанольных групп. Кроме того выявлено, что в результате силилирования образец приобретает гидрофобные свойства.

Ключевые слова: силикагель, модифицирование силикагеля, термостабильность

Amorphous silica gel was modified with benzylchlorodimethylsilane. Thermostability of the synthesized composite was studied applying infrared spectroscopy and thermogravimetry. It was found, that grafted groups are stable up to 450 °C. At higher temperatures starts the destruction of the introduced functionality accompanied by the regeneration of the silanol groups. Furthermore it was shown, that the silylated material has hydrophobic properties.

Key words: silica gel, modification of silica gel, thermostability

Введение

Силикагель известен под формулой $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ и является твердым веществом. Синтетический аморфный диоксид кремния отличается гидроксильной поверхностью. Структура силикагеля представляет из себя взаимосвязанную сеть случайносоединенных предельно полимеризованных силикатных частиц – мицелл. Они являются сферическими и составляют в диаметре от 2 до 10 нм, приводя к высоким значениям площади поверхности материала – от 300 до 1 000 м²/г. Свойства силикагеля являются результатом свойств мицелл, их условий агрегации и химии поверхности [1].

На свойства поверхности кремнезема большое влияние оказывает поверхность пор внутри частиц, потому как она составляет большую часть суммарной поверхности. Ее свойства могут также в некоторых случаях отличаться от свойств внешней поверхности. Так, в узких порах теплота адсорбции различных адсорбатов выше, чем на плоской поверхности. Кроме физических свойств

(адсорбция, капиллярная конденсация) в узких порах меняются и химические свойства [2].

Одной из особенностей силикагеля является наличие гидроксильной поверхности. Гидроксильные группы нельзя отнести ни к сильно основным, ни к сильно кислотным, они имеют $pK_a = 6$ и изоэлектрическую точку при $pH = 2$. Гидроксильная поверхность гидрофильна и с готовностью сорбирует влагу. Адсорбированные молекулы воды могут быть термически десорбированы при 100-200 °С. После нагревания силикагеля при данной температуре поверхность остается покрыта приблизительно 5,5 групп ОН на nm^2 [3]. Удалить эти силанольные группы гораздо сложнее, но это также может быть осуществлено при более высоких температурах. В данном случае происходит дегидроксилирование близлежащих ОН групп, связанных водородной связью, с образованием силоксановых мостиков и выделением воды [2]. При этом возможно образование новых свободных поверхностных силанольных групп. Релаксация структуры кремнекислородной матрицы заметно снижает напряженность образующихся при дегидроксилировании силоксановых структур. Однако удаление далеко расположенных друг от друга свободных силанольных групп связано с затруднениями, которые могут быть обусловлены миграцией протонов по поверхности кремнезема [2].

Контроль площади поверхности, пористости и в особенности химии поверхности силикагеля привела к многочисленным и разнообразным его применениям. Примеры включают в себя сорбенты для воды и других веществ, абразивы и загустители в производстве зубных паст, эффективные матирующие агенты в покрытиях, в качестве хроматографических сред, как носитель катализаторов и т.д.

Хорошо известно взаимодействие силикагеля с различными соединениями, в частности подробно изучены реакции со спиртами [4]. Кроме того, активно осуществляется модифицирование силикагеля с помощью кремнийорганических соединений с широким спектром функциональных групп [5, 6].

В модифицировании силикагеля могут принимать участие как силанольные группы, лежащие на внешней поверхности, так и расположенные в более глубоких слоях материала. Помимо того, участвовать в реакциях могут и силоксановые группы. По данным работы [7] силоксановые группы вступают в реакцию с метанолом:



Тем не менее основное значение в модифицировании силикагеля имеют поверхностные силанольные группы. Они более доступны, по сравнению с группами, лежащими в глубоких слоях, а также более активны и легче вступают в химические реакции, чем силоксановые, так как протон силанольной группы имеет слабокислый характер и способен вступать в реакции обмена [2].

Возможность осуществления таких взаимодействий открывает широкие перспективы для получения материалов с заданной функциональностью, в частных случаях с гидрофобными свойствами. Материалы с гидрофобной поверхностью широко применяются в хроматографии. Получение композита с такими свойствами может быть достигнуто путем модифицирования с помощью подходящих реагентов, обладающих гидрофобными группами. С этой целью может быть применен ряд веществ [8, 9].

С точки зрения применения безводных силикагелей (к примеру, смешанные каучуковые наполнители или компоненты смазочных материалов), одним из важных свойств полученных композитов является термостабильность органических групп,

привитых к поверхности. Установлено, что термостабильность гидрофобного слоя восприимчива к типу модификатора и условиям проведения синтеза [5,6]. Изучение термостабильности может проводиться при помощи инфракрасной спектроскопии [4, 10] и термогравиметрического анализа [6, 11].

Подобные способы модификации силикатных поверхностей были осуществлены Унгером и сотр. и описываются в работе [12]. Тем не менее, ими не была изучена температурная стабильность полученных композитов. В данной работе описывается получение силикагеля с модифицированной гидрофобной поверхностью и изучение его термической стабильности с использованием инфракрасной спектроскопии и термогравиметрического анализа.

Эксперимент

Реактивы. В работе использовали: кремнезем (Davesil), $S_{уд} = 328 \text{ м}^2/\text{г}$, эффективный диаметр пор 11,1 нм; бензилхлородиметилсилан (БХДМС) (Aldrich, США), имидазол (Biomol Feinchemikalien GmbH, Гамбург, Германия), дихлорметан (Aldrich, США).

Модифицирование. морфный силикагель был предварительно высушен в атмосфере азота в течение 13 часов при $120 \text{ }^\circ\text{C}$ и затем был подвержен силилированию при помощи БХДМС и имидазола. В качестве растворителя использовался дихлорметан. Реакция протекала в течение 22 часов при температуре $40 \text{ }^\circ\text{C}$ при постоянном перемешивании. После окончания реакции образец был профильтрован, промыт с использованием дихлорметана и высушен.

Характеристика. Инфракрасные спектры материалов были получены с использованием DRIFT-спектроскопии (съемка инфракрасных спектров методом диффузного отражения). ИК-Фурье-спектрометр Bruker Equinox 55 был оснащен детектором МСТ и установкой Harricks, через которую подавался постоянный поток азота. Образцы для измерения были приготовлены с добавлением бромида калия. Спектры абсорбции регистрировались в пределах $6000 - 400 \text{ см}^{-1}$ при 500 сканах и разрешении 4 см^{-1} . ИК спектры были получены при 120, 250, 350, 400 и $450 \text{ }^\circ\text{C}$. Перед регистрацией спектров образцы были нагреты до необходимой температуры и выдержаны при ней в течение 30 минут. Спектр чистого бромида калия был использован как фоновый спектр и был снят при 1000 сканов. Отсутствие твердофазной реакции между поверхностными силанольными группами кремнезема и бромидом калия проверено путем приготовления пробы разбавлением алмазным порошком. Полученные по обоим методикам спектры были идентичны.

Термогравиметрические измерения были проведены на приборе TGA/SDTA 851^e (Metler-Toledo GmbH, Schwertzenbach, Schweiz). Образцы были нагреты от комнатной температуры до $700 \text{ }^\circ\text{C}$ со скоростью $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{мин}$ в атмосфере кислорода.

Адсорбция азота была проведена на приборе Quantachrome Autosorb 1 при $-196 \text{ }^\circ\text{C}$. Площадь поверхности и распределение пор были рассчитаны на основе теории BET с использованием ВЛН метода. Перед проведением измерения навеска образца (200 мг) была предварительно высушена при $130 \text{ }^\circ\text{C}$ в вакууме в течении 3 часов.

Гидрофобность синтезированного материала была изучена путем сравнения его поведения в органическом растворителе и в воде. Для этого навески силилированного кремнезема одинаковой массы были помещены в сосуды с толуолом и водой.

Обсуждение результатов

По описанной выше методике был получен композит.

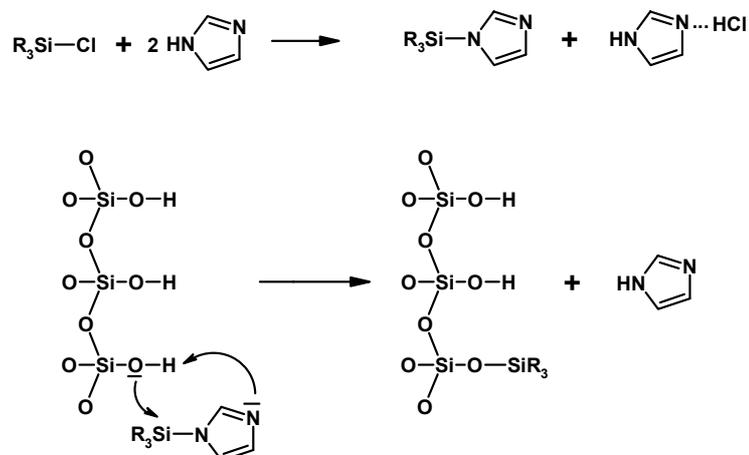
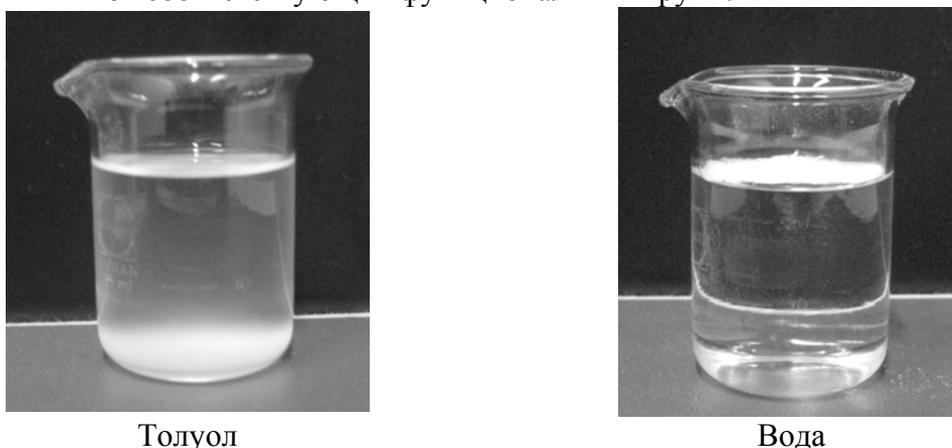


Рис. 1. Схема реакции силикагеля с органохлорсиланом, с применением имидазола в качестве катализатора

Роль имидазола в реакции, схема которой представлена на рис. 1, заключается в образовании интермедиата органосилана, который вступает далее во взаимодействие с силанольными группами поверхности кремнезема. Помимо этого, имидазол нейтрализует образующийся в реакции HCl.

Гидрофобные свойства силилированного композита были проанализированы путем сравнения поведения образца в органическом растворителе и в воде. Результат эксперимента представлен на рис. 2. Видно, что в отличие от органического растворителя, где силилированный образец легко смачивается и осаждается на дне, в воде он остается на поверхности. Этот факт демонстрирует то, что модифицирование силикагеля с БХДМС приводит к получению композита, обладающего гидрофобными свойствами.

Одним из наиболее часто применяемых методов исследования поверхности кремнезема является инфракрасная спектроскопия. С ее помощью можно установить присутствие как физически адсорбированной, так и связанной воды в образцах, а также ее состояние. Помимо этого ИК-спектры дают возможность оценить успешность проведенной модификации путем детектирования присутствия / отсутствия пиков соответствующих функциональных групп.



Толуол
Вода
Рис. 2. Поведение силилированного образца в толуоле и воде

Полученные спектры исходного и силилированного силикагеля показаны на рисунках 3-5. На рис. 3 представлены ИК-спектры чистого силикагеля, подверженного нагреванию до 450 °С. К характерным полосам поглощения кремнезема относятся: широкая полоса при 1090 см⁻¹, которая соответствует антисимметричному колебанию связи Si-O в Si-O-Si в тетраэдре, полоса 803 см⁻¹, отвечающая за симметричные колебания тетраэдра SiO₄. Пик 970 см⁻¹ демонстрирует колебания связи Si-O в Si-O-H. Обертоны колебания остова обнаружены при 1870 и 1970 см⁻¹ [13]. Помимо типичных пиков силикагеля на спектре присутствуют полосы поглощения воды: пик при 1630 см⁻¹ соответствует деформационным колебаниям молекулярной воды. Очень широкий пик в диапазоне 3200 - 3700 см⁻¹ является результатом наложения полос валентных колебаний гидроксильных групп и валентных колебаний адсорбированных молекул воды. Присутствие полосы 3650 – 3670 см⁻¹ отражает наличие связанных водородными связями гидроксильных групп. Пик 3743 см⁻¹ принадлежит свободным силанольным группам [14].

На рисунке 3 отчетливо видно уменьшение интенсивности в области 3200-3700 см⁻¹, а также пика 1630 см⁻¹, происходящее с ростом температуры, что может быть объяснено десорбцией воды. Продолжительное нагревание до 450 °С ведет к постепенному уменьшению интенсивности полосы 3440 см⁻¹, отвечающей присутствию воды, а также полосы 3670 см⁻¹, соответствующей колебаниям связанных гидроксильных групп. В этом температурном интервале происходит дегидроксилирование поверхности вследствие реакций конденсации силанольных групп [15]. Помимо этого наблюдается усиление интенсивности пика 3743 см⁻¹ и небольшое смещение его в сторону меньших значений шкалы. Данный эффект может быть обусловлен наложением полосы 3743 см⁻¹ на полосу 3740 см⁻¹ от вновь образующихся силанольных групп, повернутых гидроксильными группами в разные стороны друг от друга. Эти группы могут возникать при размыкании сильнонапряженных силоксановых связей, образующихся при реконструкции поверхности [2].

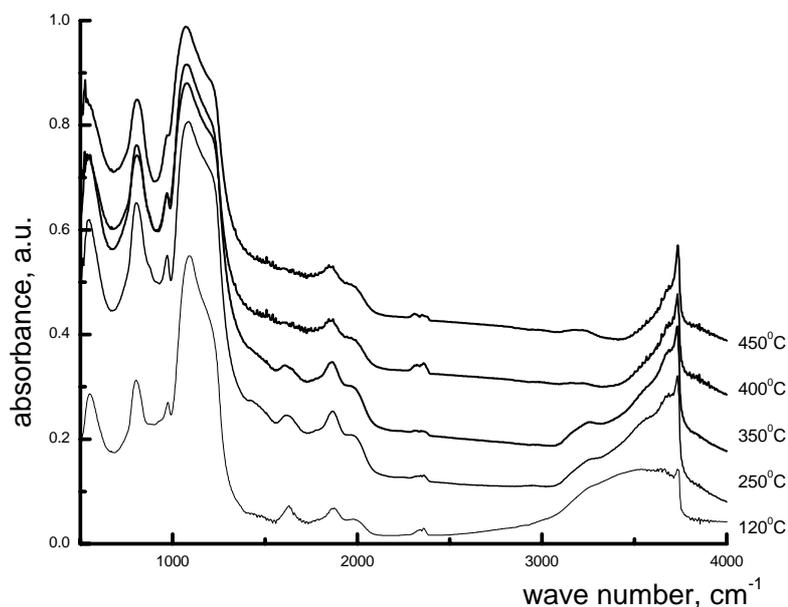


Рис. 3. ИК-спектры исходного силикагеля, зарегистрированные при различных температурах

На рис. 4 изображены спектры исходного и силилированного с БХДМС образцов при температуре 120 °С, из сравнения которых отчетливо видно отсутствие

на спектре силилированного материала полосы 3743 см^{-1} , демонстрирующей наличие свободных силанольных групп. В то же время для этого образца наблюдаются полосы, соответствующие привитым функциональным группам: пики 3030 , 3090 , 3129 см^{-1} отвечают за колебания С-Н ароматического кольца, а также пики 1580 и 1600 см^{-1} – за колебания С=C в ароматическом кольце, 2965 и 1495 см^{-1} – за CH_3 и пики 2895 и 1430 см^{-1} – за колебания группы CH_2 . Наличие в спектре силилированного образца вышеуказанных пиков одновременно с отсутствием полосы поглощения 3743 см^{-1} свидетельствует об успешном модифицировании по свободным силанольным группам.

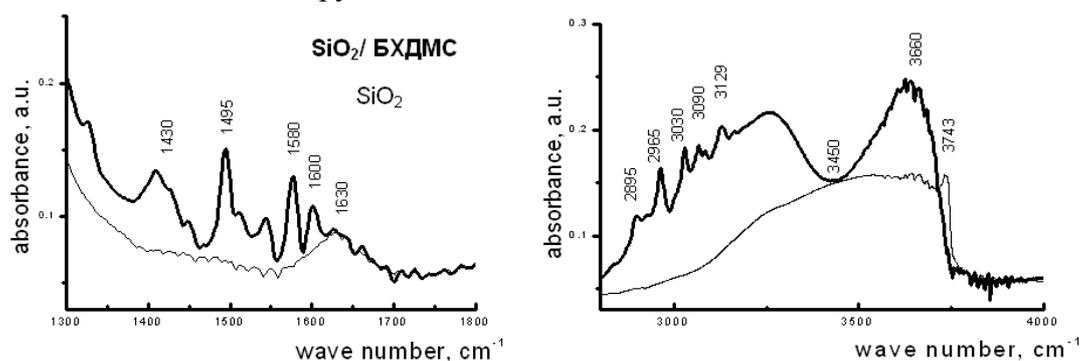


Рис. 4. Исходный и силилированный SiO_2 , $T=120^\circ\text{C}$

На рис. 5 представлены спектры силилированного силикагеля при нагревании до 450°C . Интенсивность полос, соответствующих колебаниям привитых функциональных групп, остается неизменной вплоть до 350°C , после чего наблюдается некоторое ее уменьшение, что может указывать на деструкцию групп. Особенно ярко уменьшается интенсивность пика 1490 см^{-1} , что может говорить об отщеплении метильных групп. Это может быть описано следующей схемой (рис.6).

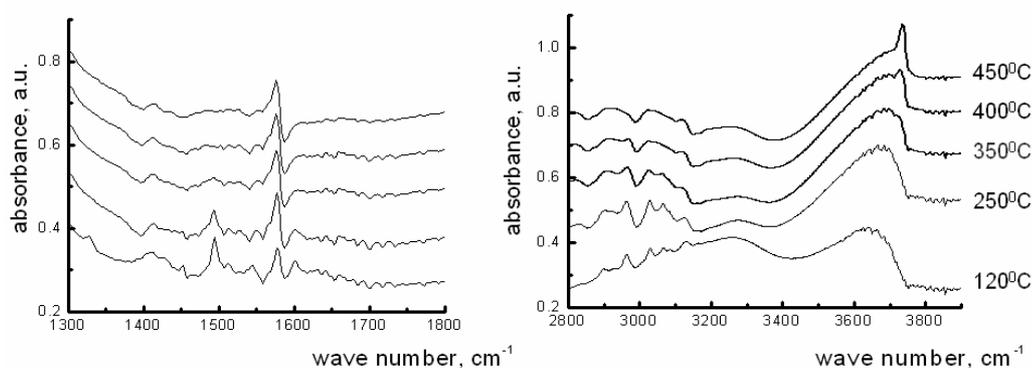


Рис. 5. ИК-спектры силилированного силикагеля, зарегистрированные при различных температурах

Тем не менее, колебания привитых органических групп остаются различимыми вплоть до 450°C , что говорит о том, что рассматриваемая температура все еще не достаточна для полного удаления функциональности с поверхности силикагеля. В области $3200 - 3750\text{ см}^{-1}$ при $T = 120^\circ\text{C}$ наблюдается широкая полоса, соответствующая адсорбированной воде и связанным гидроксильным группам. С увеличением температуры происходит уменьшение интенсивности колебаний в этой части шкалы, что говорит о десорбции воды. При достижении 450°C на спектре вновь появляется пик 3743 см^{-1} , что указывает на восстановление силанольных групп. Одновременно с присутствием полос, соответствующих

функциональным группам, данный факт подтверждает предположение об имеющей место частичной деструкции привитой функциональности.

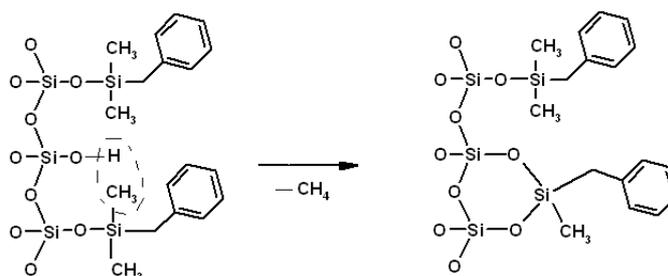


Рис. 6. Схема термического отщепления метильных групп

Результаты термогравиметрического анализа для исходного и силилированного силикагеля представлены на рис. 7 и 8. На термограммах обоих образцов наблюдаются два этапа потери массы. На первом этапе при нагревании от комнатной температуры до 150°C происходит удаление физически адсорбированной воды. Соответственно этому, на кривых DTA с указанным температурным интервале наблюдается пик, соответствующий эндотермическому эффекту. На втором этапе для чистого кремнезема при более высоких температурах потеря массы составляет 0,6 %, термограмма приобретает вид плато. В данном случае происходит дегидроксилирование поверхности силикагеля с образованием силоксановых мостиков и сопровождающееся выделением воды. В свою очередь силилированный образец теряет около 6,8% массы и на кривой DTA имеются два пика, демонстрирующие экзотермический процесс, имеющие место в температурных интервалах $400\text{-}500^{\circ}\text{C}$ и $500\text{-}600^{\circ}\text{C}$. Наличие указанных пиков может свидетельствовать об окислении привитых групп, внедренных в материал при силилировании, причем вероятно первый пик соответствует окислению алифатических групп, в то время как экзотермический эффект при $500\text{-}600^{\circ}\text{C}$ может указывать на удаление ароматических групп. Кроме того, это предположение подтверждается данными инфракрасной спектроскопии о стабильности метильных групп вплоть до $350\text{-}450^{\circ}\text{C}$ и о более высокой стабильности ароматических групп, а также об имеющем место в указанном температурном интервале частичном восстановлении силанольных групп. Такая температурная стабильность образца находится в хорошей корреляции с результатами других исследований о модификации кремневых поверхностей. Так в работах [4, 5, 6] подробно изучены различные методики функционализации поверхности кремнезема метильными группами. Термостойкость полученных композитов варьируется от 275 до 650°C .

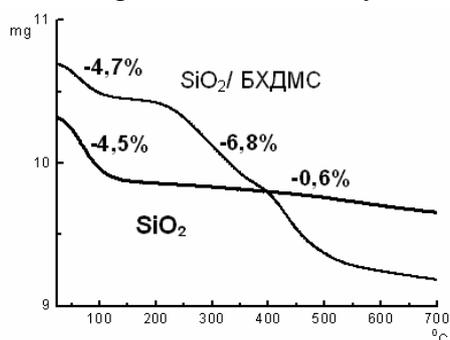


Рис. 7 TG кривые для исходного и силилированного SiO_2 , атмосфера O_2

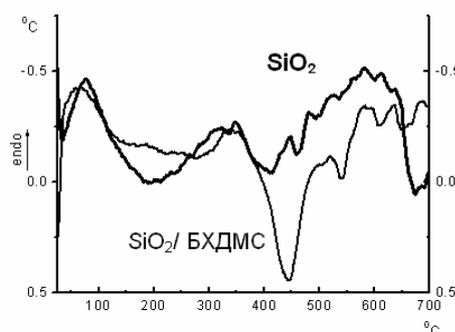


Рис. 8 DTA кривые для исходного и силилированного SiO_2 , атмосфера O_2

Тем не менее по проведенным расчетам теоретическое содержание привитых групп составляет 19 мас.%, что значительно больше установленной потери массы образца - 6,8%. Даже при учете того, что не все количество введенного в реакцию модификатора прореагировало с поверхностными силанольными группами, данная разница еще раз указывает на то, что в обсуждаемом температурном интервале происходит лишь частичная деструкция привитого функционального слоя. Так, работе [4] показано, что деструкция привитых групп в зависимости от температуры может занимать от 1 часа до нескольких суток.

Результаты адсорбции азота представлены в таблице 1. Из полученных значений видно, что силилирование приводит к уменьшению площади поверхности и объема пор материала. Данный факт может быть объяснен введением в структуру образца новых органических групп. В свою очередь диаметр пор вследствие модификации увеличивается. Исследованные образцы кремнезема имеют размеры пор, относящиеся по классификации ИЮПАК к мезопорам. К этому типу принадлежат материалы с диаметром пор от 20 до 500 Å. Изотермы адсорбции для исходного и силилированного образцов (рис. 9) относятся к типу H2, который характерен для силикагелей и также говорят о мезопористой структуре материалов [16].

Таблица 1. Структурные характеристики материалов

	Площадь поверхности, м ² /г	Диаметр пор, Å	Объем пор, см ³ /г
Исходный силикагель	328	111,4	0,91
Силикагель / БХДМС	209	123,1	0,64

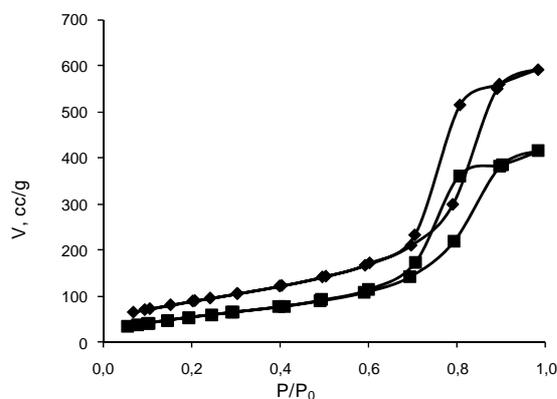


Рис. 9. Изотермы адсорбции исходного (◆) и силилированного (■) силикагеля

На рис. 10 представлена диаграмма распределения пор. Вид кривых говорит о наличии в силилированном образце преимущественно мезопор, в то время как кривая распределения пор для исходного диоксида кремния демонстрирует также присутствие определенной доли микропор. На графике отчетливо видно, что силилированный образец по сравнению с чистым имеет более ярко выраженный пик. Этот факт может говорить о том, что данный образец обладает более упорядоченной структурой, чем исходный силикагель, что в свою очередь позволяет предположить, что силилирование может оказывать упорядочивающее воздействие на структуру аморфного кремнезема.

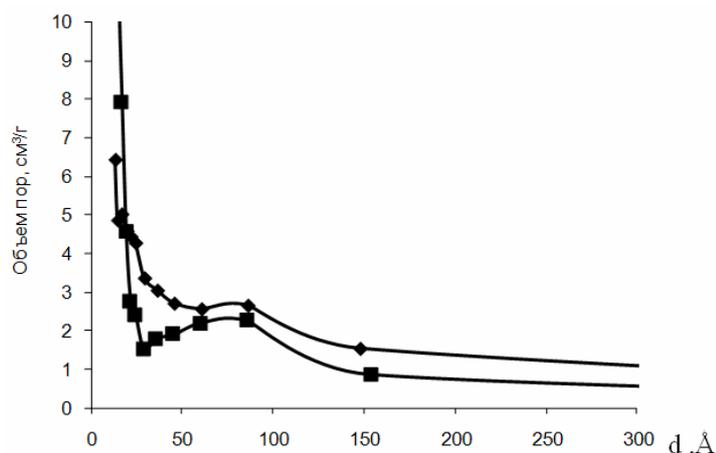


Рис. 10. Диаграммы распределения пор исходного (◆) и силилированного (■) силикагеля

Заключение

В результате проведенной в работе модификации кремнезема бензилхлордиметилсиланом получен материал, обладающий гидрофобными свойствами. Установлено, что модифицирование проходит по свободным силанольным группам силикагеля. При помощи ИК-спектроскопии и термогравиметрического анализа изучено воздействие температуры на привитые в ходе силилирования органические группы. Показано, что данные группы стабильны вплоть до $450\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего имеет место частичная деструкция функционального слоя, сопровождающаяся восстановлением силанольных групп. Кроме того, выявлено, что силилирование с использованием бензилхлордиметилсилана оказывает структурирующее влияние на аморфный силикагель.

Авторы статьи выражают признательность Германской службе академических обменов (DAAD) за оказанную финансовую поддержку в осуществлении проекта, а также сотруднице кафедры неорганической химии университета г. Ольденбурга Марайке Алерс за проведение термогравиметрических измерений.

Список литературы

1. Floerke O.W., Graetsch H.A., Brunk F., Benda L. Silica// Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, 7th Ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2009.
2. Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А., Нестеренко П.Н., Мингалев П.Г., Фурман Д.Б. Химия привитых поверхностных соединений, М., ФИЗМАТЛИТ, 2003. Стр. 38-56.
3. Unger K.K. Porous silica, Journal of chromatography library, V.16, Elsevier scientific publishing company, 1979. P. 9-11.
4. Morterra C., Low M.J.D. Reactive silica. The formation of a reactive silica by the thermal collapse of the methoxy groups of methylated aerosol// J. Phys. Chem. 1969. V.73. Nr.2. P.321-326.

5. Rao V. A., Kulkarni M. M., Amalnerkar D. P., Seht T. Surface chemical modification of silica aerogels using various alkyl-alkoxy/chloro silanes// *Appl. Surf. Sci.* 2003. V.203. P.262-270.
6. Zmijewski T., Mioduska M., Pasewska B. Thermogravimetric study of silica with a chemically modified surface// *J. Thermal. Anal.* 1987. V. 32. P. 1755-1761.
7. Kellum G.E., Smith R.S. Determination of water in monomeric and short-chain silanols employing a modified Karl Fischer titration method// *Anal. Chem.* 1967. V.39. N 3. P. 341.
8. Jesionowski T., Krysztafkiewicz A. Preparation of the hydrophilic/hydrophobic silica particles// *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 2002. V.207. P.49-58.
9. Jesionowski T., Krysztafkiewicz A. Comparison of the techniques used to modify amorphous hydrated silicas// *J. Cryst. Solids.* 2000. V.277. P.45-57.
10. White T.E. A study of the reactions of surface hydroxyl groups of silica by means of infrared spectroscopy// *Proc. Anniv. Techn. Conf. SPI, Chicago, 1965.*
11. Lange K. R. Reactive organic molecules on silica surfaces// *Chem. and Industry. London.* 1968.
12. Unger K., Berg K., Nyamah D., Lothe Th. Herstellung oberflaechenmodifizierter adsorbentien IV. Synthese und Eigenschaften von Ionenaustauschern auf der Basis von chemisch modifiziertem popoesen Siliciumdioxid// *Colloid and Polymer Sci.* 1974. V. 252. P. 317-321.
13. Costa T.M.H., Gallas M.R., Benvenuti E.V., da Jornada J.A.H. Infrared and thermogravimetric study of high pressure consolidation in alkoxide silica gel powders// *J. Non-Cryst. Solids.* 1997. V. 220. P.195-201.
14. Flanigan E., Khatami H., Szymanski H., Infrared structural studies of zeolite frameworks// *Adv. Chem. Ser.* 1971. V. 101. P. 201-229.
15. Gillis-D'Hamers I., Vrancken K.C., Vansant E.F., De Roy G. Fourier-transform infrared photo-acoustic spectroscopy study of the free hydroxyl group vibration// *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1992. V.88. P. 2047-2050.
16. Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А., Нестеренко П.Н., Мингалев П.Г., Фурман Д.Б. Химия привитых поверхностных соединений, М., ФИЗМАТЛИТ, 2003. Стр. 32.

Фоменко Олеся Евгеньевна – аспирант университета им. Карла фон Оссиетцки города Ольденбург, Германия, тел. +49 441 798 3354

Рёсснер Франк – профессор кафедры технической химии университета им. Карла фон Оссиетцки города Ольденбург, Германия

Fomenko Olesya E. – PhD student at Chair of Industrial Chemistry 2, Institute of Pure and Applied Chemistry, Carl v. Ossietzky University Oldenburg, Germany

Roessner Frank – Prof. Dr., Chair of Industrial Chemistry 2, Institute of Pure and Applied Chemistry, Carl v. Ossietzky University Oldenburg, Germany, e-mail: frank.roessner@uni-oldenburg.de



УДК 546.3-126:544.2

Физико-химические свойства поверхностей, модифицированных наночастицами металлов

Соцкая Н.В., Долгих О.В., Кашкаров В.М.,
Леньшин А.С., Котлярова Е.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Макаров С.В.

Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново

Поступила в редакцию 22.07.2009 г.

Аннотация

Изучена возможность применения коллоидных наночастиц меди, никеля и кобальта для модифицирования поверхности пористого кремния и электроосажденных никелевых покрытий, а также коллоидных частиц серебра для модифицирования поверхности серебросодержащих полимерных композитов. Показано, что сорбция коллоидных наночастиц металлов может приводить к изменению морфологии, электронного строения и фазового состава модифицируемой поверхности, а также каталитических, электрических и оптических свойств данных объектов.

Ключевые слова: наночастицы, пористый кремний, композит, морфология поверхности, никелевые покрытия, каталитические свойства.

The possibility of application of copper, nickel and cobalt colloidal nanoparticles for the modification of porous silicon and electrodeposited nickel coatings as well as silver colloidal particles for the modification of silver-containing polymer composites was investigated. It was shown that sorption of colloidal metal nanoparticles could change the morphology, electronic structure and phase composition of modified surface together with catalytic, electrical and optical properties of given objects.

Key words: nanoparticles, porous silicon, composite, surface morphology, nickel coatings, catalytic properties.

Введение

Сегодня одним из приоритетных направлений развития науки и технологии является создание наноматериалов, обладающих уникальными физическими, электрохимическими, каталитическими свойствами [1, 2], что открывает широкие возможности для создания новых эффективных катализаторов, сенсорных систем, препаратов с высокой биологической активностью. Несомненный интерес представляют коллоидные частицы металлов наноструктурных размеров, обладающие особыми свойствами, отличными как от свойств изолированных атомов, так и от массивного металла. Высокая стабильность таких частиц позволяет

использовать их в качестве добавок в различные растворы и для модифицирования поверхностей с целью придания им новых свойств [3, 4].

В настоящей работе изучалась возможность применения коллоидных наночастиц меди, никеля и кобальта для модифицирования поверхности пористого кремния и электроосажденных никелевых покрытий, а также коллоидных частиц серебра для модифицирования поверхности серебросодержащих полимерных композитов.

Эксперимент

Коллоидные растворы металлов готовили методом химической конденсации [4]. Частицы дисперсной металлической фазы получали восстановлением ионов металла диоксидом тиомочевины в среде вода – изопропанол (10 об. %). Для стабилизации получаемых дисперсий в раствор вводили добавки желатина (до 3 об. %).

Образцы пористого кремния получали из пластин монокристаллического кремния марки КЭФ 0.2 с ориентацией (100) по методике [5]. Пористость полученных образцов составляла порядка 70 %. После травления образцы пористого кремния промывали в дистиллированной воде, а затем в изопропиловом спирте для удаления из пор остатков электролита. Все образцы до осаждения металлов показывали яркую фотолюминесценцию в оранжевой области при воздействии на них импульсным лазером с длиной волны 337 нм. Подготовленные образцы погружали в коллоидные растворы металлов и выдерживали 7 суток. После этого их промывали водой и высушивали. Травление и сорбционную обработку пластин проводили в условиях слабой освещенности при комнатной температуре. Размер пор и толщину пористого слоя оценивали по изображениям, полученным методом сканирующей электронной микроскопии на растровом электронном микроскопе JSM-6380LV. После сорбционной обработки образцы пористого кремния видимой фотолюминесценции не проявляли.

Для определения электронного строения и фазового состава слоев исходного пористого кремния (ПК) и образцов с осажденными металлами использовали метод ультрамягкой рентгеновской эмиссионной спектроскопии, которая была выполнена на рентгеновском спектрометре-монохроматоре РСМ-500 при возбуждении электронным пучком (1.5 кэВ, 2 мА, вакуум $2\text{-}4\cdot 10^{-6}$ мм.рт.ст). Глубина анализа составляла 25 нм [6]. В процессе съемки спектров образцы охлаждались проточной водой. Энергетическое уширение при получении указанных спектров составляло не более 0.2 эВ. Полученные рентгеновские эмиссионные спектры обрабатывали с помощью специальной компьютерной программы [7].

Все полученные образцы перед исследованиями подвергали выдержке в атмосфере в течение 5 недель. Специальную дополнительную обработку образцов при этом не проводили.

Электрохимические исследования проводили в стандартной трехэлектродной ячейке при помощи потенциостата ПИ-50-1.1 с программатором ПР-8 и двухкоординатным лабораторным самописцем ПДА-1. В качестве рабочего использовали Ni-электрод ($s = 0.45\text{см}^2$), вспомогательного – платину большой площади, электрода сравнения – хлоридсеребряный электрод. Все потенциалы в работе приведены относительно стандартного водородного электрода. Никелевые покрытия наносили на подготовленный рабочий электрод из раствора, содержащего (моль/л): $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0.08$; $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH} - 0.20$; $\text{Na}_2\text{SO}_4 - 0.66$ (рН 5.5) – базовый

электролит. Легирование осуществляли, добавляя к базовому электролиту растворы наночастиц Ni, Cu, Co в объемном соотношении 1:50 или 1:100. Для оценки каталитических свойств покрытия Ni(X) получали в потенциодинамическом режиме изменением потенциала от бестокового значения до -1.1 В ($v = 5 \cdot 10^{-2}$ В/с). Для изучения состава пленок, их структуры и морфологии покрытия осаждали в гальваностатическом режиме ($i = 5$ мА/см², $\phi = 20$ мин). Структуру покрытий определяли методом рентгеновской дифракции на приборе ДРОН-3 (CuK_α-излучение, 35 кВ, 20 мА). Микрофотографии поверхности получали методом сканирующей электронной микроскопии на растровом электронном микроскопе JSM-6380LV. Для количественного описания структуры и кристаллографической ориентации осадков вычисляли относительный текстурный коэффициент (RTC) [8]: Размер зерна кристаллитов находили по уширению дифракционных пиков согласно уравнению Шерера.

Для оценки каталитической активности покрытий была выбрана реакция анодного окисления гипофосфит-иона. Испытуемые образцы подвергали анодной поляризации в 0.25 М растворе NaH₂PO₂ от бестокового потенциала $E_{Ni(X)}$ на +1.2 В в потенциодинамическом режиме со скоростью развертки $v = 5 \cdot 10^{-2}$ В/с. Мерой скорости исследуемой реакции служила величина плотности тока анодного максимума i_p [9].

Серебросодержащие полимерные композиты получали на основе макропористого сульфокатионообменника КУ-23 15/100. Синтез заключался в чередовании операций ионного обмена в 6%-ном растворе AgNO₃ с последующим полным восстановлением гидразином [10]. Полученные образцы погружали в коллоидные растворы металлов и выдерживали сутки. После этого их промывали обескислороженной водой, в которой и хранили до испытаний. Электрокаталитическую активность образцов также оценивали при помощи реакции анодного окисления гипофосфит-иона с использованием пастового графитового электрода с одним зерном композита на установке [11]. Площадь графитовой подложки $s = 0.038$ см².

Результаты и их обсуждение

1. Пористый кремний. На рис. 1 приведены фотографии скола образцов пористого кремния с сорбированными наночастицами металлов. Для сравнения здесь же показан скол исходного образца пористого кремния. Анализ полученных изображений показывает, что при включении никеля морфология пор (их преимущественная ориентация в направлении перпендикулярном поверхности (100) исходного кристаллического кремния) сохраняется, тогда как при внедрении кобальта и меди происходит заметное искажение формы пор и образование больших полостей внутри верхней части пористого слоя. В образце с осажженным кобальтом наблюдаются более крупные включения этого металла по сравнению с образцом, в который осаждали медь. В нижней части пористого слоя морфология пор остается практически такой же, как и в исходном пористом кремнии; поверхность пор хорошо декорируется металлическими частицами.

Обратимся к анализу рентгеновских эмиссионных Si L_{2,3} спектров полученных образцов (рис. 2). Спектры образцов пористого кремния заметно отличаются как от спектра монокристаллического кремния, так и от оксида SiO₂. На всех трех спектрах наблюдаются три основных максимума, а их относительная интенсивность различается незначительно.

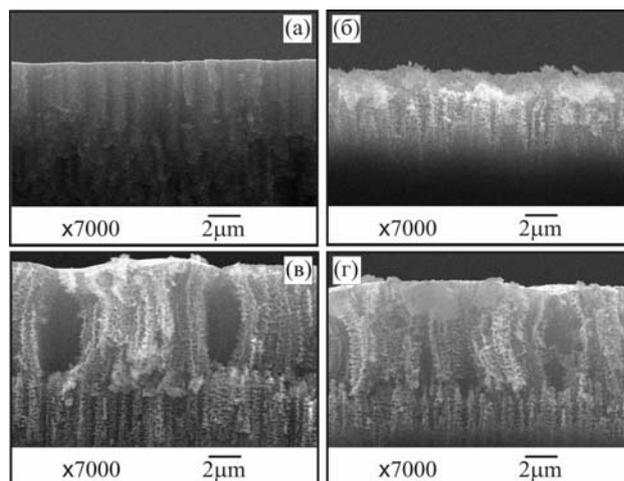


Рис. 1. SEM-фотографии скола пористого кремния с включением наночастиц: (а) – исходный кремний; (б) – Si(Ni); (в) – Si(Co); (г) – Si(Cu).

Относительная интенсивность боковых максимумов в исследованных образцах выше, чем в монокристаллическом кремнии. В то же время ширина валентной полосы и ее энергетическое положение практически не изменяются по сравнению с Si и SiO₂.

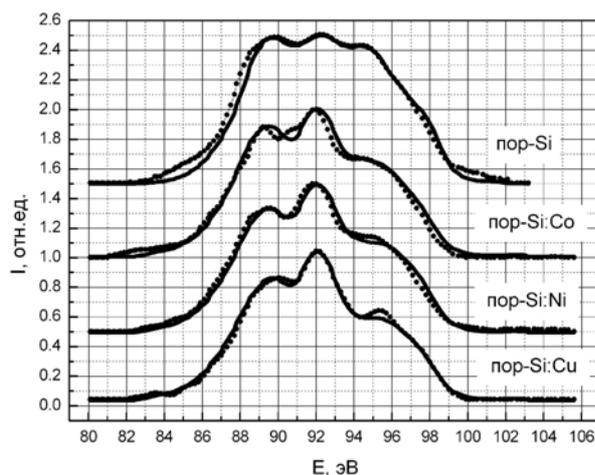


Рис. 2. Рентгеновские эмиссионные Si L_{2,3} спектры пористого слоя исходного образца и образцов с включениями Co, Ni, Cu

Для определения возможных изменений в составе при формировании пористого слоя на поверхности кремния и последующем осаждении Co, Ni, Cu была использована программа «фазового» анализа образцов по рентгеновским эмиссионным спектрам [7]. Принцип работы данной программы основан на построении модельного эмиссионного спектра из спектров эталонных веществ, имеющих в библиотеке, и сравнении модельного спектра с экспериментальным спектром. При этом программа позволяет минимизировать разницу между модельным и экспериментальным спектром, варьируя вклад эталонных спектров в модельный. Результаты анализа состава с использованием указанной программы представлены в табл. 1. Сопоставление спектров показывает, что основной компонент в поверхностном слое исходного пористого кремния является кристаллический кремний, как упорядоченный, так и разупорядоченный, а также оксид кремния типа SiO_x, и аморфный кремний.

Таблица 1. “Фазовый” состав образцов исходного пористого кремния и образцов с включениями наночастиц Co, Ni, Cu.

Образец	“Фазы”, %							погр., %
	nc-Si	SiO _x	SiO ₂	Si _{lc}	б-Si:H	NiSi	CoSi	
Si	19	8	13	5	35	–	–	5
Si(Co)	75	13	5	7	–	–	–	7
Si(Ni)	80	8	–	–	12	–	–	4
Si(Cu)	80	–	7	13	–	–	–	5

При осаждении любого из металлов (Co, Ni и Cu) происходит частичное упорядочение кремния, на что указывает увеличение содержания фазы кристаллического кремния. Кажущееся противоречие с данными растровой электронной микроскопии объясняется тем, что рентгеновские эмиссионные спектры отражают локальную парциальную плотность состояний и потому они чувствительны к атомному окружению в пределах 2-3 координационных сфер (т.е. около 1-2 нм), тогда как в растровой микроскопии морфология пористого слоя представлена в более крупном масштабе (несколько мкм).

Также следует отметить уменьшение содержания фазы окисленного кремния при осаждении никеля при одновременном уменьшении содержания аморфного кремния. Возможно, это связано с частичным разрушением поверхностного слоя (рис.1), способствующим достаточно глубокому проникновению малоразмерных агрегатов атомов никеля в более геометрически упорядоченный глубокий пористый слой. Медь обладает самым высоким коэффициентом диффузии в кремний и поэтому она наиболее вероятно, образует крупные кластеры, которые имеют относительно малые границы раздела с поверхностью пор. Несмотря на достаточно высокую склонность к окислению у меди, она в меньшей степени взаимодействует с атомами кислорода на поверхности пор в пористом кремнии. Кобальт, как и при электрохимическом осаждении [5], формирует частицы разных размеров (от нескольких десятков нм до нескольких мкм) в пористом слое и меньше диффундирует внутрь столбиков кремния по сравнению с никелем и тем более медью. В то же время он может окисляться с образованием «промежуточных» оксидов (Co_xO_y) и в результате частично отбирать при этом атомы кислорода с поверхности пор, что приводит к снижению содержания фазы SiO₂ в пористом слое.

2. Металлополимерный композит (серебро – КУ-23)ⁱ. Фотографии поверхности композита дисперсное серебро-макропористый сульфокатионообменник КУ-23 15/100 до и после сорбционной обработки наночастицами серебра показаны на рис. 3. Заметна существенная реконструкция поверхности: форма агрегатов серебра меняется от сферической до нечетко выраженной пентагональной, а размер уменьшается.

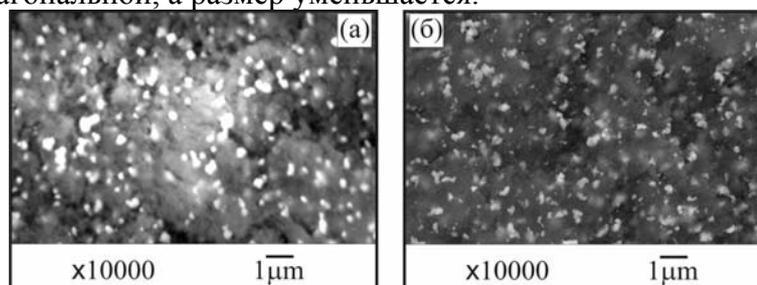


Рис. 3. SEM-фотографии поверхности серебросодержащего электроноинообменника исходного (а) и модифицированного наночастицами серебра (б)

Вольтамперные кривые, полученные с использованием пастового графитового электрода с одним зерном композита в растворе гипофосфита натрия, представлены на рис. 4. Как и в предыдущем случае, модификация серебросодержащего композита наночастицами приводит к увеличению поляризации процесса: бестоковый потенциал смещается в катодном, а потенциал пика – в анодном направлении. Плотность тока пика при этом увеличивается более чем в 3 раза.

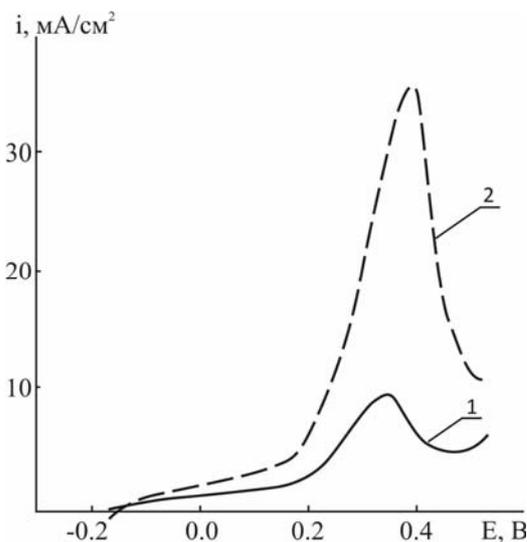


Рис. 4. Анодные поляризационные кривые окисления гипофосфит-иона на электроде с одним зерном композита, исходном (1) и модифицированном серебром (2).

3. Никелевые покрытия. SEM-фотографии поверхности никелевых покрытий, модифицированных наночастицами металлов, показаны на рис. 5. Хотя проведенный энергодисперсионный анализ и не показал существенного изменения состава покрытий, морфология поверхности все же меняется: в присутствии наночастиц кобальта сферолиты становятся более выраженными (рис. 5б), тогда как наночастицы никеля (рис. 5б) и особенно меди (рис. 5г) способствуют измельчению наблюдаемых агрегатов.

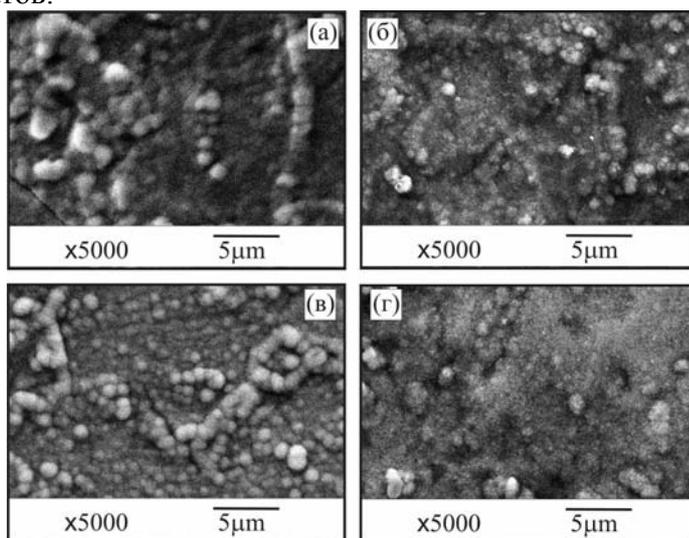


Рис. 5. SEM-фотографии поверхности электроосажденных покрытий различной природы: (а) – Ni; (б) – Ni(Ni); (в) – Ni(Co); (г) – Ni(Cu).

На рис. 6 приведены фрагменты дифрактограмм исследуемых покрытий, из которых следует, что все они имеют преимущественную текстуру $\langle 200 \rangle$, при этом относительный коэффициент текстуры RTC_{200} снижается в ряду:

$$Ni > Ni(Ni) > Ni(Co) > Ni(Cu).$$

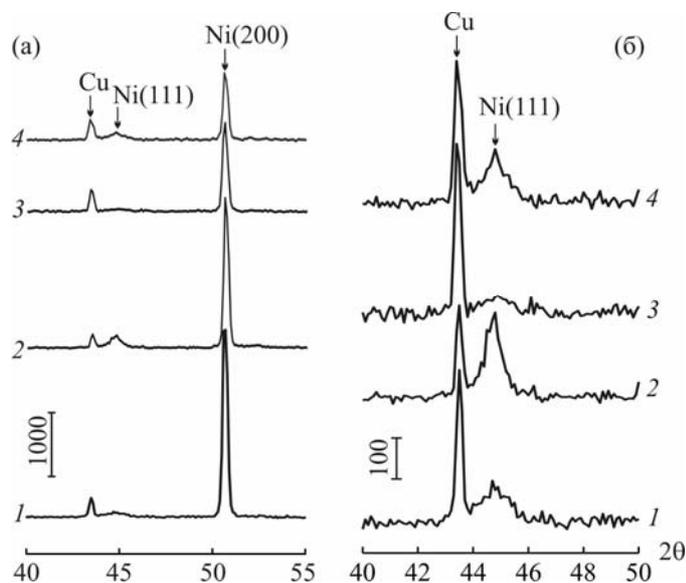


Рис. 6. Фрагменты дифрактограмм электроосажденных покрытий различной природы: 1 – Ni; 2 – Ni(Ni); 3 – Ni(Co); 4 – Ni(Cu) в области углов $2\theta = 40-55^\circ$ – (а) и $2\theta = 40-50^\circ$ – (б).

Расчеты по уравнению Шерера показывают, что наблюдаемые на микрофотографиях сферолиты представляют собой агрегаты более мелких частиц размером 28...35 нм, при этом в противоположность размерам сферолитов максимальный размер зерна обеспечивают наночастицы Ni, а минимальный – кобальта (табл. 2).

Таблица 2. Характеристика структуры покрытий Ni(X)

Покрытие	$d_{Ni(111)}$, нм	$d_{Ni(200)}$, нм	RTC_{200} , %
Ni	8.0	28.4	96.8
Ni(Ni)	10.9	34.7	93.5
Ni(Co)	6.8	28.4	87.8
Ni(Cu)	10.1	29.3	72.8

Каталитические свойства модифицированных никелевых покрытий оценивали по скорости реализации на них анодного окисления гипофосфит-иона. Анодные вольтамперограммы, полученные в растворе NaH_2PO_2 , показаны на рис. 7.

Имеющийся на них максимум относится к процессу окисления гипофосфит-иона [9]. Анализируемыми параметрами являлись бестоковый потенциал $E_{Ni(X)}$, потенциал пика E_p и ток пика i_p . Полученные значения этих величин занесены в табл. 3. Было установлено, что введение в покрытие наночастиц заметно изменяет данные параметры. Так, бестоковый потенциал покрытий Ni(X) смещается в область более отрицательных потенциалов по сравнению с исходным никелевым покрытием. Это смещение наиболее ярко выражено для покрытий Ni(Ni). Меняется также и потенциал пика: он смещается в положительном направлении на 30 .. 200 мВ по сравнению с исходным никелевым покрытием. Из анализа рис. 7 и табл. 3 также

следует, что модифицирование Ni-покрытия наночастицами металлов приводит к изменению максимальной скорости реакции: данная характеристика увеличивается для покрытий Ni(Co) и особенно Ni(Cu) и снижается для покрытий Ni(Ni). Интересен тот факт, что при уменьшении концентрации наночастиц в базовом электролите в 2 раза наблюдается иной эффект: i_p возрастает для Ni(Ni)- и Ni(Co)-покрытий и уменьшается для покрытий Ni(Cu). Поскольку коллоидные растворы металлов получали по одной методике, то можно предположить, что они имеют одинаковое строение мицелл, а выявленные эффекты обусловлены различной природой наночастиц металлов.

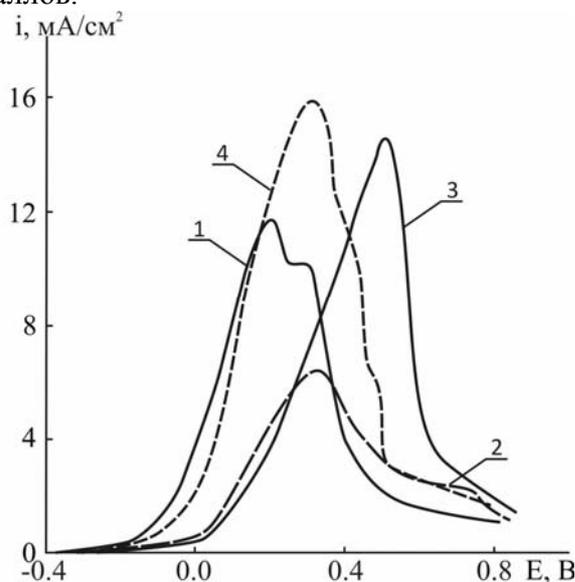


Рис. 7. Анодные поляризационные кривые окисления гипофосфит-иона на Ni-покрытии (1) и покрытиях Ni(X) (2-4), осажденных на первом цикле из базового электролита с содержанием наночастиц 1:50; X = Ni (2); Co (3); Cu (4).

Таблица 3. Влияние наночастиц на параметры анодных поляризационных кривых, полученных на покрытиях Ni(X) в растворе гипофосфита натрия

	Покрывтие											
	$E_{Ni(X)}$, В				E_p , В				i_p , mA/cm			
	Ni	Ni(Ni)	Ni(Co)	Ni(Cu)	Ni	Ni(Ni)	Ni(Co)	Ni(Cu)	Ni	Ni(Ni)	Ni(Co)	Ni(Cu)
1:100	-0.52	0.62	0.57	0.52	-0.02	0.12	0.29	0.14	10.0	7.9	14.7	17.1
1:50		-0.53	-0.51	-0.53		0.18	0.13	0.14		13.5	13.5	9.5

Заключение

Показано, что легирование электроосажденных покрытий наночастицами изменяет их каталитические свойства, которые зависят от природы металла. Сорбционная обработка металлполимерного композита и пористого кремния приводит к существенной реконструкции поверхности, влекущей за собой

изменение каталитических, электрических и оптических свойств. Использование современных методик модификации поверхности полупроводниковых полимерных структур наночастицами металлов перспективно для создания композитных материалов с принципиально новыми характеристиками и приборов нанoeлектроники.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант 09-03-00554-а).

Список литературы

1. Суздаев И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. М.: КомКнига, 2006. 592 с.
2. Помогайло А.Д., Розенберг А.С., Уфлянд А.С. Наночастицы металлов в полимерах. М.: Химия, 2002. 672 с.
3. Егорова Е.М., Ревина А.А. и др. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2001. Т. 42. №5. С. 332-338.
4. Терская И.Н., Сальников Д.С., Макаров С.В., Яровая О.В., Лилин С.А. Химический синтез стабильных наноразмерных водно-органических дисперсий меди // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2008. Т. 44. №5. С. 503-505.
5. Кашкаров В.М., Леншин А.С., Попов А.Е., Агапов Б.Л., Турищев С.Ю. Состав и строение нанопористого кремния с гальванически осажденными Fe и Co // Изв. РАН. Серия физическая. 2008. Т. 72. №4. С. 484-490.
6. Zimina A.V., Shulakov A.S., Eisebitt S., Eberhardt W. Dept-Resolved Soft X-Ray Emission Spectroscopy of Si-Based Materials 469 // Surface Rew. And Lett. 2002. V. 9. №1. P. 461 – 464.
7. Мануковский Э.Ю. Электронная структура, состав и фотолюминесценция пористого кремния. Диссертация на соискание ученой степени канд. физ.-мат. наук. Воронеж. ВГУ. 1999.
8. Павлотоу Э.А., Спиреллис Н. Влияние условий импульсного осаждения металла на структуру и свойства нанокристаллических покрытий из чистого никеля и никелевых композитов // Электрохимия. 2008. Т. 44. №6. С. 802-811.
9. Соцкая Н.В., Долгих О.В., Рябинина Е.И. Влияние состава никелевых сплавов на их каталитическую активность в реакции анодного окисления гипофосфита // Электрохимия. 2005. Т. 41. №8. С. 972-980.
10. Пешков С.В., Золотухина Е.В., Чайка М.Ю., Крысанов В.А., Кравченко Т.А. Стабилизация нанодисперсного серебра в сульфокатионообменнике // Журн. физической химии. 2008. Т. 42. №8. С. 1493-1500.
11. Кравченко Т.А., Чайка М.Ю., Конев Д.В., Полянский Л.Н., Крысанов В.А. Электроосаждение меди в ионообменник // Электрохимия. 2006. Т. 42. №6. С. 725-733.

Соцкая Надежда Васильевна - к.х.н., доцент кафедры физической химии химического факультета ВорГУ; Воронеж, Университетская пл., 1; тел. (4732) 208-538

Долгих Ольга Валериевна - ассистент кафедры физической химии химического факультета ВорГУ, Воронеж

Sotskaya Nadezhda V. - Cand.Chem.Sci., docent of the branch of the physical chemistry, chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: NVS@chem.vsu.ru

Dolgikh Olga V. - assistant of the branch of the physical chemistry, chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh,

Кашкаров Владимир Михайлович - доцент кафедры физики твердого тела и наноструктур ВорГУ, Воронеж

Леньшин Александр Сергеевич - аспирант кафедры физики твердого тела и наноструктур ВорГУ, Воронеж

Котлярова Екатерина Александровна - магистр кафедры физической химии химического факультета ВорГУ, Воронеж

Макаров Сергей Васильевич - д.х.н., профессор, зав. кафедрой технологии пищевых продуктов и биотехнологии Иван. гос. хим-технол. ун-та, Иваново

Kashkarov Vladimir M. - docent of the branch of the Physics of a solid body and nanostructures, Voronezh State University, Voronezh

Lenshin Aleksandr S. - post-graduate student of the branch of the physics of a solid body and nanostructures, Voronezh State University, Voronezh

Kotlyarova Ekaterina A. - master of the branch of the physical chemistry, chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh

Makarov Sergey V. - doctor of Chemistry, professor, the head of the branch of the Technology of foodstuff and biotechnology, Ivanovo State Chemical Technological University, Ivanovo



УДК 54-386:577.125.53

Определение фосфолипидного состава масел льна и чуфы методом ТСХ

Санина Г.С., Назарова А.А., Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО ВГУ «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 10.08.2009 г.

Аннотация

Проанализирован качественный и количественный фосфолипидный состав масел льна и чуфы методом тонкослойной хроматографии с использованием стандартного образца лецитина.

Ключевые слова: масло льна и чуфы, фосфолипиды, тонкослойная хроматография, лецитин.

The qualitative and quantitative structure of oils of *Linum usitatissimum* and *Cyperus esculentus* by a method of the thin layer chromatography (TCL) with use of the standard sample of lecithin is analised.

Key words: Oils of *Linum usitatissimum* and *Cyperus esculentus*, phospholipids, TCL method, lecithin.

Введение

В настоящее время практически во всех продуктах питания, поступающих в продажу, наблюдается дефицит полезных биологически активных веществ. В то же время нарушения экологии, принимающие в последние годы все больший размах, ослабляют человеческий организм. Врачи рекомендуют для поддержания его нормального функционирования принимать биологически активные добавки, которые помогают предотвратить болезни и укрепить иммунную и другие системы организма [1]. Одной из биологически активных добавок, широко распространенных в продаже, является лецитин, в его состав входят различные фосфолипиды, выделенные из яичных желтков или проращенных семян сои, естественно, такие источники фосфолипидов довольно дороги [2]. Поэтому представляется актуальным поиск более дешевых и доступных источников для производства фосфолипидов.

Наибольший интерес в этом направлении представляют различные предприятия по производству растительных масел, в первую очередь, предприятия по выработке различных масел.

Как уже было сказано выше, для этой цели нами были выбраны масло чуфы и льна. Все упомянутые культуры пригодны для получения богатого витаминами и биологически активными веществами масла, однако точные сведения о качественном и количественном составе этих масел отсутствуют.

Эксперимент

Выделение фосфолипидного комплекса (ФЛК) из различных растительных масел проводилось по известной методике [3]. К пробе масла добавляли хлороформ, обрабатывали избытком холодного ацетона и помещали в холодильник. Образовавшийся осадок фильтровали.

Анализ методом ТСХ проводили в смеси растворителей хлороформ – метанол – уксусная кислота – вода в соотношении 50:25:8:4 [4].

Элюенты готовили смешиванием компонентов в указанных соотношениях непосредственно перед использованием. В процессе приготовления смешанных элюентов нужно обратить внимание на точную дозировку компонентов, поскольку даже небольшие изменения состава смеси могут привести к изменению величины R_f [3].

Для анализа использовались пластины марки Sorbfil. После нанесения проб стандартного образца концентрацией 5 мг/мл пластины помещались в камеру, насыщенную парами элюента. После поднятия фронта растворителя на 8 см пластины извлекались и просушивались. В качестве проявителя использовали 5%-ный спиртовой раствор фосформолибденовой кислоты (ФМК) и 1%-ный раствор нингидрина [4]. Далее полученные хроматограммы были отсканированы на сканере Canon MP 180 и обработаны компьютерной программой Sorbfil TCL Videodensitometer.

Обсуждение результатов

В качестве объектов нами были взяты 5 масел льна различных фирм, произведенные способом холодного отжима (табл.1), а также свежесжатые масла льна и чужфы и осадки этих масел.

Таблица 1. Масла льна, используемые для анализа

№	Название объекта	Степень очистки	Фирма-производитель
1	Масло льняное	Нерафинированное недезодорированное	ООО «Агросельпром», Украина
2	Масло льняное с селеном	нерафинированное	ООО «Биокор», Россия
3	Масло льняное «Докторь Масловъ»	нерафинированное	ООО «НКПФ ДекосТ», Россия
4	Масло льняное с витамином Е	нет данных	ООО «Соцсервис агро», Россия
5	Масло льняное «Алтайский букет»	нерафинированное	ООО НПФ «Алтайский букет», Россия

После выделения ФЛК из различных объектов нами был проведен сравнительный анализ содержания концентратов в различных объектах (табл. 2, рис. 1).

Таблица 2. Количественное содержание ФЛК в исследуемых маслах (относительная ошибка определения $\xi = 4,4\%$; количество измерений $n=3$; доверительная вероятность $\alpha=0,95$; коэффициент Стьюдента $t_a=4,3$)

Масло	Содержание ФЛК, %
Промышленное масло льна №1	10,08
Промышленное масло льна №2	8,52
Промышленное масло льна №3	0,33
Промышленное масло льна №4	0,35
Промышленное масло льна №5	0,32
Свежевыжатое фильтрованное масло льна	13,88
Свежевыжатое нефилтрованное масло льна	16,45
Осадок свежевыжатого масла льна	9,13
Свежевыжатое фильтрованное масло чуфы	14,77
Осадок свежевыжатого масла чуфы	9,81

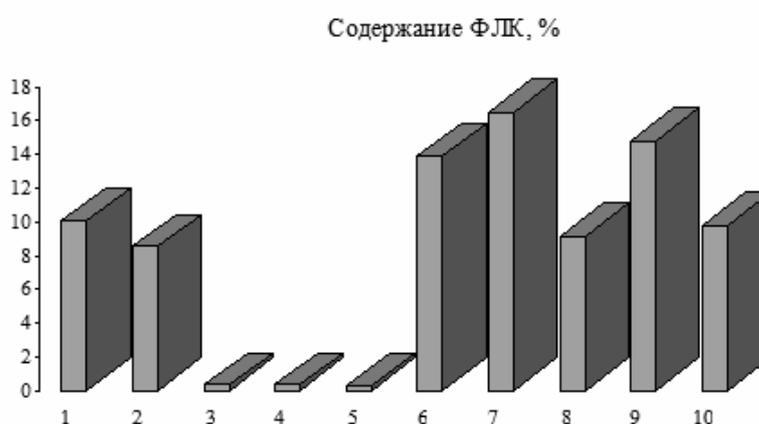


Рис. 1. Количественное содержание ФЛК в исследуемых маслах:

1- масло льна №1, 2 - масло льна №2, 3 - масло льна №3, 4 - масло льна №4, 5 - масло льна №5, 6 - свежее выжатое фильтрованное масло льна, 7 - свежее выжатое нефилтрованное масло льна, 8 - осадок свежевыжатого масла льна, 9 - свежее выжатое фильтрованное масло чуфы, 10 - осадок свежевыжатого масла чуфы.

Исходя из данных табл. 2 и рис.1, можно увидеть, что наибольшее количество ФЛК содержится в свежее выжатом нефилтрованном масле льна, его доля достигает 16 % (по массе). Поскольку ФЛ являются биологически активными веществами, их количество в готовом продукте может служить показателем пищевой ценности масла.

Из сравнения данных по содержанию ФЛК в фильтрованном и нефилтрованном масле льна можно сделать вывод, что при отжиме в масло переходят некоторые количества связанных ФЛ, а также гидратированных ФЛ, о чем говорит мутность масла и осадок, который образуется при хранении. После удаления этого осадка фильтрованием в масле остаются только свободные негидратированные ФЛ. В пищу рекомендуют употреблять именно свежее выжатое льняное масло, так как количество ФЛ в нем максимально. К сожалению, ФЛ отрицательно влияют на срок хранения масла, из-за их лабильности и быстрой окисляемости такое масло быстро портится. Поэтому при выпуске промышленных масел некоторую часть ФЛ все же удаляют. Однако на различных предприятиях по изготовлению льняного масла в промышленных масштабах используются различные виды обработки масла. Из

данных табл. 2 видно, что на предприятиях «Агросельпром» (Украина, Днепропетровск) и ООО «Биокор» (Россия, Пенза) (масла №1 и №2 соответственно) применяется более щадящий режим обработки, вследствие чего и количество ФЛ в этих маслах больше (10,08 % в масле льна №1 и 8,52 % в масле льна №2). В отличие от вышеназванных предприятий, в НКПФ «ДекосТ» (Россия, Москва), ООО «СоцСервис Агро» (Россия, Москва) и ООО НПФ «Интер-масло» (Россия, Барнаул) применяется рафинация и дезодорация, что положительно влияет на срок хранения масла, но отрицательно – на количество ФЛ.

Количество ФЛК в свежесвыжатом фильтрованном масле чумы достигает 14,77 %, что не сильно отличается от аналогичного показателя для свежесвыжатого фильтрованного масла льна (13,88 %). Осадки этих масел также не сильно отличаются по количественному содержанию ФЛК (9,81 % и 9,13 % соответственно), что может говорить о примерно одинаковой биологической ценности этих масел, а также об одинаковом соотношении свободных негидратированных и связанных гидратированных ФЛ в готовом продукте.

Далее нами был проанализирован качественный и количественный состав выделенных ФЛК.

Таблица 3. Качественный и количественный состав ФЛК исследуемых масел и их осадков ($\xi = 7,8\%$; $n=3$; $\alpha=0,95$; $t_a=4,3$)

ФЛ	Содержание ФЛ, %						
	Масло льна №1	Масло льна №2	Свежесвыжатое фильтрованное масло льна	Свежесвыжатое нефилтрованное масло льна	Осадок свежесвыжатого масла льна	Свежесвыжатое масло чумы	Осадок свежесвыжатого масла чумы
ЛФХ	+	+	6,6	15,8	9,4	1,7	11,6
ФИ	-	-	31,1	21,1	17,1	26,4	16,4
ФХ	15,1	24,1	36,1	33,3	38,5	15,9	34,8
ФС	11,3	23,3	4,9	15,8	13,2	40	13,4
ФЭА	73,6	52,6	21,3	14	21,8	15,9	23,9

Для всех ФЛ были определены данные по значениям R_f , которые практически не отличаются от литературных: лизофосфатидилхолин (ЛФХ) – 0,10; фосфатидилинозитол (ФИ) – 0,22; фосфатидилхолин (ФХ) – 0,55; фосфатидилсерин (ФС) – 0,66; фосфатидилэтаноламин (ФЭА) – 0,83 [3].

Количественный расчет проводился по градуировочным графикам для каждого из фосфолипидов в отдельности. Данные для графиков получены с помощью программы Sorbfil TCL Videodensitometer. При построении графика было отмечено, что площадь пятна на хроматограмме не зависит от вида ФЛ и при одинаковой концентрации зоны всех ФЛ имеют одинаковую площадь. Это объясняется нами тем, что в молекуле каждого ФЛ содержится только один атом фосфора, с которым вступает ФМК (проявитель).

Из данных табл.3 видно, что промышленные и свежесвыжатые масла сильно различаются по своему качественному и количественному составу. Что касается

масел №№1, 2, то в состав их ФЛК входят только три ФЛ – ФХ, ФС и ФЭА. ЛФХ в этих маслах находится в малом количестве, не превышающем ошибки метода. Пятен ФИ на хроматограммах не наблюдается вообще. Самое большое количество ФХ находится в масле № 2 (24,1% по сравнению с 15,1 % масла №1). Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что при обработке льняного масла (методом гидратации) из него удаляются в первую очередь ФИ и ЛФХ, очевидно, как более полярные и наиболее сильно взаимодействующие с водой (в первом случае – из-за пяти гидроксильных групп в остатке инозитола, во втором – из-за отсутствия одной жирной кислоты (ЖК) в положении С₂ глицерина).

Что касается ФЛК свежесжатых масел, то в их состав входят помимо ФХ, ФС и ФЭА еще и ЛФХ и ФИ. В нефилтрованном масле все указанные ФЛ, кроме ФХ, содержатся примерно в равных количествах (от 14% для ФЭА до 21,1% для ФИ). ФХ в этом образце значительно больше, его количество достигает 31,1 %. В филтрованном масле количества ФИ и ФЭА увеличивается, а количество ЛФХ и ФС уменьшается, так как они переходят в осадок. Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что ЛФХ и ФС содержались в нерастворимых соединениях или частичках семян, которые при изготовлении масла переходили в готовый продукт, и удалялись из масла филтрованием. Следовательно, можно предположить, что эти соединения являются гидратированными ФЛ, которые не растворяются в масле. Содержание ФХ во всех объектах примерно равно, следовательно, он может находиться как в гидратированном, так и негидратированном виде.

Если говорить о масле чуфы, то в осадке содержится намного больше ЛФХ по сравнению с филтрованным маслом. Это подтверждает предположение, что ЛФХ находится преимущественно в гидратированном виде, поэтому плохо растворяется в масле. Количество этого фосфолипида в филтрованном масле чуфы сравнимо с аналогичным в филтрованном масле льна. Кроме того, наибольший процент в ФЛК в этом масле занимает ФС, в отличие от остальных образцов, где преимущественно содержится ФХ (исключение составляют масла льна).

ФС в филтрованном масле льна содержится меньше, чем в осадке и в нефилтрованном масле, следовательно, он также находится в нерастворимых или гидратированных липидах. ФЭА находится во всех образцах в значительных количествах, его содержание меняется от 14 % в свежесжатом нефилтрованном масле льна до 73 % в промышленном масле льна № 1.

Таким образом, в результате проведенных исследований определены качественный и количественный фосфолипидный состав масел чуфы и льна и их осадков, дан сравнительный анализ состава свежесжатого и промышленного масел льна.

Список литературы

1. Скатков С.А. Нарушение липидного обмена и репродуктивная функция женского организма // Фармация. 2001. №6. С. 30-32.
2. Филиппович Ю. Б. Основы биохимии: Учебник для студ. хим. и биол. специальностей пед. ин-тов. М.: Высшая школа, 1985. 502 с.
3. Арутюнян Н.С., Корнена Е.П. Фосфолипиды растительных масел. М.: Агропромиздат, 1986. С. 3-105.
4. Сикорская А.С., Назарова А.А., Селеменов В.Ф. Подбор оптимальных условий разделения фосфолипидных комплексов, полученных из семян подсолнечника // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 2. С.215 – 220.

5. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. В 2-х т. / Под ред. В.Г. Березкина. / Т. 1 / Пер. с англ. Под ред. Д.Н. Соколова, М.И. Яновского. М.: Мир, 1981. 616 с.

Санина Галина Сергеевна – магистр каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Назарова Александра Александровна – ассистент каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Селеменев Владимир Федорович – заведующий кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Sanina Galina S. – the magistrate of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: asmadea@mail.ru

Nazarova Alexandra A. – ass. of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: march_rabbit@list.ru

Selemenev Vladimir F. – professor, head of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: common@chem.vsu.ru



УДК 621.359.7

Спектроскопическое исследование состава фульвокислот чернозема выщелоченного

Ненахов Д.В., Гасанова Е.С., Котов В.В., Стекольников К.Е.

Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки, Воронеж

Селеменев В.Ф., Карпов С.И.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 2.09.2009 г.

Аннотация

Методами УФ и ИК-спектроскопии исследован состав фракций фульвокислот (ФК) чернозема выщелоченного, образованных их десорбцией с активированного угля различными растворителями. Показано, что водная фракция содержит вещества алифатической природы, а водно-ацетоновая и аммонийная - как алифатической, так и ароматической. Выявлено наличие в составе всех фракций координационных соединений.

Ключевые слова: фульвокислота, фракция, УФ-, ИК-спектроскопия

The content of fractions of fulvic acids of lached chernozem, that was received by desorption from activated charcoal by different solvents, was researched by UV- and IR-spectroscopy methods. It was shown that water fraction content substances of aliphatic kind and water-acetone and ammonium ones – as aliphatic or aromatic. Revealed the existence of all the factions of coordination compounds.

Key words: fulvic acid, fraction, UV-, IR-spectroscopy methods.

Введение

Одними из важнейших компонентов гумуса являются фульвокислоты (ФК). Имеются различные точки зрения на происхождения ФК. Одни из авторов считают их самостоятельными химическими соединениями, а другие – продуктами реакции отщепления от гуминовых кислот (ГК) под действием природных и техногенных факторов или при препаративном выделении из почв [1,2]. ФК не имеют постоянного химического состава, однако известно, что их молекулярная масса колеблется от нескольких сот до нескольких тысяч Да, а в состав молекул входят ароматические фрагменты, фенольные и спиртовые гидроксилы, кетонные группы и атомы азота аминогрупп и пептидных связей [1, 3]. Вследствие неопределенности состава ФК различными авторами выдвигаются гипотетические модели их строения, основанные на изучении продуктов гидролиза и окисления [3].

Фракционирование ФК проводится различными методами, из которых наиболее применим метод Форсита [4], заключающийся в их сорбции на

активированном угле из кислого раствора, образующегося при осаждении ГК из щелочных почвенных экстрактов, с дальнейшей десорбцией последовательно водой, смесью воды и ацетона и гидроксидом аммония. Выделенные таким образом ФК образуют три фракции – водную (А), водно-ацетоновую (В) и аммонийную (Д). Последняя фракция считается собственно ФК [5]. Однако, в природных условиях, вещества фракций А и В участвуют в протекании в почве химических и биохимических процессов и поэтому сведения о их составе и свойствах являются необходимыми.

При исследовании состава и свойств гумусовых кислот одними из основных методов являются спектроскопические [1]. При взаимодействии с электромагнитными колебаниями молекулы ГК и ФК образует сложные спектры поглощения в широком диапазоне длин волн. Комбинация электронных спектров поглощения в УФ-области с ИК-спектрами позволяет установить присутствие в молекулах ГК и ФК важнейших группировок и связей и служит средством идентификации этих веществ. Следует сказать, что основная масса спектроскопических исследований проводится на нефракционированных или собственно ФК, в то время как сведений об оптических свойствах отдельных фракций недостаточно.

Целью работы было сравнительное спектроскопическое исследование состава различных фракций ФК.

Эксперимент

Гумусовые кислоты были выделены из образцов верхнего слоя целинного чернозема выщелоченного. Образцы почвы обрабатывались по стандартной методике [4], действием раствора смеси пиррофосфата и гидроксида натрия при рН 13. Затем взвесь центрифугировалась, жидкая фаза (щелочной экстракт) подкислялась соляной кислотой до рН 1,5-2,0, после чего выпавшие ГК центрифугированием отделялись от раствора, содержащего ФК. Далее кислый раствор пропускали через колонку диаметром 43,3 мм содержащую 33 г активированного угля марки БАУ-А (ГОСТ 6217-74) со скоростью 0,05 мл/с. В результате чего на угле проходила сорбция органических соединений, а раствор, содержащий неорганические кислоты и соли, отбрасывали. Десорбция фракций ФК проводилась последовательной промывкой колонки водой, смесью воды и ацетона (1:1) и 3 % раствором гидроксида аммония [4]. Полученные растворы высушивались при температуре 40⁰С, образовавшиеся твердые фазы фракций ФК собирались и взвешивались. Водная, водно-ацетоновая и аммонийная фракции условно получили название А, В и Д соответственно. Перед снятием УФ спектров образцы препаратов фракций ФК А, В и Д массой 15 мг растворялись соответственно в 10, 120 и 320 мл дистиллированной воды. Спектры растворов снимались на приборе СФ-26 в диапазоне длин волн 200-350 нм с шагом 5 нм. Вследствие полидисперсности исследуемых систем и неопределенности химического состава полученные электронные спектры выражались не в виде зависимости оптической плотности от длины волны, а таким образом, что в качестве функции длины волны выступала величина Е, представляющая собой коэффициент поглощения, рассчитанный на концентрацию ФК г/см³ [1]

ИК-спектроскопическое исследование проводилось на приборе Specord. Спектрограмму записывали в интервале частот 4000-400 см⁻¹. Для сопоставления интенсивности колебаний, относимых к близким характеристическим частотам,

использован метод базовой линии. Расшифровка ИК спектров проводилась в соответствии с методиками, приведенными в работах [6-8].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены зависимости коэффициентов поглощения различных фракций ФК от длины волны электромагнитного излучения в УФ-области. Интенсивность светопоглощения во всем исследованном интервале длин волн для фракций ФК значительно различается. Относительно низкие величины E характерны для фракции А (кривая 1). Отсутствие максимумов на этой кривой указывает на то, что данная фракция не содержит ароматических соединений. Постепенное возрастание коэффициента поглощения с уменьшением длины волны говорит о смещении максимума поглощения раствора в дальнюю ультрафиолетовую область (гипсохромный эффект) [8], что характерно для так называемых изолированных хромофоров – веществ с одной кратной связью алифатического строения, простых эфиров и аминов, а также полисахаридов, пептидов и насыщенных углеводов [1]. Аналогичным образом изменяется коэффициент поглощения раствора фракции В (кривая 2), однако, гораздо более высокие значения E в исследуемой области длин волн указывают на присутствие в составе этой фракции более сложных молекул, содержащих цепочки сопряженных связей как алифатического, так и ароматического характера [1] и ауксохромных группировок. Однако, как и в случае ФК фракции А, максимум поглощения сдвинут в коротковолновую область, что указывает на достаточное содержание в этой фракции алифатических соединений.

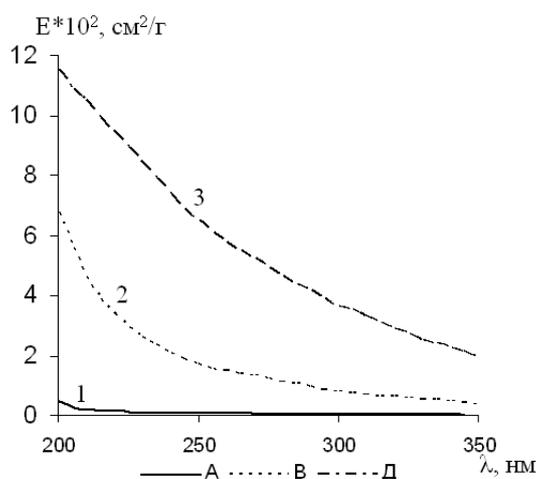


Рис. 1. Зависимость коэффициента поглощения (E) ФК фракций А (1), В (2) и Д (3) от длины волны λ .

Зависимость E от длины волны у ФК фракции Д (кривая 3) характерна для спектральных характеристик гумусовых кислот и не имеет четко выраженных полос поглощения. Зависимость с постепенным понижением коэффициента поглощения при увеличении длины волны указывает на более сложный состав ФК этой фракции по сравнению с другими. Ауксохромные группировки (карбонильные, амино- и оксигруппы), связанные с сопряженной системой углерод-углеродных связей, увеличивает вероятность электронных переходов, что смещает максимумы в длинноволновую область спектра (батохромный эффект) [8]. Данные УФ-

спектроскопии показывают постепенное усложнение состава ФК в ряду фракций $A < B < D$.

Более полные данные позволяет получить метод ИК спектроскопии. На рис. 2 приведены ИК спектры ФК фракций А (кривая 1), В (кривая 2) и Д (кривая 3). Все спектры содержат по две четко выраженные области $700-1800 \text{ см}^{-1}$, включающую полосы колебания фрагментов молекул ФК и связей и $2600-3700 \text{ см}^{-1}$, максимумы в которой указывают на валентные колебания ОН-связей. На спектрах имеются слабые максимумы, соответственно, $739, 721$ и 746 см^{-1} , характеризующие колебания метиленовых групп, $920, 916$ и 937 см^{-1} , относящиеся к пульсационным колебаниям пиранозных циклов, $1153, 1155$ и 1117 см^{-1} , указывающие на содержание в молекулах ФК спиртовых гидроксидов и связей С-О. Для ФК фракций А и В характерно проявление полос 966 и 984 см^{-1} , указывающих на колебания групп Р=О. Во всех спектрах содержатся максимумы 1402 и 1404 см^{-1} указывающие на симметричные колебания карбоксилат-ионов, 1634 и 1636 см^{-1} – на их асимметричные колебания, а также $1730, 1728$ и 1740 см^{-1} , характеризующие валентные колебания связи С=О в недиссоциированных карбоксильных группах и сложных эфирах. Однако, полосы 1634 и 1636 см^{-1} могут характеризовать также наличие в молекулах ароматических фрагментов и пептидных связей (амид-I). Спектры, соответственно, содержат также полосы $3260, 3175$ и 3227 см^{-1} , относящиеся к валентным колебаниям ОН-связей в гидратных оболочках функциональных групп, а так же $3437, 3430$ и 3445 см^{-1} , указывающие на наличие «свободной» воды с нормальной сетью водородных связей.

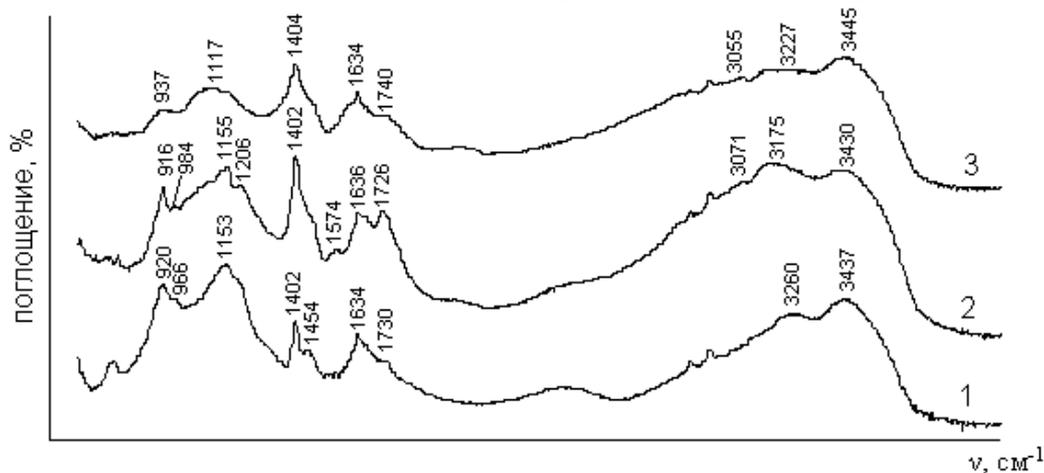


Рис. 2. ИК-спектры ФК. Фракции: А (1), В (2) и Д (3)

Полученные ИК-спектры содержат ряд отличий. Так в спектре ФК фракции А (кривая 1) проявляется полоса 1454 см^{-1} , характеризующая деформационные колебания связи С-Н в метиленовых и метильных группах, что подчеркивает алифатический характер этой фракции. Спектр ФК фракции В (кривая 2) содержит полосу 1206 см^{-1} , подтверждающую наличие связей С-О и О-Н в карбоксильных группах и 1574 см^{-1} , характеризующую асимметричные деформационные колебания диссоциированных карбоксильных групп и частично, пептидных связей (амид-II). Кроме того, спектры ФК фракций В и Д, в отличие от фракции А, содержат максимумы 3071 и 3055 см^{-1} , характеризующие валентные колебания связей С-Н в ароматических ядрах, что указывает на наличие в них ароматических фрагментов.

Сравнительные данные, полученные обработкой спектров методом базовой линии [5], показаны на рис. 3. В качестве стандартных были выбраны максимумы $2930, 2934$ и 2932 см^{-1} , характеризующие валентные колебания С-Н в метильных и метиленовых группах алифатических фрагментов молекул ФК, всегда

присутствующих в их строении. Данные показывают, что отклонение высоты пиков в основном изменяется по фракциям А>В>Д. Наиболее значительные величины $h/h_{ст}$ у фракции А связаны, по-видимому, с низкой молекулярной массой веществ, образующих эту фракцию. В то же время интенсивность колебаний, характерная для ФК фракции Д минимальна, что может быть связано с олигомерным характером их молекул. Обращает на себя внимание отсутствие полос поглощения при 980 см^{-1} у ФК фракции Д, в то время как у фракции А значение $h/h_{ст}$ максимально. Это может быть связано с тем, что при сорбции ФК активированным углем с ними из раствора, содержащего пирофосфаты, соосаждаются эти фосфорсодержащие соединения. При десорбции водной фракции основная часть этих соединений, как хорошо растворимых, попадает в ее состав. Остальная же, меньшая, часть пирофосфатов при десорбции попадает во фракцию В.

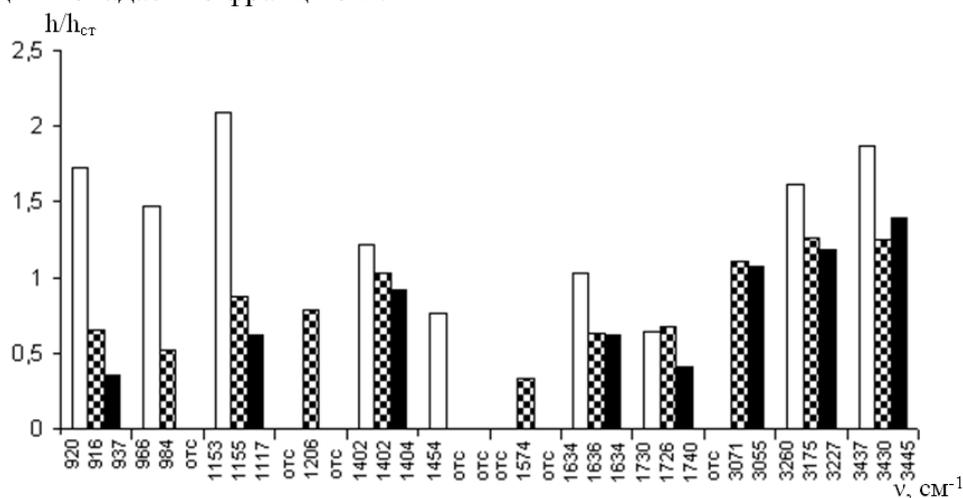


Рис. 3. Относительные высоты ($h/h_{ст}$) пиков ИК-спектров ФК фракций А (□), В (▣) и Д (■).

Анализ спектров показывает также на присутствие в составе ФК ионов поливалентных металлов. По данным работ [9] следует, что разница между частотой асимметричных $\nu_{ас}$ и симметричных $\nu_{с}$ колебаний диссоциированных карбоксильных групп $\Delta\nu$ более 225 см^{-1} указывает на наличие ковалентной связи металл-кислород. В ФК фракций А, В и Д эта разница составляет соответственно 232 , 234 , 230 см^{-1} , что указывает на содержание в них координационных соединений. При этом максимально их содержание во фракции А, так как величина $h/h_{ст}$ при 1634 см^{-1} для этой фракции максимальна и полностью отвечает колебаниям групп $-\text{COO}^-$, так как спектр этой фракции не содержит полос, относящихся к ароматическим фрагментам или амидным группам.

Заключение

v
-1

1. Методами УФ и ИК спектроскопии выявлено, что молекулы ФК водной фракции содержат алифатические, а водно-ацетоновой и аммонийной фракций – вещества как алифатической, так и ароматические природы.
2. Водная фракция ФК предположительно содержит вещества углеводной, а водно-ацетоновая – белковой и ароматической природы.
3. Выявлено, что ФК всех фракций включают координационные соединения, максимальное содержание которых имеется в водной фракции.

Список литературы

1. Орлов Д.С. Химия почв, М.: Изд-во МГУ, 1992,- 400 с
2. Славинская Г.В., Селеменев В.Ф. Фульвокислоты природных вод. Воронеж: Воронеж. Ун-т., 2001. – 165 с.
3. Орлов Д.С. Почвенные фульвокислоты: история их изучения, значение и реальность // Почвоведение. - 1999. - №9. – С. 1165-1171.
4. Зырин Н.Г., Орлов Д.С. Физико-химические методы исследования почв. М.: МГУ, 1980.- 382 с.
5. Практикум по почвоведению / под ред. И.С. Кауричева. - М.: Агропромиздат, 1986. - 336 с.
6. Углянская В.А., Чикин Г.А., Селеменев В.Ф., Завьялова Г.А. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов. Воронеж, изд-во ВГУ, 1989. – 208 с.
7. Цундель Г. Гидратация и межмолекулярное взаимодействие. М.: 1972 – 406 с.
8. Казицина Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: 1971 – 264 с.
9. Эллиот А. Инфракрасные спектры и структура полимеров. М.: 1972 – 160 с.

Ненахов Дмитрий Владимирович – аспирант кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

Гасанова Елена Сергеевна – к.с.-х.н., доцент кафедры почвоведения Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

Котов Владимир Васильевич – д.х.н., профессор кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

Стекольников Константин Егорович – к.с.-х.н., зав. кафедрой почвоведения Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537172

Селеменев Владимир Федорович – д.х.н., проф., зав. кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Карпов Сергей Иванович – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Nenahov Dmitriy V. – postgraduate student of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: dmitry-nen@mail.ru

Gasanova Elena S. - candidate of agricultural sciences, associate professor of soil science of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: dmitry-nen@mail.ru

Kotov Vladimir V. – doctor of chemical sciences, professor of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, tel.: 8(4732)537678

Stekolnikov Konstanyin E. – candidate of agricultural sciences, manager of soil science department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: soil@agrochem.vsau.ru

Selemenev Vladimir F. - doctor of chemical sciences, professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh

Karpov Sergey I. - candidate of chemical sciences, associate professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh



УДК 542.87:621.359.7

Определение состава препаратов гуминовых кислот различной чистоты методами спектроскопии

Ненахов Д.В., Котов В.В., Стекольников К.Е.

Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки, Воронеж

Селеменев В.Ф., Карпов С.И., Лукин А.Н.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 02.09.2009 г.

Аннотация

Методами УФ- и ИК-спектроскопии исследован состав препаратов гуминовых кислот различной чистоты. Установлено наличие в составе препаратов ароматических фрагментов и функциональных групп различного строения. Показано, что препараты, полученные при электродиализе щелочных почвенных экстрактов с последующей промывкой водой, не содержат примесей экстрагентов – пирофосфатов.

Ключевые слова: гуминовая кислота, электродиализ, ионообменная мембрана, УФ-, ИК-спектроскопия

The content of preparations of humic acids of different purities was researched by UV- and IR-spectroscopy methods. Was found aromatic fragments and functional groups of different structure in content of preparations. It was shown that preparations, received by electro dialysis with subsequent water washing, do not content impurities extractants – pyrophosphate.

Key words: humic acid, electro dialysis, ionexchange membrane, UV-, IR-spectroscopy methods

Введение

Методы спектроскопии являются достаточно информативными при исследовании состава и строения природных и синтетических высокомолекулярных соединений. Одними из таких объектов являются важнейшие компоненты почвенного гумуса гуминовые кислоты (ГК). Установление строения и состава ГК позволяет с одной стороны целенаправленно проводить агротехнические мероприятия, а с другой получать информацию о химических и биологических процессах, протекающих в почвах [1].

Традиционным методом извлечения ГК из почв является экстракция раствором смеси пирофосфата и гидроксида натрия при рН около 13 с последующим осаждением минеральными кислотами до рН 1,5-2,0 [2]. Выделенные таким образом препараты вследствие соосаждения минеральных веществ обладают достаточно высокой зольностью, что вызывает значительные затруднения и погрешности при

идентификации ГК. Это требует введения дополнительных операций, позволяющих получать препараты повышенной чистоты (промывка, диализ и др.). Однако, сведения о конкретных методах снижения зольности препаратов ГК практически отсутствуют. Известно, что достаточно чистыми считаются ГК, остаток при прокаливании (ОПП) которых составляет несколько процентов [3].

Эффективным методом деминерализации растворов высокомолекулярных соединений является электродиализ с ионообменными мембранами [3]. Ранее нами [4,5] получены препараты ГК путем обработки щелочных почвенных экстрактов в электродиализаторе с чередующимися катионообменными МК-40 и анионообменными МА-40 мембранами с последующей промывкой дистиллированной водой. Комбинирование использованных приемов позволило получить препарат ГК с ОПП менее 1%. Было показано, что препараты, полученные с использованием электродиализа, обладали более однородным составом, а потенциометрическое определение функциональных групп давало более низкую погрешность определения, чем в случае ГК, полученных традиционным методом [4]. Однако следует сказать, что метод потенциометрии, хотя и позволяет выявить кислотно-основные свойства ГК, но не дает информации о химическом строении их молекул. Более полное представление об этом могут дать методы УФ- и ИК-спектроскопии.

Целью работы было выявление влияния приемов получения препаратов ГК на их состав методами спектроскопии.

Эксперимент

Объектами исследования были ГК, выделенные из целинного образца верхнего слоя чернозема выщелоченного 1) традиционным методом, 2) методом электродиализа щелочного экстракта, и 3) комбинированием метода электродиализа с последующей отмывкой дистиллированной водой по методике, описанной в работе [5].

ОПП образцов определялся сжиганием проб в муфельной печи при 900⁰С. Данные приведены в таблице 1.

Таблица 1. ОПП препаратов ГК

Способ получения	Традиционный	Электромембранный	
		без отмывки	с отмывкой водой
ОПП	18,9±2,9	10,0±1,2	0,95±0,05

Перед снятием УФ-спектров образцы ГК массой 0,94 мг растворялись в 100 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия. Спектры образовавшихся гуматов снимались на приборе СФ-26 в диапазоне длин волн 200-350 нм с шагом 5 нм. ИК-спектроскопическое исследование проводилось на приборе Spesord. Спектрограмму записывали в интервале частот 4000-400 см⁻¹. Анализ ИК спектров проведен в соответствии с данными работ [6-8]. Для сопоставления интенсивности колебаний, относимых к близким характеристическим частотам, использован метод базовой линии [6].

Обсуждение результатов

На рис. 1 показаны УФ-спектры гуматов, выделенных традиционным методом (кривая 1) и при электродиализе щелочных почвенных экстрактов (кривая 2). Спектральные кривые имеют максимумы соответственно при 237 и 240 нм, что указывает на присутствие в составе ГК ароматических фрагментов и отвечает известным данным, в соответствии с которыми главная цепь молекул ГК построена из фрагментов фенилкарбоновых кислот [1]. Отсутствие максимумов в более длинноволновой области указывает на их перекрытие вследствие сложной структуры молекул ГК. Увеличение оптической плотности растворов гуматов, полученных при электромембранной деминерализации экстрактов, по сравнению с полученными традиционным методом, указывает на повышение чистоты препаратов в связи с удалением балластных веществ неорганической и неароматической природы при электродиализе.

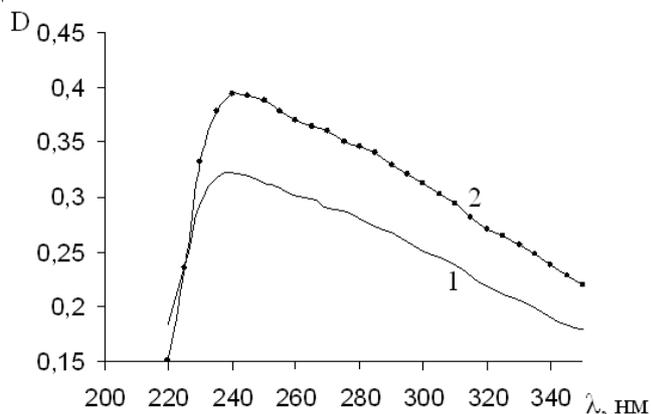


Рис. 1. УФ-спектры гуматов. ГК, выделенные традиционным методом (1) и при электродиализе экстрактов (2)

ИК-спектры ГК разной степени чистоты приведены на рис. 2. На спектре ГК, выделенных из щелочных экстрактов кислотным осаждением (кривая 1), электромембранной деминерализацией экстрактов (кривая 2) и электродиализом с последующей отмывкой (кривая 3) четко выделяется по два участка. Первый из них в области частот колебаний $700-1800\text{ см}^{-1}$ соответствующий различным видам колебаний фрагментов молекул ГК, и $2600-3700\text{ см}^{-1}$, соответствующий колебаниям ОН-связей.

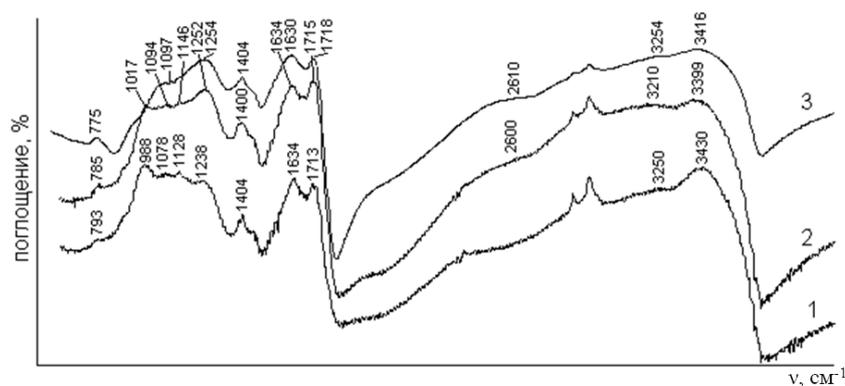


Рис. 2. ИК-спектры ГК выделенных 1 – кислотным осаждением, 2 - электромембранной деминерализацией экстрактов, 3 – электродиализом с последующей отмывкой

В области колебаний ОН-связей проявляются полосы 2600-2610 см^{-1} , характеризующие образование димеров за счет водородных связей между недиссоциированными карбоксильными группами или $-\text{COO}^-\cdots\text{HOH}$; 3250, 3210 и 3254 см^{-1} , относимые к валентным колебаниям ОН-связей в гидратных оболочках функциональных групп, а также 3430, 3399 и 3416 см^{-1} , указывающие на наличие в образцах ГК воды с нормальной сетью водородных связей. Характерным для всех спектров является отсутствие полос в области 3500-3700 см^{-1} , указывающих на наличие воды с разупорядоченной структурой.

Полосы 988 и 1017 см^{-1} , проявляющиеся в длинноволновой области спектра, характеризуют колебания фрагментов ароматического ядра, а также валентные и деформационные колебания связей Р=О и Р-ОН в пирофосфатах, которые, по-видимому, сосаждаются из раствора в процессе образования осадка ГК. Полосы 1078, 1094 и 1097 см^{-1} (соответственно на кривых 1,2 и 3) могут быть отнесены к колебаниям связей Р=О, а также $-\text{COO}^-\cdots\text{HOH}\cdots\text{NH}_3$. Наличие двух максимумов 988 и 1078 см^{-1} в спектре ГК, полученных традиционным способом и 1017 и 1094 см^{-1} при электродиализе, указывает на присутствие, в препаратах солевых форм фосфатов, и их взаимодействие с водой [7].

Характеристические частоты 1128 и 1146 см^{-1} также указывают на колебания связей Р=О. Полосы 1238, 1252 и 1254 см^{-1} характеризуют колебания связей С-О и деформационные колебания О-Н в недиссоциированных карбоксильных группах. Спектры содержат также полосы 1400 и 1404 см^{-1} , относящиеся к симметричным валентным колебаниям карбоксилат-ионов, а также 1634 и 1630 см^{-1} , характеризующие их асимметричные колебания. Последние могут быть также отнесены к колебаниям С-Н связей в ароматических фрагментах ГК. Спектры содержат также частоты 1713, 1715, 1718 см^{-1} , указывающие на валентные колебания связей С=О в недиссоциированных карбоксильных группах. Выявленные характеристические частоты соответствуют известным данным [1,2], согласно которым молекулы ГК содержат карбоксильные, гидроксо-группы и ароматические фрагменты.

Сравнение спектров ГК проведено методом базовой линии [6]. В качестве стандартных полос взяты: 2926, 2930 и 2934 см^{-1} , характеризующие валентные колебания связей С-Н в алифатических фрагментах ГК (рис. 2). Сопоставление полос 988 и 1017 см^{-1} , указывает на некоторое снижение содержания пирофосфата в образцах ГК, полученных при электродиализе по сравнению с традиционным способом, а отмывка водой препарата, полученного электродиализом, приводит к полному их удалению, что подтверждается отсутствием соответствующих характеристических полос в областях спектра 988-1017 см^{-1} и 1126-1146 см^{-1} . Обращает на себя внимание увеличение относительных высот характеристических максимумов в областях 1238-1254; 1400-1404; 1630-1634 и 1713-1718 см^{-1} , в ряду препаратов, полученных традиционным методом, электродиализом и электродиализом с последующей отмывкой. Это указывает на постепенное снижение содержания поливалентных металлов, образующих солевые "мостики" между карбоксильными группами молекул ГК, что уменьшает амплитуду их колебаний. На протекание такого процесса косвенно указывают полосы 2600-2610 см^{-1} , характеризующие образование димеров между карбоксильными группами. Они отсутствуют в препарате, полученном традиционным методом и максимальны в препарате, отмытом водой. Следует отметить также снижение в данном ряду максимумов в области 3399-3430 см^{-1} характеризующих "свободную" воду, которая, по-видимому, перераспределяется в гидратные оболочки функциональных групп.

-

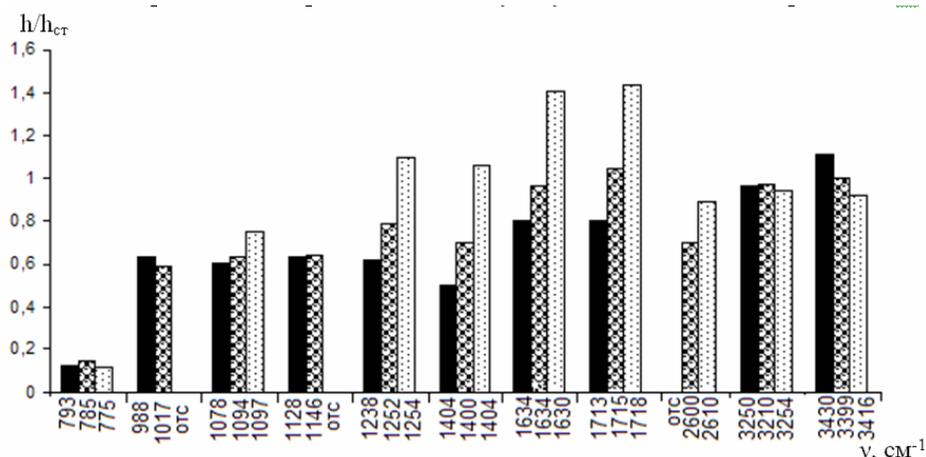


Рис. 3. Относительные высоты пиков ИК-спектров препаратов ГК полученных: ■ - кислотным осаждением, ▨ - электродиализом щелочных экстрактов, ▤ - электродиализом с последующей промывкой.

На наличие в молекулах ГК ионов поливалентных металлов указывает значение разности $\Delta\nu$ между максимумами, характеризующими асимметричные (ν_{as}) и симметричные (ν_s) валентные колебания диссоциированной карбоксильной группы $\Delta\nu = \nu_{as} - \nu_s$.

Согласно [9] эта разность указывает на степень ковалентности связи металла с кислородом карбоксильной группы. При $\Delta\nu < 225 \text{ см}^{-1}$ эта связь является преимущественно ионной, а при $\Delta\nu > 225 \text{ см}^{-1}$ – преимущественно ковалентной. Из полученных спектров следует, что минимальное значение $\Delta\nu$ (226 см^{-1}) соответствует препарату, полученному при электромембранной очистке с последующей отмывкой. Можно полагать, что предварительная электромембранная очистка экстрактов, способствует образованию в экстракте относительно более растворимых и хорошо диссоциирующих веществ, которые при последующей промывке препаратов удаляются гораздо интенсивнее.

Список литературы

1. Орлов Д.С. Химия почв, М.: Изд-во МГУ, 1992,- 400 с.
2. Зырин Н.Г. Физико-химические методы исследования почв / Н.Г. Зырин, Д.С. Орлов.-М.: МГУ, 1980.- 382 с.
3. Котов В.В., Науменко Л.Ф. Высокомолекулярные соединения. Ионнообменные и мембранные процессы. Воронеж, ФГОУ ВПО ВГАУ, 2007. – 150 с.
4. Ненахов Д.В. и др. / Электромембранная деминерализация щелочных почвенных экстрактов. // Материалы конференции. Ионный перенос в органических и неорганических мембранах. Электромембранные технологии на базе фундаментальных исследований явлений переноса. Туапсе 2008 стр. 182-184.
5. Ненахов Д.В. и др / Электромембранная очистка и кислотно-основные свойства гуминовых кислот чернозема выщелоченного // Сорбционный и хроматографические процессы. – 2009. – Том 9. выпуск 2 – С. 301-307.
6. Углянская В.А., Чикин Г.А., Селеменов В.Ф., Завьялова Г.А. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов. Воронеж, изд-во ВГУ, 1989. – 208 с.
7. Цундель Г. Гидратация и межмолекулярное взаимодействие. М.: 1972 – 406 с.

8.Казицина Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: 1971 – 264 с.

9.Эллиот А. Инфракрасные спектры и структура полимеров. М.: 1972 – 160 с.

Ненахов Дмитрий Владимирович – аспирант кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

Котов Владимир Васильевич – д.х.н., профессор кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

Стекольников Константин Егорович – к.с.х.н., зав. кафедрой почвоведения Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537172

Селеменов Владимир Федорович – д.х.н., проф., зав. кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Карпов Сергей Иванович – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Лукин Анатолий Николаевич – к.ф.-м.н., доцент кафедры физики твердого тела и наноструктур Воронежского государственного университета, Воронеж

Nenahov Dmitriy V. – postgraduate student of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: dmitry-nen@mail.ru

Kotov Vladimir V. – doctor of chemical sciences, professor of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, tel.: 8(4732)537678

Stekolnikov Konstanyin E. – candidate of agricultural sciences, manager of soil science department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: soil@agrochem.vsau.ru

Selemenev Vladimir F. - doctor of chemical sciences, professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh

Karpov Sergey I. - candidate of chemical sciences, associate professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh

Lukin Anatoliy N. - candidate of mathematical-physical sciences, associate professor of solid state physics and nanostructures of Voronezh state university, Voronezh



УДК 541.183+543.422

Сорбция аргинина и лизина гомогенной катионообменной мембраной МФ-4СК

Крисилова Е.В., Елисеева Т.В., Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 2.09.2009 г.

Аннотация

Исследована сорбция основных аминокислот лизина и аргинина гомогенной катионообменной мембраной МФ-4СК. На основе анализа изотерм сорбции, коэффициентов распределения и зависимостей межфазного поверхностного натяжения от степени заполнения фазы мембраны ионами аминокислоты сделаны выводы о существенном вкладе гидрофобных взаимодействий в сорбцию аминокислот. Установлено образование ассоциатов аминокислот в фазе гомогенной ионообменной мембраны.

Ключевые слова: аминокислота, сорбция, гомогенная ионообменная мембрана

Sorption of basic amino acid – lysine and arginine by homogeneous cation-exchange membrane MF-4SK is studied. The conclusions about the important role of hydrophobic interactions in the uptake of amino acid are made on the basis of sorption isotherms and distribution coefficients analysis. The dependences of interphase surface tension on the fraction of amino acid in membrane phase were obtained. The formation of lysine and arginine associates (clusters) in the phase of homogeneous cation-exchange membrane was found.

Key words: amino acid, sorption, homogeneous cation-exchange membrane

Введение

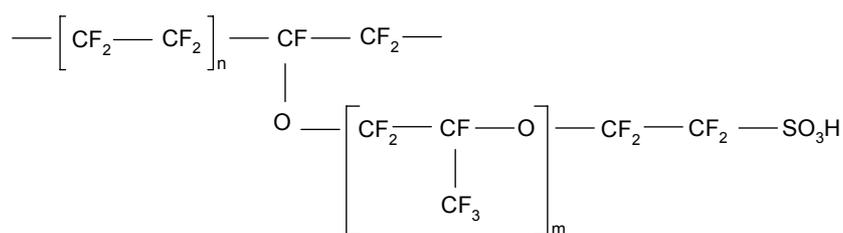
Взаимодействия в системе ионообменник – раствор аминокислоты представляют существенный научный и практический интерес, так как для применения технологий электродиализа и диализа с ионообменными мембранами с целью выделения этих органических амфолитов из различных растворов необходимо учитывать особенности таких взаимодействий, влияющих на массоперенос и, в конечном счете, на эффективность процесса. Результаты исследования сорбции аминокислот гранулированными ионообменниками достаточно полно представлены в литературе [1-3]. В то же время данные о сорбции аминокислот ионообменными мембранами ограничены [4,5]. Изучение сорбции аминокислот ионообменными мембранами дает возможность уточнить теоретические представления о природе и механизме транспорта аминокислот в процессах диализа и электродиализа. Следует отметить, что, если закономерности сорбции органических соединений гетерогенными мембранами на основе полистирольных сульфокатионообменников во многом аналогичны таковым для соответствующих гранулированных сорбентов, то гомогенные мембраны на основе перфторированных сульфокатионообменных

полимеров не имеют аналогов среди гранулированных ионообменников, а сорбция аминокислот на них может иметь ряд специфических особенностей и требует исследования.

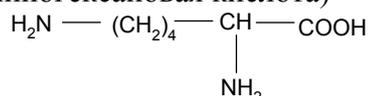
Целью настоящей работы является установление особенностей сорбции основных аминокислот – лизина и аргинина катионообменной мембраной МФ-4СК.

Эксперимент

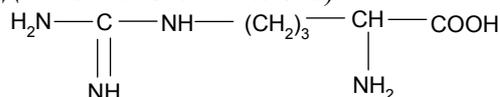
Объектами исследования являлись гомогенная катионообменная мембрана МФ-4СК, изготовленная ОАО «Пластполимер», составное повторяющееся звено которой имеет вид:



и аминокислоты лизин (2,6-диаминогексановая кислота)



и аргинин (2-амино-5-гуанидинпентановая кислота).



Мембраны готовили к исследованиям в соответствии с методикой, изложенной в [6]. Изотермы получали методом переменных концентраций в статических условиях: точная навеска мембраны в H^+ -форме (около 0.5 г.) приводилась в равновесие с 250.0 см³ раствора аминокислоты. Диапазон исходных концентраций составил 0.01-0.20 моль/дм³. Исходное значение pH растворов соответствовало изоэлектрическим точкам лизина (pI=9.74) и аргинина (pI=10.76). Содержание аминокислот в растворе определяли фотометрически, в виде медных комплексов, при длине волны 670 нм [7]. Количество поглощенной аминокислоты рассчитывали по изменению концентрации в растворе, при этом учитывали влажность мембран, определенную по ГОСТу 17554-72. Погрешность при определении емкости не превышала 0.02 ммоль/г. Рассчитаны коэффициенты распределения (K_D) аминокислот между ионообменной мембраной и раствором по формуле:

$$K_D = \frac{\bar{C}_i}{C_i}, \quad (1)$$

где \bar{C}_i - концентрация аминокислоты в фазе мембраны, моль/ дм³; C_i - концентрация аминокислоты в равновесном растворе, моль/дм³.

При расчете учитывали плотность мембран, определенную согласно [6].

Обсуждение результатов

Поскольку аминокислоты являются амфолитами, в их растворах существует равновесное распределение ионных форм, зависящее от величины рН. Для лучшего понимания механизма сорбции аминокислот ионообменной мембраной необходимо знать, в какой ионной форме находится сорбат. В Таблице 1. представлены доли различных ионных форм лизина и аргинина в диапазоне значений рН, соответствующем проведению сорбционных экспериментов.

Таблица 1. Ионный состав растворов аминокислот

Аминокислота	рН	$\alpha (A^{2+})$	$\alpha (A^+)$	$\alpha (A^{\cdot-})$	$\alpha (A^-)$
Лизин	9.0 – 10.0	$7 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-9}$	0.46-0.06	0.52-0.72	0.02-0.21
Аргинин	10.0–11.0	$2 \cdot 10^{-9} - 2 \cdot 10^{-11}$	0.11-0.01	0.89-0.98	$5 \cdot 10^{-4} - 6 \cdot 10^{-3}$

В растворах лизина преобладают биполярные ионы и однозарядные катионы, доли которых соизмеримы, в заметных количествах присутствуют анионы, доля же двухзарядных катионов пренебрежимо мала. Это позволяет предположить, что сорбция лизина может осуществляться по механизму протолиза (присоединения протона сульфо-группы с образованием катиона в фазе мембраны) и ионного обмена [1,2].

Аргинин присутствует в растворе преимущественно в виде биполярных ионов, доля однозарядных катионов достаточно мала, а доли двухзарядных катионов и анионов стремятся к нулю. Следовательно, сорбция аргинина будет происходить преимущественно по механизму протолиза, возможен также и ионный обмен.

Изотермы сорбции основных аминокислот – лизина и аргинина, представленные на рис. 1., имеют S-образный вид. При низких концентрациях равновесного раствора кривая является выпуклой, что свидетельствует о преимущественном взаимодействии биполярных ионов и катионов аминокислот с функциональными группами мембраны. После выхода изотермы на плато (значения ёмкости 0.3-0.5 ммоль/г) при концентрациях равновесного раствора, превышающих 0.05 моль/дм³, кривая идёт вверх, и количество сорбированной аминокислоты превышает обменную ёмкость по H⁺-ионам (0.9 ммоль/г). При этом вогнутая форма кривой говорит о преимущественном взаимодействии сорбирующихся частиц друг с другом. Максимальная ёмкость, рассчитанная на грамм абсолютно сухой мембраны (асм), составила по аргинину 3.28 ммоль/г, по лизину – 3.09 ммоль/г.

Анализ изотерм позволяет сделать два важных вывода. Во-первых, количество сорбированной аминокислоты, соответствующее плато изотермы, меньше полной обменной ёмкости мембраны по минеральным ионам. Во-вторых, сложный вид кривых не может быть описан изотермой Лэнгмюра и позволяет предположить наличие необменного поглощения аминокислот.

Первая особенность может быть объяснена влиянием стерического фактора, т.е. ионный обмен и протолиз затруднены для сравнительно крупных органических ионов аминокислот. Из двух исследованных аминокислот больший размер имеют биполярные ионы лизина, поэтому лизин сорбируется меньше, чем аргинин.

С другой стороны, сложное строение сорбата дает возможность неионообменного закрепления благодаря взаимодействиям сорбат-сорбат и сорбат-матрица.

К подобным выводам приводит и анализ зависимости коэффициента распределения от концентрации равновесного раствора (рис. 2). Увеличение

коэффициента распределения при достаточно высоких степенях заполнения фазы сорбента свидетельствует о наличии необменного поглощения [1].

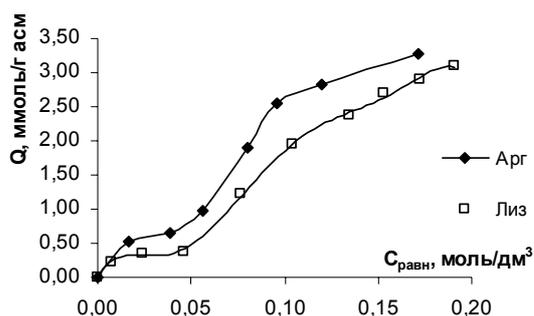


Рис. 1. Изотермы сорбции основных аминокислот катионообменной мембраной МФ-4СК

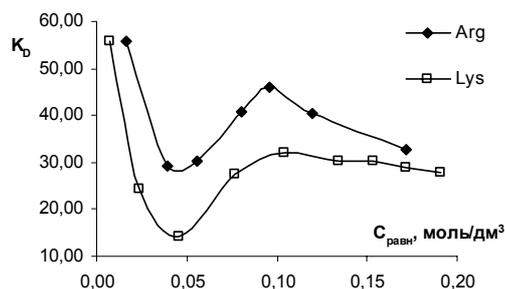


Рис. 2. Зависимость коэффициента распределения в системе аминокислота – катионообменная мембрана МФ-4СК от концентрации равновесного раствора.

Необменно поглощенные ионы аминокислот способны образовывать ассоциаты (кластеры) в фазе мембраны. Полагая, что плато соответствует образованию монослоя сорбированной аминокислоты, число мономерных единиц в ассоциате можно вычислить по формуле:

$$N_c = \frac{Q_1}{Q_i} \quad (2),$$

где N_c – число частиц в ассоциате (кластере); Q_1 – емкость монослоя; Q_i – емкость при произвольном значении $C_{равн}$.

Зависимость числа частиц в ассоциате от концентрации равновесного раствора представлена на рис.3.

Сорбцию аминокислот можно представить как перенос молекул из одной фазы в другую [3]. При этом работа переноса может быть представлена в виде суммы двух слагаемых. Первое характеризует работу образования полости для размещения частицы (гидрофобное взаимодействие), второе определяет энергию взаимодействия с фазой (ионный обмен). Работа образования полости (A) зависит от межфазного поверхностного натяжения и величины площади поверхности частицы и связана в первую очередь с природой бокового радикала аминокислоты [3]:

$$A = - S N_A \sigma_{X_i} \quad (3)$$

S – площадь поверхности частицы (рассчитана по [8]), σ_{X_i} – межфазное поверхностное натяжение при степени заполнения ионообменника X_i , N_A – число Авогадро.

$$\sigma_{X_i} = \frac{RT}{SN_A} (\ln K_{D, X \rightarrow 0} - \ln K_{D, X_i}) \quad (4),$$

$K_{D, X \rightarrow 0}$ – коэффициент распределения аминокислоты между ионообменной мембраной и раствором при степени заполнения фазы мембраны $X \rightarrow 0$; K_{D, X_i} – коэффициент распределения аминокислоты между ионообменной мембраной и раствором при произвольной степени заполнения фазы мембраны X_i .

На рис. 4 представлена зависимость межфазного поверхностного натяжения от степени заполнения фазы мембраны ионами аминокислоты (X).

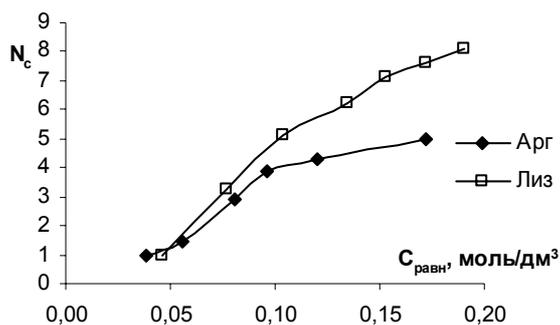


Рис. 3. Зависимость числа частиц в ассоциате (N_c) от концентрации равновесного раствора

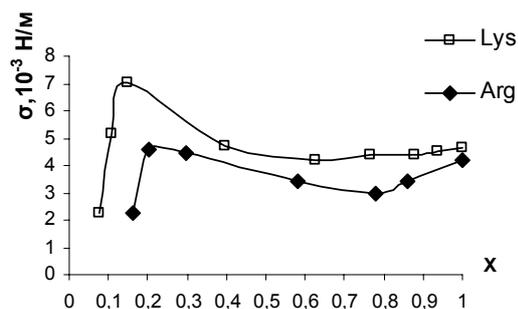


Рис.4. Зависимость межфазного поверхностного натяжения (σ_{χ_i}) от степени заполнения фазы мембраны ионами аминокислоты (X)

Зависимости имеют вид кривых с максимумом, который соответствует образованию монослоя сорбированной аминокислоты. При $X > 0.3$ значение σ_{χ_i} остаётся практически постоянным, хотя концентрация аминокислот в фазе мембраны продолжает увеличиваться. Это позволяет предположить образование компактных ассоциатов, имеющих минимальную площадь соприкосновения с водой за счёт гидрофобного связывания [9].

Выводы

В работе установлены основные особенности сорбции аминокислот гомогенной перфторированной сульфокатионообменной мембраной МФ-4СК:

1. количество сорбированной аминокислоты, соответствующее плато изотермы, меньше полной обменной ёмкости мембраны по минеральным ионам, что объясняется стерическими затруднениями при взаимодействии с функциональными группами мембраны;

2. наблюдается сверхэквивалентное поглощение аминокислот мембраной, которое может быть объяснено гидрофобными взаимодействиями, в частности, образованием ассоциатов аминокислот, о чем свидетельствует анализ изотерм сорбции, коэффициентов распределения и зависимостей межфазного поверхностного натяжения от степени заполнения фазы мембраны ионами аминокислоты.

Авторы благодарят к.х.н. С.В. Тимофеева и д.х.н. Н.П. Березину за предоставленные образцы мембран МФ-4СК и консультацию.

Список литературы

1. Самсонов Г.В., Тростянская Е.Б., Елькин Г.Э. Ионный обмен. Сорбция органических веществ. Л.: Наука, 1969. 335 с.
2. Либинсон Г.С. Сорбция органических соединений ионитами. М.: Медицина, 1979. 182 с.

3. Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Бобрешова О.В. и др. Физико-химические основы сорбционных и мембранных методов выделения и разделения аминокислот. М.: «Стелайт», 2002. 300 с.

4. Овчаренко Е.О., Васильева В.И., Шапошник В.А. и др. Сорбция аминокислот катионообменной мембраной // Сорбционные и хроматографические процессы. 2001. Т.1. Вып.1. С. 84-89.

5. Е. В. Крисилова, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев и др. Влияние боковых заместителей α -аминокислот на их сорбцию катионообменной мембраной // Журн. физ. химии. 2009. Т.83. №10. С. 1948-1952

6. Березина Н.П., Кононенко Н.А., Дворкина Г.А. и др. Физико-химические свойства ионообменных материалов: практикум. Краснодар: изд-во Кубанского гос. ун-та, 1999. 82 с.

7. Рошаль Е.Р. и др. Определение аминокислот в виде комплексов с медью // Химико-фармацевтический журнал. 1988. №6. С. 30-33.

8. Гурская Г.В. Структуры аминокислот. М.: Наука, 1966. 157 с.

9. Старобинец Г.Л., Аленицкая С.Г. Молекулярная сорбция алифатических кислот на анионитах // Журн. физ. химии. 1969. Т. 42. № 3. С. 713-718.

Крисилова Елена Викторовна – аспирант кафедры аналитической химии ВГУ, тел.: (4732) 208-932

Елисеева Татьяна Викторовна – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии ВГУ, тел.: (4732) 208-932

Селеменев Владимир Федорович – д.х.н., проф., заведующий кафедрой аналитической химии ВГУ, тел.: (4732) 208-932

Krisilova Elena V. – post-graduate student, Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: elena.vsu@mail.ru

Eliseeva Tatyana V. – lecturer, Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: tatyanaeliseeva@yandex.ru

Selemenev Vladimir F. – professor, head of Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: common@chem.vsu.ru



УДК 577.3

Новый метод диагностики аутоиммунных заболеваний, основанный на аффинной реакции на поверхности пьезокварцевого сенсора

1. Изучение условий синтеза золотых наночастиц в присутствии поверхностно-активных веществ

Шашканова О.Ю., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 17.07.2009 г.

Аннотация

Изучены условия синтеза золотых наночастиц из хлороaurатоводородной кислоты и увеличения их агрегативной устойчивости за счет сорбции поверхностно активных веществ. Показано, что на процесс образования частиц влияет природа и концентрация восстановителя, электролита и pH. Оценено влияние полиэтиленгликоля и додецилсульфата натрия на образование адсорбционного защитного слоя на поверхности золотых наночастиц. Предложены методики синтеза наночастиц диаметром 5-80 нм.

Ключевые слова: золотые наночастицы, дисперсность, адсорбция, поверхностно-активные вещества, спектрофотометрия.

Conditions of synthesis gold nanoparticle from chloraurate acids and increases in their aggregate stability by means sorption of superficially active substances and sulphate compound are studied. It is shown that process of formation of particles is influenced by the nature and concentration of a reducer, electrolyte and pH. Influence of polyethyleneglycol and sodium dodecylsulfate on formation of adsorption protective layer on the surface gold nanoparticles are estimated. Synthesis techniques nanoparticle 5-80 nanometers in diameter are offered.

Key words: gold nanoparticle, dispersion, adsorption, surface activesubstances, thiocompound, spectrophotometry

Введение

В настоящее время для определения низко- и высокомолекулярных соединений применяют золотые наночастицы (AuNP), позволяющие повысить надежность ранней клинической диагностики опасных заболеваний, расширить перечень аналитических методик для определения следовых концентраций биологически активных соединений. Наиболее изучено применение золотых наночастиц (до 30-35 нм) в оптическом анализе и оптических сенсорах [1 - 5], основанное на плазмонном резонансе, а также в электрохимических сенсорах [6,7], предназначенных для определения глюкозы [8], фосфорорганических пестицидов [9] и др.

Коллоидные золотые наночастицы в пьезокварцевых гравиметрических сенсорах применяются значительно реже из-за неоднородности их размеров. Однако использование наночастиц с узкой степенью полидисперсности может существенно повысить чувствительность определения различных соединений.

Технология синтеза золотых наночастиц изучена достаточно подробно [10,11]. В то же время проблема стабилизации и повышения устойчивости AuNP исследована недостаточно. Наиболее известна методика синтеза золотых наночастиц Туркевича [12], основанная на восстановлении золотохлористоводородной кислоты раствором цитрата натрия.

Для повышения устойчивости частиц к коагуляции, изменяющей степень дисперсности системы, рекомендуется создание защитного адсорбционного слоя поверхностно активных веществ (ПАВ), увеличивающих электростатическое отталкивание одноименно заряженных частиц дисперсной фазы и сродство по отношению к белковым молекулам [13, 14].

Цель данной работы – исследование закономерностей получения монодисперсных золотых наночастиц из золотохлористоводородной кислоты с применением различных восстановителей, оптимизация условий синтеза, а также возможности повышения устойчивости AuNP путем сорбции поверхностно активных веществ.

Эксперимент

Были применены следующие реагенты: металлическое золото (сплав 585 пробы); цитрат натрия – $C_6H_5O_7Na_3$, (х.ч); гидроксилламин солянокислый – $NH_2OH \cdot HCl$, (х.ч); сахароза – $C_{12}H_{22}O_{14}$, (х.ч); хлорид олова(II) – $SnCl_2$, (х.ч.); $0,6 \cdot 10^{-3}$ - 0,6 М гидразин солянокислый – $N_2H_4 \cdot 2HCl$, (ч); аскорбиновая кислота – $C_6(OH)_4H_4O_2$, (х.ч), полиэтиленгликоль PEG 3000 (х.ч.) (FERAK), додецилсульфат натрия (SDS, 10 мг/л), 2-меркаптоэтиламин (цистамин) (Sigma), ангидрид s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты (Serva). Все реагенты применялись без дополнительной очистки. Использовались следующие концентрации восстановителей: цитрат натрия – 0,04 - 0,78 М, гидроксилламин солянокислый – 0,0014 - 1,44 М, хлорид олова – $0,4 \cdot 10^{-3}$ - 0,4 М, гидразин солянокислый – $0,6 \cdot 10^{-3}$ - 0,6 М, аскорбиновая кислота - $0,6 \cdot 10^{-3}$ - 0,6 М, сахароза – 0,58 - 2,34 М.

Размер полученных частиц определяли спектрофотометрически, с учетом [15-17]:

λ_{max} , нм	520	530	540	580
диаметр частиц (d), нм	15-20	30	50	70-80

Оценку дисперсности получаемых частиц осуществляли по спектрам поглощения в видимой области спектра. Число атомов в ядре мицеллы (n) рассчитывали с учетом атомного диаметра золота, равного 0,288 нм.

Результаты и обсуждение

Размер и степень дисперсности наночастиц зависят от природы и концентрации восстановителя, электролита, pH и применяемых стабилизаторов (ПАВ). Изучены условия синтеза коллоидных AuNP с применением цитрата натрия, гидроксилламина солянокислого, сахарозы, хлорида олова (II), гидразина солянокислого и аскорбиновой кислоты в среде цитратного буферного раствора.

Синтез золотых наночастиц, согласно классической модели Сведберга [18], протекает через ряд последовательных стадий:

1) Восстановление золотохлористоводородной кислоты с образованием высокопересыщенного раствора золота.

2) Нуклеация частиц. Получению устойчивых частиц коллоидного золота при оптимальной активности восстановителя предшествует образование зародышей новой фазы.

3) Образование коллоидных частиц, формирование двойного электрического слоя (ДЭС), включающего потенциалопределяющие ионы (AuCl_4^-) адсорбционного слоя и противоионы диффузионного слоя (H^+).

В зависимости от условий синтеза кристаллическое ядро коллоидной частицы может включать различное число атомов золота и иметь различный размер. На скорость образования зародышей и степень пересыщения раствора золота, и, следовательно, на получение частиц необходимого размера влияют природа (окислительно-восстановительный потенциал), концентрация восстановителя и pH среды.

При восстановлении HAuCl_4 цитратом натрия на поверхности коллоидных частиц адсорбируются отрицательно заряженные цитрат-, ацетондикарбоксилат- и дикарбоксилат – ионы [19-21], способствующие как дальнейшему восстановлению, так и стабилизации частиц. Изменение концентрации цитрата в интервале 0,04 – 1,16 М приводит к формированию наночастиц различного размера. При применении до 0,12 М раствора цитрата натрия образуется небольшое количество частиц с высокой степенью полидисперсности, что свидетельствует о низкой скорости возникновения зародышей и достаточно высокой конденсации частиц (при низкой степени пересыщения); при увеличении концентрации до 0,31 М эффективность восстановления возрастает, что наглядно демонстрируют спектры поглощения (рис. 1а), свидетельствующие об образовании частиц диаметром 40 нм со сравнительно узкой степенью дисперсности. Повышение концентрации свыше 0,31 М способствует формированию крупных полидисперсных ($d = 40-80$ нм) и нестабильных агрегатов. Вследствие того, что продукты восстановления золота сами его восстанавливают и возникают все новые центры образования зародышей, получаемые частицы коллоидного золота полидисперсны и очень неустойчивы [15].

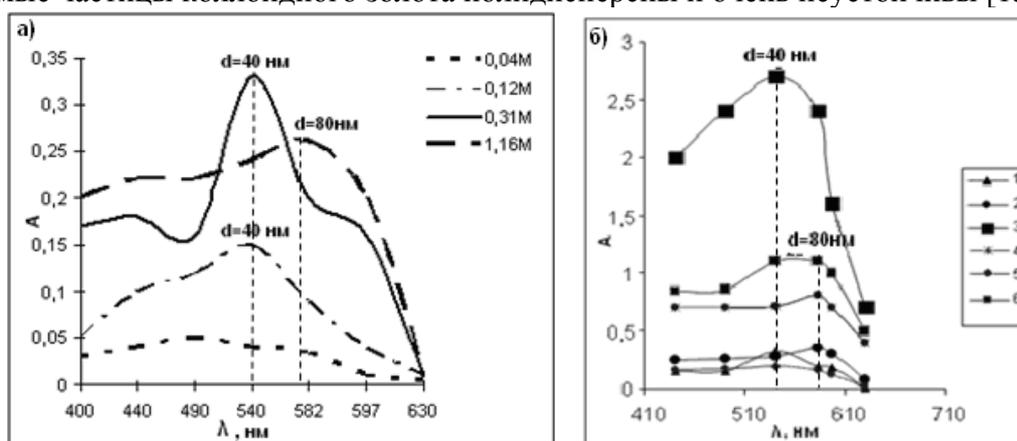
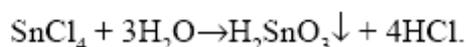
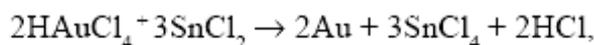


Рис. 1. Влияние концентрации цитрата натрия (а) и природы восстановителя (б) на размер и полноту протекания золотых наночастиц:

- б) 1-цитрат натрия (0,31 М), 2-гидроксиламин солянокислый (0,02 М), 3-хлорид олова (0,04 М), 4-гидразин (0,62 М), 5-аскорбиновая кислота (0,57 М), 6- сахароза (1,9 М)

Сопоставление результатов восстановления золотохлористоводородной кислоты гидроксиламином солянокислым, сахарозой, гидразином солянокислым, аскорбиновой кислотой и хлоридом олова (II) (рис. 1б) выявило наиболее активное образование коллоидных частиц при использовании последнего. В этом случае максимальное значение оптической плотности коллоидного раствора указывает на более полное протекание реакции восстановления, однако наблюдается формирование полидисперсных частиц, о чем свидетельствует размытая форма спектра поглощения (рис. 1б).

Применение хлорида олова как в щелочной, так и сильноокислой средах ограничивается образованием α -оловянной кислоты, что вызывает коагуляцию и оседание частиц из-за образования $m\text{SnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ [22]:



Синтез наночастиц осуществляли в интервале pH 4,24 – 6,18. При проведении восстановления HAuCl_4 в слабокислой среде при pH 4,24 образуются частицы размером 5 нм, при дальнейшем повышении pH происходит формирование более крупных частиц: при pH 5,25 диаметром 10 нм, при pH 5,47 – 35 нм. Увеличение pH свыше 6,18 приводит к появлению крупных, неустойчивых, полидисперсных частиц (рис.2а).

Увеличение концентрации восстановителя (pH 4,24) смещает равновесие реакции коллоидообразования вправо и способствует образованию более мелких частиц, так как наблюдается высокая степень пересыщения и превалирование скорости образования зародышей над скоростью их роста. При применении 0,005 М хлорида олова наблюдается максимальный выход монодисперсных золотых наночастиц диаметра 5 нм (рис.2б). Напротив, снижение концентрации до 0,00125 М способствует укрупнению частиц до 15 – 30 нм, что может быть объяснено образованием небольшого числа зародышей и более продолжительной стадией роста частиц по сравнению с нуклеацией. Снижение концентрации SnCl_2 до 0,00075 М и ниже вовсе не приводит к коллоидообразованию.

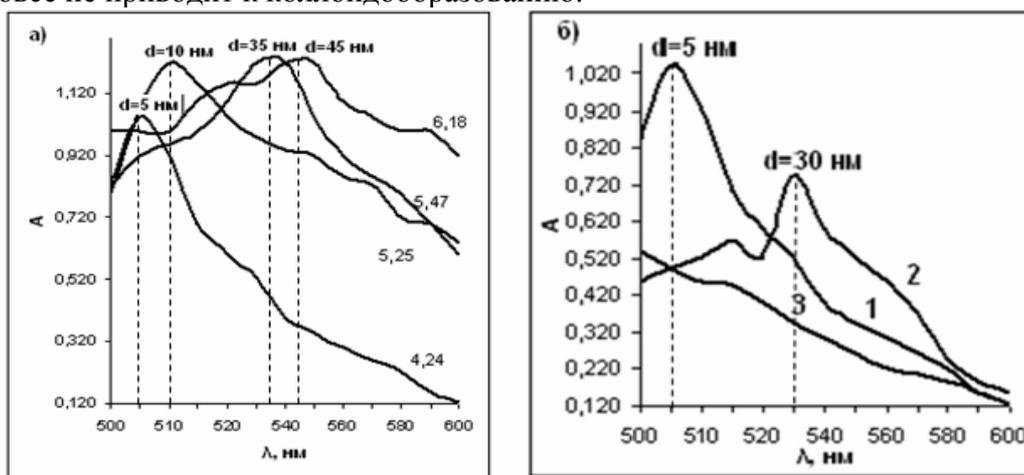


Рис. 2. Влияние pH ($C_{\text{SnCl}_2} = 0.04 \text{ M}$) (а) и концентрации хлорида олова (при pH 4,24) (б) : (C_{SnCl_2} : 1- 0,005 М 2- 0,00125 М, 3- 0,00075 М) на размер и дисперсность частиц коллоидного золота

Укрупнение коллоидных частиц золота может происходить при введении электролитов, которые при невысоких концентрациях повышают агрегативную

устойчивость, а в количествах, близких к порогу коагуляции вызывают седиментацию.

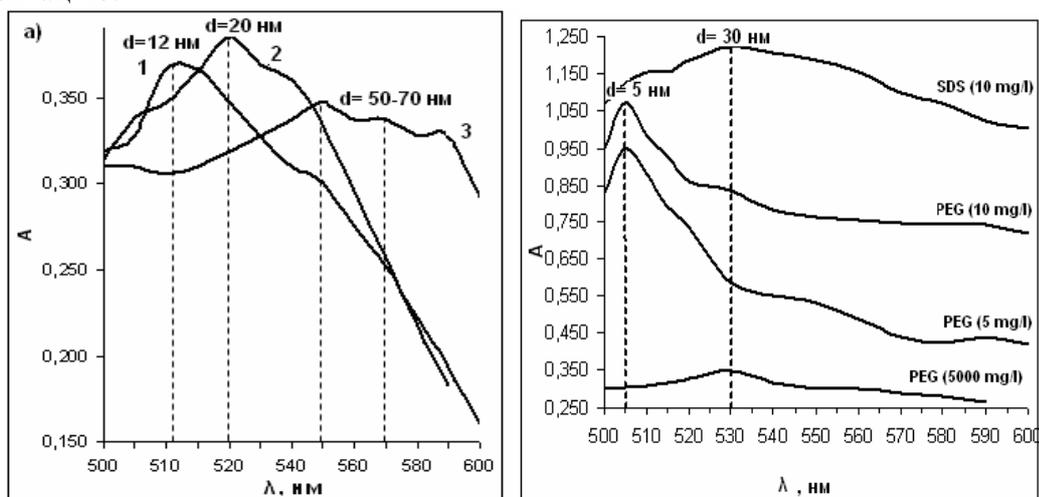


Рис 3. Влияние концентрации хлорида натрия (а): (1 – 0,006 М, 2 – 0,02 М, 3 – 0,6 М) и природы ПАВ (рН 4,24, $C_{\text{SnCl}_2} = 0,005 \text{ М}$) на размер и степень дисперсности золотых наночастиц.

При введении при синтезе до 0,006 М хлорида натрия электростатические силы отталкивания больше молекулярных сил притяжения. Агрегативная устойчивость системы при этом зависит от величины потенциального барьера, препятствующего непосредственному контакту частиц. Повышение заряда коллоидных частиц при введении NaCl происходит вследствие увеличения количества Cl^- -ионов в диффузионном слое мицеллы. Повышение концентрации до 0,6 М увеличивает избыточный отрицательный заряд на поверхности металла, который может компенсироваться положительными ионами Na^+ в близлежащем слое раствора. Возрастание ионной силы растворов способствует снижению броуновской подвижности частиц золя золота, сжатию ДЭС, что приводит к укрупнению агрегированных частиц диаметром 50-70 нм (рис.3б).

Применение аниогенных и неиогенных ПАВ повышает устойчивость коллоидных частиц при добавлении их на стадии синтеза. Эффективность стабилизации системы, включающей цитратный буферный раствор (рН 4,2), 0,03 мМ золотохлористоводородной кислоты и 0,005 М хлорида олова, зависит от гидрофильности и заряда добавляемого ПАВ, способности адсорбироваться на поверхности золота и степени заполнения этой поверхности.

Синтез наносфер в присутствии водных растворов полиэтиленгликоля PEG и додецилсульфата натрия SDS (10 мг/л) способствует повышению устойчивости монодисперсного коллоида золота, препятствуя их слипанию в более крупные агрегаты. Применение SDS приводит к образованию частиц широкого фракционного состава, в то время как PEG, сворачиваясь определенным образом в растворе и на поверхности растущих кристаллов металла, ограничивает их рост и способствует получению частиц диаметром 5 нм (рис.3б) [23, 24]. Поверхностная организация мицеллы таким образом формирует стабильное новое функциональное поверхностное покрытие с уникальной макромолекулярной архитектурой, необходимое для дальнейшего взаимодействия с биомолекулами [23]. Однако чрезмерное увеличение концентрации PEG (свыше 5000 мг/л) затрудняет синтез коллоидных частиц, образуя на поверхности несколько мономолекулярных слоев, что может привести к потере способности к связыванию с биомолекулами.

Таким образом, проведенное исследование позволило обосновать условия синтеза AuNP различного размера с применением в качестве восстановителя хлорид олова (табл. 1).

Таблица 1. Влияние условий синтеза на размер получаемых золотых наночастиц (восстановитель хлорид олова)

Условия синтеза	λ , нм	d, нм	n
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005 М SnCl ₂ , pH 4,24	505	5	17
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005 М SnCl ₂ , pH 6,18	540-550	40-50	139 – 174
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,00075М SnCl ₂ , pH 4,24	530	30	104
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005 М SnCl ₂ , PEG, pH 4,24	505	5	17
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005М SnCl ₂ , SDS, pH 4,24	530	30	104
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005М SnCl ₂ , 0,006 М NaCl, pH 4,24	512	12	42
0,03 мМ HAuCl ₄ , 0,005М SnCl ₂ , 0,6 М NaCl, pH 4,24	550-570	50-70	174 - 243

Синтезированные по разработанным методикам золотые наночастицы узкодисперсной фракции могут быть применены при разработке аффинного пьезокварцевого ДНК – сенсоров.

Заключение

Показано, что адсорбция полиэтиленгликоля на поверхности золотых наночастиц повышает их агрегативную устойчивость, а изменение соотношения концентраций золотохлороводородной кислоты и хлорида олова (pH 4,24) позволяет управлять размером AuNP. Для получения частиц диаметром 5 нм в цитратном буферном растворе в присутствии полиэтиленгликоля (10 мг/л) необходимо поддерживать соотношение концентраций HAuCl₄ и SnCl₂ 1 : 6, диаметром 30 нм - 1 : 40. Частицы размером 50 нм и более могут быть получены при введении 0,6 М хлорида натрия и pH 6,18.

Список литературы

1. Jorge Pérez-Just e, Isabel Pastoriza-Santos, Luis M. Liz-Marzán, Paul Mulvaney. Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications// Coordination Chemistry Reviews. 2005. V. 249. P. 1870–1901.
2. Штыков С. Н., Русанова Т. Ю. Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения// Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2008. Т. LII, № 2. С. 92-100.
3. Prashant K. Jain, Xiaohua Huang, Ivan H. El-Sayed and Mostafa A. El-Sayed. Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in

Imaging, Sensing, Biology, and Medicine// *Acc. Chem. Res.* 2008 V. 41. № 12. P. 1578–1586.

4.Zhang Jin Z., Noguez Cecilia. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures// *Plasmonics*. 2009. V. 3:4. P. 127-150.

5.Newman. J. D. S., Roberts J. M., Blanchard G. J.. Optical Organophosphate Sensor Based upon Gold Nanoparticle Functionalized Fumed Silica Ge// *Anal. Chem.* 2007. V.79. № 9. P. 3448–3454.

6.Jena B. K. Raj C. R. Morphology dependent electrocatalytic activity of Au nanoparticles// *Electrochem. Commun.* 2008. V. 10. P. 951-954

7.Raj C.R., Jena B. K. Synthesis of flower-like gold nanoparticles and their electrocatalytic activity towards the oxidation of methanol and the reduction of oxygen// *Langmuir*. 2007. V. 23

8.Kurniawan F., Tsakova V., Mirsky V.M. Gold Nanoparticles in Nonenzymatic Electrochemical Detection of Sugars// *Electroanalysis*. 2006 V. 18 I. 19-20, P. 1937 – 1942.

9.Su S., He Y., Zhang M., Yang K., Song S., Zhang X., Fan C., Lee S.-T. High-sensitivity pesticide detection via silicon nanowires-supported acetylcholinesterase-based electrochemical sensors// *Appl. Phys. Lett.* 2008. V. 93 I. 2.

10. Lin C.A, Yang T.Y, Lee C.H, Huang S.H, Sperling R.A, Zanella M, Li J.K, Shen J.L, Wang H.H, Yeh H.I, Parak W.J, Chang W.H. Synthesis, characterization, and bioconjugation of fluorescent gold nanoclusters toward biological labeling applications// *Nano*. 2009. V. 3(2). P. 395-401.

11. Sung K-M., Mosley D.V., Peelle B.R., Zhang S., Jacobson J. M. Synthesis of Monofunctionalized Gold Nanoparticles by Fmoc Solid-Phase Reactions// *J. Am. Chem. Soc.*, 2004. V.126 (16). P. 5064–5065.

12. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold // *Discuss.Faradae Soc.* 1951. V. 11. P. 55-75.

13. Porter LA Jr, David JJ, Westcott SL, et al. Gold and silver nanoparticles functionalized by the adsorption of dialkyl disulfides. *Langmuir* 1998. V. 14. P.73-78

14. Zhang J. Z., Noguez C. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures// *Plasmonics*. 2008. V. 3 (4). P. 1557-1963.

15. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение. – М.: Наука, 2008. – 319с.

16. Mecea V.M. Is quartz crystal microbalance really a mass sensor? // *Sens. Actuators*. 2006. V.128. P. 270–277.

17. Дыкман Л.А., Богатырев В.А. Наночастицы золота: получение, функционализация, использование в биохимии и иммунохимии. // *Успехи химии*. 2007. Т. 76. № 2. С. 199-213.

18. Сведберг Т. Образование коллоидов. -Л.: Науч. хим.-техн. изд-во. 1927. -111 с.

19. Mirkin Ch. Programming the assembly of two- and three-dimensional architectures with DNA and nanoscale inorganic building blocks // *Inorg. Chem.* 2000. V. 39. P. 2258-2272.

20. Shaw D. J., Introduction to Colloid and Surface Chemistry (4th. ed.), Butterworth-Heinemann, Oxford 1991.

21. Chen B. X., Narayanan R. and El-Sayed M. A., The chemistry and properties of nanocrystals of different shapes // *Chem. Rev.* 2005. V.105. P. 1025.

22. Tarozaitq R., Juškėnas R., Kurtinaitienė M., Jagminiienė A., Vaškėlis A. Gold colloids obtained by Au (III) reduction with Sn (II): preparation and characterization // *Chemija*. 2006. V. 17. № 2-3. P. 1-6

23. Wang C.-H. et al. Optimizing the size and surface properties of polyethylene glycol (PEG)–gold nanoparticles by intense x-ray irradiation// J. Phys. D: Appl. Phys. 2008. V. 41.
24. Kimura K., Yao H., Sato S. Self-assembling of gold and silver nanoparticles at a hydrophilic/hydrophobic interface: a synthetic aspect and superstructure formation // Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry. 2006. V. 36. P. 237-264.
-

Шашканова Ольга Юрьевна – аспирант кафедры химии Липецкий государственный технический университет, кафедра химии, Липецк

Ермолаева Татьяна Николаевна - д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии, Липецкий государственный технический университет, Липецк

Shashkanova Olga Yu. – Post-graduate Chemistry Department, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Ermolaeva Tatyana N. – D.Sc (Chemistry), Professor, Head of the Chemistry Department, Russia, Lipetsk State Technical University, Chemistry Department, Lipetsk, e-mail: ermolaeva@stu.lipetsk.ru



УДК 577.3

Новый метод диагностики аутоиммунных заболеваний, основанный на аффинной реакции на поверхности пьезокварцевого сенсора. 2. Исследование сорбции тиосоединений на золотых наночастицах и образования конъюгатов с анти-ДНК

Шашканова О.Ю., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 17.07.2009 г.

Аннотация

Изучена функционализация поверхности золотых наночастиц различного размера меркаптопроизводными - ангидридом s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты, 2-меркаптоэтиламино (цистамином), меркаптопроионовой кислотой и 11- меркаптоундеканолом и условия образования конъюгатов с антителами к ДНК. Оценена аффинность анти-ДНК к золотым наночастицам с хемосорбированными тиосоединениями и рассчитаны константы. Показано, что хемосорбция цистамина и 11-меркаптоундеканола на частицах диаметром 5 нм способствует формированию максимального плотного слоя, обеспечивающего образование прочных комплексов с антителами к ДНК.

Ключевые слова: золотые наночастицы, хемосорбция тиосоединений, цистамин, 11-меркаптоундеканол, конъюгаты с анти-ДНК, константа аффинности.

Functionalisation of surfaces gold nanoparticles of the different size by means of mercapto-substance (anhydride of s- acetylmercaptosuccinic acid, 2-mercaptoethylamine (cystamine), mercaptopropionic acid and 11-mercaptoundecanol) and formation condition of conjugate with antibodies to DNA are studied. Affinity anti-DNA to gold nanoparticles with chemisorbed thiosubstance is estimated and constants are calculated. Show, that chemisorption of cystamine and 11-mercaptoundecanol form on the particles of diameter 5 nm the maximally compact layer, which provides formation strong complexes with antibodies to DNA.

Key words: gold nanoparticle, dispersion, adsorption, surface activesubstances, thiocompound, spectrophotometry

Введение

К методикам анализа, предназначенным для ранней клинической диагностики, предъявляются жесткие требования по чувствительности, экспрессности и селективности. Известные в настоящее время методики определения антител к ДНК (Ат к ДНК) – биомаркеров аутоиммунных заболеваний, не обеспечивают выявление патологии в самом начале ее возникновения.

Пределы обнаружения биомаркеров гравиметрическими аффинными пьезокварцевыми сенсорами [1 - 3] можно снизить путем усиления аналитического сигнала. Поскольку аналитический сигнал пьезокварцевого сенсора пропорционален приращенной массе, в ходе проведения анализа возможно «утяжеление» присоединенных молекул с помощью наночастиц металлов и полимеров. Снижение предела обнаружения антител к ДНК можно ожидать в двухстадийном анализе, на первом этапе которого протекает аффинная реакция между ДНК, закрепленной на поверхности сенсора, и антителами пробы, а на втором – взаимодействие с образующимся аффинным комплексом золотых наночастиц (AuNP).

При реализации такого подхода необходимо обеспечить образование достаточно прочного конъюгата белковых молекул антител с AuNP. Повышение устойчивости конъюгата достигается предварительной функционализацией поверхности золотых наночастиц. При выборе модифицирующих соединений также необходимо учитывать:

возможную денатурацию белков при введении в систему избыточного количества модификатора;

пространственное строение образующихся между белковыми молекулами и золотыми наночастицами линкерных мостиков;

Априори можно прогнозировать формирование устойчивых белковых конъюгатов с золотыми наночастицами через линкеры на основе тиосоединений, обеспечивающих прочные координационные связи с золотой поверхностью [4].

Поэтому целью настоящего исследования являлось изучение условий тиолирования золотых наночастиц, установление аффинности золотых наночастиц к анти-ДНК.

Эксперимент

В работе применялись золотые наночастицы диаметром 5, 30 и 50 нм, синтезированные по методике, описанной в [5]; тиосоединения: 2-меркаптоэтиламин (цистамин) – (Cys); меркаптопроионовая кислота (МРА) и 11-меркаптоундеканол (11-MUD), (Sigma), ангидрид s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты (AcMSA), (Serva). Растворы тиосоединений в 30%-ном водно-спиртовом растворе готовили по точной навеске.

Тиолирование золотых наночастиц проводилось при различном соотношении тиолирующих реагентов и золотых наночастиц (0,5 : 1; 1,5 : 1 и 2 : 1), рассчитанном согласно [6-8]. Процесс тиолирования AuNP контролировали спектрофотометрически (спектрофотометр СФ – 46) и методом пьезокварцевого микровзвешивания. В качестве физического преобразователя использовали резонаторы АТ – среза с золотыми электродами с собственной частотой колебаний 10 МГц (ЗАО «ЭТНА», Россия).

Иммобилизацию тиолированных золотых наночастиц (AuNPSH) проводили при нанесении фиксированного объема раствора тиолированного коллоидного золота на поверхность электрода и инкубировании в течение 10-12 ч при температуре 4 °С. Максимальное изменение частоты колебания (Δf) регистрировали при образовании на поверхности комплекса анти-ДНК с золотыми наночастицами при пропускании раствора Ат к ДНК через ячейку с пьезокварцевым сенсором. Для регенерации биорецепторного слоя применяли бидистиллированную воду, при этом сигнал сенсора возвращался к базовому значению.

Константу аффинности $K_{АФ}$ анти-ДНК к тиолированным наночастиц определяли по методике Скэтчарда, описанной в [9], как отношение констант скоростей прямой и обратной реакции.

Результаты и обсуждения

При взаимодействии золотых наночастиц с цистамином, меркаптопропионовой кислотой, 11-меркаптоундеканолом и ангидридом s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты происходит образование сульфидных связей с поверхностью металла и формирование мостиков различной длины и пространственного строения, отличающихся природой концевых функциональных групп.

Хемосорбции цистамина на поверхности AuNP предшествует разрыв дисульфидной связи и присоединение двух частей молекулы с образованием коротких линкерных структур с активными NH_2 -группами на конце (рис. 1а). МРА сорбируется на золотой поверхности за счет сульфидной связи, образуя углеводородную цепочку с концевой $COOH$ – группой (рис. 1б), обуславливающей возникновение водородных связей с молекулами воды и с соединениями с карбоксильными группами, что приводит к частичной дезактивации активных центров. Присутствие гетерогенного пятичленного цикла с двумя карбонильными группами в молекуле ангидрида s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты (рис. 1в) оказывает стерические затруднения при взаимодействии с коллоидными частицами, приводящие к снижению плотности хемосорбированных поверхностных групп, и так же склонных образовывать водородные связи с молекулами воды и друг с другом.

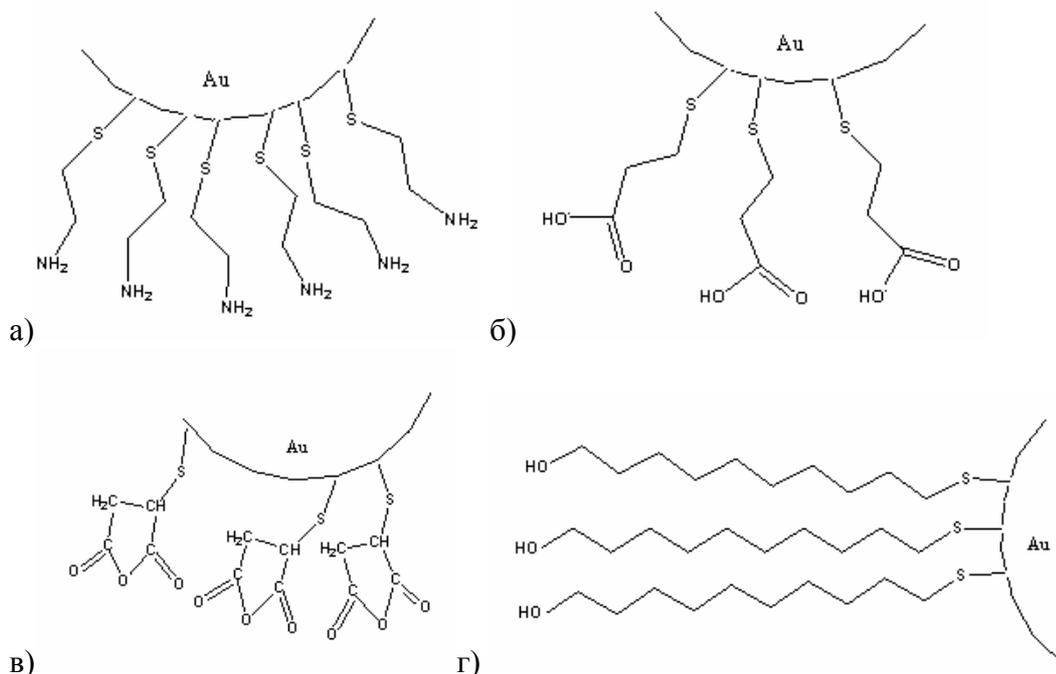


Рис. 1. Схема тиолирования поверхности золотых наночастиц:
а - цистамином, б – меркаптопропионовой кислоты,
в – ангидридом s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты, г – меркаптоундеканолом

При сорбции 11 – меркаптоундеканола образуется достаточно гибкий протяженный линейный мостик из (CH₂-) - группировок с концевой гидроксильной группой, доступной для взаимодействия с молекулами антител (рис. 1г).

На спектрах поглощения AuNPSH наблюдается смещение максимума светопоглощения (A_{\max}) на 5-10 нм по сравнению с немодифицированными частицами (рис. 2), положение которого зависят от природы применяемого тиосоединения - наличие функциональных групп и электростатических взаимодействий, а также передачи электронов от молекул лиганда к золоту [10-13]. Минимальное смещение A_{\max} отмечается для частиц, модифицированных меркаптопропионой кислотой, что свидетельствует об изменении внешней сольватной оболочки при взаимодействии не только с водой, но и с соседними наночастицами, и существенной дезактивации концевых групп.

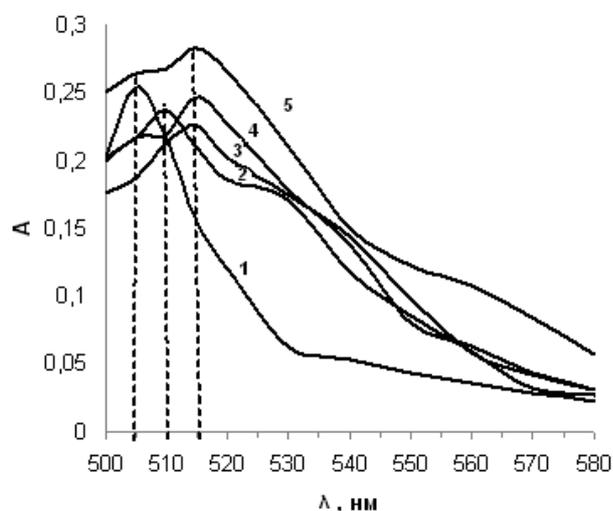


Рис. 2. Спектры светопоглощения золотых наночастиц (1) и тиолированных с помощью меркаптопропионой кислоты (2), ангидрида s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты (3), 11- меркаптоундеканола (4) и цистамина (5). Соотношение S/Au = 2

В остальных случаях A_{\max} смещается примерно на одну величину, однако для AuNPSH, модифицированных цистамином, наблюдается максимальное значение оптической плотности, свидетельствующее о высокой плотности присоединенных функциональных групп.

Эффективность взаимодействия A_t к ДНК с золотыми наночастицами так же оценивали методом пьезокварцевого микровзвешивания при пропускании раствора биомолекул над поверхностью сенсора с закрепленными на ней AuNP (рис. 3).

Максимальное значение Δf зарегистрировано для сенсора с частицами, тиолированными цистамином, что свидетельствует о хемосорбции оптимального количества конформационно доступных для взаимодействия с антителами линкеров с концевыми NH₂ – группами. Аналитический сигнал при применении частиц, модифицированных 11–меркаптоундеканолом несколько ниже, что связано с уменьшением доли поверхностных функциональных групп по сравнению с цистамином, при одинаковой концентрации тиосоединений, применяемых при функционализации. Однако длинные линкерные мостики 11-MUD повышают доступность терминальных OH – групп для взаимодействия с молекулами антител и Δf снижается лишь на 11 Гц. Для сенсоров с наночастицами, тиолированными МРА и AcMSA, Δf в 2-3 раза ниже по сравнению с цистамином, что объясняется как строением (рис. 1), так и частичной дезактивацией групп.

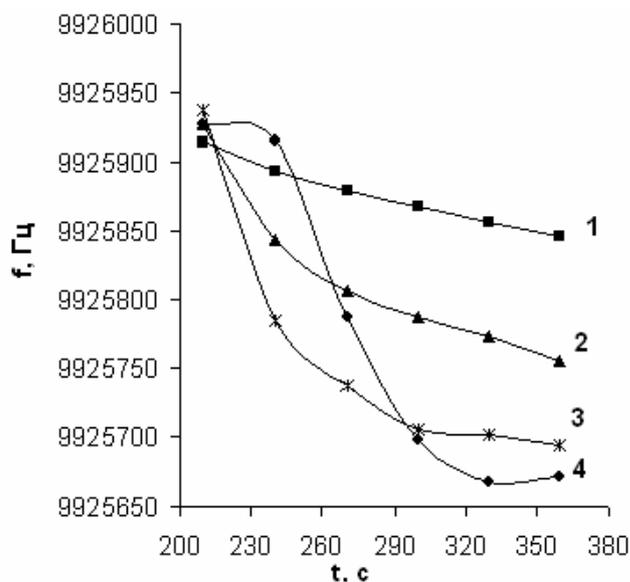


Рис.3. Влияние природы тиолирующего реагента на аналитический сигнал (d_{AuNP} 30 нм). Тиолирующие реагенты: 1 - ангидрид s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты, 2 - меркаптопроионовая кислота 3 - 11- меркаптоундеканол и 4 - цистамин

На величину аналитического сигнала влияет не только природа тиолирующего агента, но и соотношение концентраций реактивов (тиосоединения/золотые наночастицы – S/Au). При применении двукратного избытка тиосоединения по отношению к частицам коллоидного золота образуется максимальное количество функциональных групп на поверхности частиц. В то же время уменьшение концентрации тиореагента ($S/Au < 2$) приводит к снижению плотности поверхностных функциональных групп, о чем свидетельствуют невысокие значения Δf . Увеличение же соотношения $S/Au > 2$ способствует формированию полимолекулярных слоев тиолирующих агентов, утяжеляющих частицы, что вызывает срыв колебаний сенсора уже на стадии иммобилизации. (рис. 4).

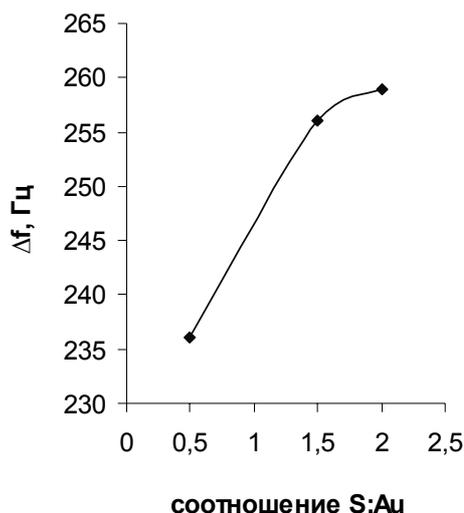


Рис 4. Влияние соотношения концентраций реагентов S/Au на аналитический сигнал сенсора (d частиц 30 нм, тиолирующий агент – цистамин; $C_{Au} = 3,08$ мкг/мл, конц. $HAuCl_4$ 0,3 мМ)

Аналитический сигнал сенсора также связан с размером применяемых наночастиц. Максимальное значение Δf отмечается для частиц диаметром 5 нм (рис. 5) с более высокой долей поверхностных активных центров для связывания с тиогруппами и биомолекулами. Поэтому Δf сенсора с иммобилизованными частицами диаметром 5 нм выше (341 Гц), чем для частиц 50 нм (174 Гц).

Константу аффинности K_{AF} AuNPSH к анти – ДНК определяли по результатам кинетических исследований [8] (рис. 6). Угловой коэффициент функциональной зависимости скорости реакции от частоты колебания сенсора и отрезок, отсекаемый на оси ординат, позволили рассчитать константы скорости образования k_o и разрушения k_p комплекса AuNP с Ат к ДНК и константу K_{AF} (рис.7).

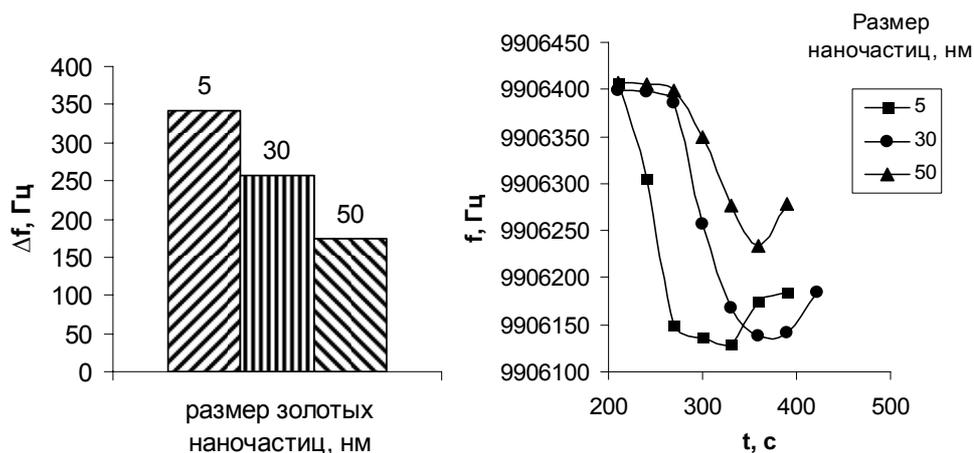


Рис 5. Влияние размера наночастиц, тиолированных с помощью цистамина на величину аналитического сигнала сенсора (соотношение S/Au =2)

Таблица 1. Сравнение кинетических и равновесных характеристик при взаимодействии анти – ДНК с тиолированными золотыми наночастицами

Тиолирующие реагенты	k_o , ($M^{-1} \times c^{-1}$)	$k_p \cdot 10^3$, (c^{-1})	$K_{AF} \cdot 10^{-5}$ ($mol^{-1} \cdot l$)
2-меркаптоэтиламин (цистамин)	13597	83,6	1,626
Ангидрид s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты	625	3,82	1,637
Меркаптопропионовая кислота	5136	31,6	1,626
11-меркаптоундеканол	6953	42,8	1,625

Высокое значение k_o для частиц, тиолированных цистамином, может быть объяснено лучшей конформационной доступностью поверхностных NH_2 – групп для связи с антителами. Напротив, присутствие объемной ангидридной группировки в молекуле AcMSA замедляет процессы, как образования, так и разрушения комплекса и увеличивает продолжительность его образования. Регенерацию рецепторного слоя в этом случае необходимо проводить в более жестких условиях

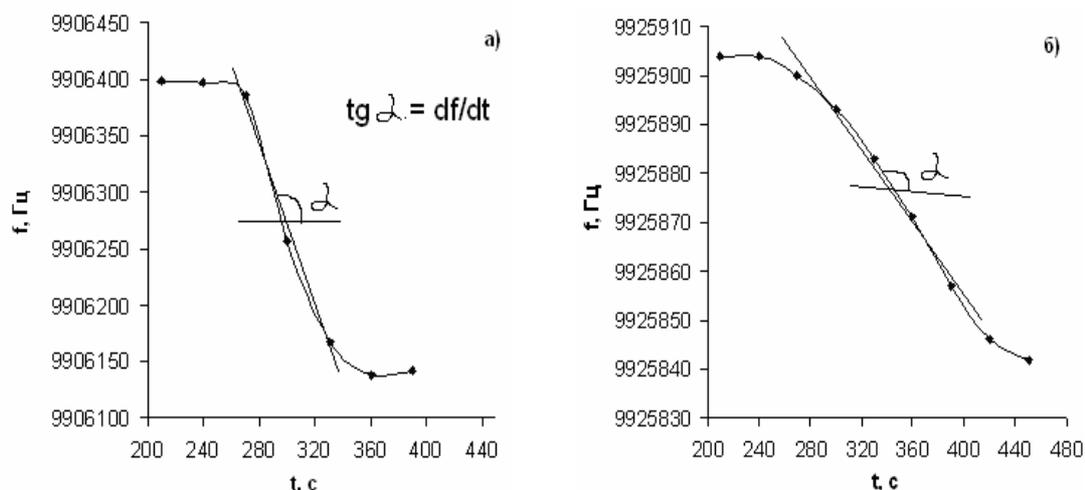


Рис 6. Кинетическая зависимость аналитического сигнала сенсора при связывании антител к ДНК (3,08 мкг/мл) с золотыми наночастицами, тиолированными а) цистамином б) ангидридом s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты

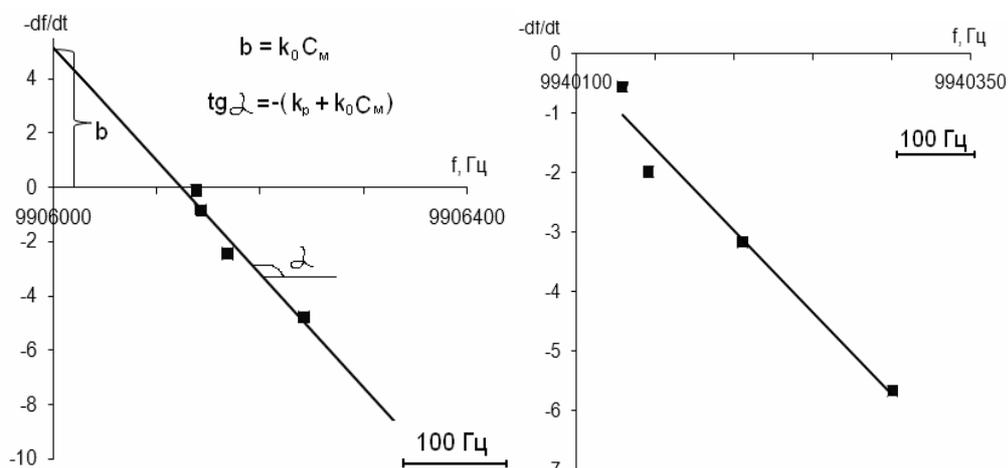


Рис 7. Графическое определение констант скорости образования и разрушения комплекса антител к ДНК с золотыми наночастицами, тиолированных с помощью а) с помощью цистамина б) ангидрида s-ацетилмеркаптоянтарной кислоты

Изучение процессов образования AuNPSH позволило обосновать выбор как функционализирующего реагента, так и условий конъюгации тиолированных золотых наночастиц с анти-ДНК. При применении цистамина и 11-меркаптоундеканола наблюдаются максимальные значения Δf и следовательно они могут быть рекомендованы для определения антител к ДНК с помощью пьезокварцевого аффинного сенсора.

Заключение

Показано, что золотые наночастицы диаметром 5 нм, тиолированные цистамином и 11-меркаптоундеканолам, способствует получению более высоких

значений аналитического сигнала и могут быть рекомендованы для использования в пьезокварцевых аффинных ДНК-сенсорах.

Список литературы

1. Fakhrullin RF, Vinter VG, Zamaleeva AI, Matveeva MV, Kourbanov RA, Temesgen BK, Ishmuchametova DG, Abramova ZI, Konovalova OA, Salakhov MK. Quartz crystal microbalance immunosensor for the detection of antibodies to double-stranded DNA. // *Anal Bioanal Chem.* 2007. 388 (2) P. 367-375.
2. Шашканова О.Ю., Калмыкова Е.Н., Ермолаева Т.Н. Пьезокварцевый иммуносенсор для диагностики аутоиммунных заболеваний. // XVII Российская молодежная научная конференция "Проблемы теоретической и экспериментальной химии" (17-20 апреля 2007, Екатеринбург). С.16.
3. Шашканова О.Ю., Калмыкова Е.Н., Ермолаева Т.Н. Пьезокварцевый иммуносенсор для диагностики аутоиммунных и инфекционных заболеваний // VII Всерос. конф. по электрохим. методам анализа с межд. участием "ЭМА - 2008" (1-6 июня 2008, Уфа - Абзаково). С.127.
4. Zhang Jin Z., Noguez Cecilia. Plasmonic optical properties and applications of metal nanostructures // *Plasmonics.* 2009. V. 3:4. P. 127-150.
5. Шашканова О.Ю., Ермолаева Т.Н. Применение золотых наночастиц для повышения аналитического сигнала пьезокварцевого ДНК – сенсора. I. Синтез и стабилизация золотых наночастиц в водных растворах // Сорбц. и хроматограф. процессы [в редакции].
6. Kimura K., Yao H., Sato S. Self-assembling of gold and silver nanoparticles at a hydrophilic/hydrophobic interface: a synthetic aspect and superstructure formation // *Synthesis and reactivity in inorganic, metal-organic and nano-metal chemistry.* 2006. V. 36. P. 237-264.
7. Mikhlin Yu., Likhatski M., Yaroslavtseva I. and Borisova Z. A study of the immobilized products of tetrachloraurate reduction by sulphide ions // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry* 2. 2008. V. 1. P. 142-150.
8. Love J. C., Estroff L. A., Kriebel J. K., Nuzzo R. G., Whitesides G. M. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology // *Chemical Reviews.* 2005. V. 105(4). P. 1103-1169.
9. Калмыкова Е.Н., Дергунова Е.С., Ермолаева Т.Н. Кинетические исследования аффинного взаимодействия и их применение при разработке пьезокварцевых иммуносенсоров // Сорбц. и хроматограф. процессы. 2004. Т.4. Вып. 5. С. 597-605.
10. Philp D., Stoddart J.F. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 1996. V. 35. P. 1154.
11. Decher G., Sauvage J.P., Layered nanoarchitectures via directed assembly of
12. anionic and cationic molecule // Hosseini M.W. In *comprehensive supramolecular chemistry.* Elsevier science: Oxford. 1996. V. 9. P. 507-528.
13. Fredericks J.R., Hamilton M.W. Elsevier science: Oxford. 1996. V.9. P. 565-594.
14. Taranekar P., Huang C., Fulghum T.M., Baba A., Jiang G., Park J.-Y., Advincula R. C. Nanocomposite films of a polyfluorene copolymer and carbazole–thiol-capped gold nanoparticles: electrochemical crosslinking and energy-transfer properties // *Adv. Funct. Mater.* 2008. V. 18. P. 347–354.

Шашканова Ольга Юрьевна – аспирант кафедры химии Липецкий государственный технический университет, кафедра химии, Липецк

Ермолаева Татьяна Николаевна - д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии, Липецкий государственный технический университет, Липецк

Shashkanova Olga Yu. – Post-graduate Chemistry Department, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Ermolaeva Tatyana N. – D.Sc (Chemistry), Professor, Head of the Chemistry Department, Russia, Lipetsk State Technical University, Chemistry Department, Lipetsk, e-mail: ermolaeva@stu.lipetsk.ru



УДК 543.38:543.9

Иммунохимические реакции, протекающие на поверхности пьезокварцевого сенсора, при определении стрептомицина в пищевых продуктах

Воронежцева О.В., Нартова Ю.В., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Еремин С.А.

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

Поступила в редакцию 17.07.2009 г.

Аннотация

Изучены иммунохимические реакции, протекающие на поверхности пьезокварцевого сенсора, предназначенного для определения стрептомицина. Методом пьезокварцевого микровзвешивания и атомно-силовой микроскопии исследована ковалентная иммобилизация гаптен-белкового конъюгата на силанизированную поверхность электрода сенсора. Оценена аффинность и рассчитаны коэффициенты перекрестного реагирования поликлональных антител с соединениями родственной структуры. Разработана методика определения следовых концентраций стрептомицина в курином мясе с применением пьезокварцевого аффинного сенсора. Предел обнаружения составляет 0,6 нг/мл, диапазон определяемых содержаний 1 - 50 нг/мл.

Ключевые слова: аффинный пьезокварцевый сенсор, стрептомицин, поверхностная иммунохимическая реакция, иммуноаффинное рецепторное покрытие, атомно-силовая микроскопия, анализ пищевых продуктов.

Immunochemical reactions were estimated by quartz crystal, the streptomycin intended for definition. Bioreceptor coating based on hapten-protein conjugates was formed on the silanize surface of the sensor electrodes and investigated by method microbalance and atomic force microscopy. Polyclonal antibodies affinity was estimated. Coefficients of cross-reaction with structurally related compounds are counted. The methodic of detection of residual quantities of streptomycin in chicken meat by affine quartz crystal microbalance is developed. The limit detection of streptomycin is 0,6 ng·ml⁻¹, a linear range from 1-50 ng·ml⁻¹.

Key words: affine piezoquartz sensor, streptomycin, surface immunochemical reactions, immunoaffine receptor coating, atomic force microscopy, analysis of food

Введение

Стрептомицин - антибиотик, использующийся не только в ветеринарной, но и клинической практике для лечения людей. Поэтому крайне нежелательно попадание антибиотика в организм человека с пищевыми продуктами. Уровень

стрептомицина в животноводческой продукции строго нормируется и не должен превышать 500 мкг/кг в мясе и печени, 1000 мкг/кг в почках, 200 мкг/л в молоке [1]. В Германии также нормируется содержание стрептомицина в меде - 20 мкг/кг [2]. Еще более низкие значения ПДК установлены для детского питания.

Для определения аминогликозидных антибиотиков рекомендуются методы высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии, капиллярный электрофорез, позволяющие проводить детектирование токсикантов на уровне 0,01 мкг/мл (10 мкг/кг) [2 - 6]. Однако такие методы требуют многостадийной пробоподготовки, дорогостоящего оборудования, что затрудняет их использование для серийных анализов. Поэтому систематический анализ пищевых продуктов на содержание антибиотиков в настоящее время в нашей стране практически не проводится. Следовательно, актуальной задачей является разработка новых, селективных и чувствительных способов определения стрептомицина в пищевой продукции. Такая задача может быть решена с применением пьезокварцевого аффинного сенсора.

Цель настоящего исследования - изучение закономерностей иммунохимического взаимодействия, протекающих на поверхности пьезокварцевого сенсора и обеспечивающих специфическое детектирование следовых концентраций стрептомицина, исследование процесса формирования иммуноаффинного слоя сенсора, разработка методики определения следовых концентраций антибиотика в пищевых продуктах.

Эксперимент

Реактивы: хлорид натрия, калия; дигидрофосфат, гидрофосфат, роданид калия; сульфат аммония, ацетон (х.ч., Россия); этиловый спирт (ч.д.а., Россия); диметилформамид; хлороформ; ацетонитрил (о.с.ч., "Quimica", Испания); стрептомицин; стрептомицин - белковый конъюгат (STP-cc-BSA) полученный сшивкой стрептомицина с бычьим сывороточным альбумином (BSA); поликлональные антитела к стрептомицину (An-STP и An-STP-BSA), любезно предоставлены профессором Р. Абулкнешей (Королевский университет, Великобритания).

Для приготовления фосфатного буферного физиологического раствора (pH = 7.2) растворяли 8.0145 г NaCl, 0.2012 г KCl, 2.864 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0.204 г KH_2PO_4 в 1 л бидистиллированной воды.

Для формирования подложки сенсора применяли γ -аминопропилтриэтоксисилан - APTS ("Reanal", Венгрия); в качестве кросс-реактанта - глутаровый альдегид - GA ("Reanal", Венгрия).

Физическим преобразователем служил резонатор АТ - срез с собственной частотой колебаний 10 МГц с электродами диаметром 10 мм, полученными термическим напылением золота на шлифованную кварцевую пластинку (ЗАО «ЭТНА», Россия). Аналитический сигнал аффинного пьезокварцевого сенсора (Δf) измеряли на установке, описанной ранее [7]. Для отделения денатурированных белков использовали настольную центрифугу ЦЛН-2 (КиргизИНТИ, Киргистан).

Для оценки морфологии поверхности применяли атомно-силовой микроскоп Solver PRO-M (ЗАО «Нанотехнология-МДТ», Россия). Исследования проводили в полуконтактном режиме на сухих образцах.

Подготовка проб куриного мяса. Мясо предварительно гомогенизировали, а затем экстрагировали антибиотик следующими способами:

Способ 1. К 2,5 г пробы добавляли 10,0 мл ацетонитрила, перемешивали, охлаждали и центрифугировали 2 мин (7000 об/мин). Супернатант отделяли, выпаривали и полученный остаток растворяли в 980 мкл фосфатного буферного раствора;

Способ 2. 10,0 г пробы, смачивали 20 мл воды и тщательно перемешивали. Добавляли 100 мл ацетонитрила, 0,5 мл ледяной уксусной кислоты и встряхивали в течение 1 часа на вибросмесителе, фильтровали под вакуумом. Экстракт очищали, используя 50 мл смеси гексана и дихлорэтана (3 : 2). Среднюю часть выпаривали и полученный остаток растворяли в 980 мкл фосфатного буферного раствора;

Способ 3. К 10,0 г пробы добавляли 20 мл дистиллированной воды. Перемешивали в течение 10 мин. Для повышения полноты экстрагирования добавляли ацетон в соотношении 1:1 и встряхивали в течение 10 мин, центрифугировали в течение 10 мин (3000 об/мин), супернатант отделяли, выпаривали и полученный остаток растворяли в 980 мкл фосфатного буферного раствора;

Способ 4. К 10,0 г пробы добавляли 50 мл бидистиллированной воды и 10 мл насыщенного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, для отделения белковых компонентов, перемешивали, охлаждали и центрифугировали 8 мин (7000 об/мин). Надосадочную жидкость использовали для анализа.

Обсуждение результатов

Изучение закономерностей иммунохимической реакции на поверхности аффинного пьезокварцевого сенсора. Для определения следовых концентраций стрептомицина применяли конкурентный формат анализа, при осуществлении которого на поверхности электродов сенсора иммобилизовали конъюгат BSA со стрептомицином, а в пробу, содержащую аналит, вводили заранее установленное количество антител, соответствующее 50 % - ному связыванию. Для разработки методики определения стрептомицина было необходимо:

изучить условия формирования иммуноаффинного слоя на поверхности электрода сенсора, предназначенного для детектирования низких концентраций антибиотика;

определить аффинность антител к определяемому соединению;

оценить перекрестное реагирование поликлональных антител к стрептомицину с другим ветеринарным антибиотикам.

Известно, что многослойное покрытие, полученное предварительной силанизацией поверхности электрода сенсора, активацией бифункциональным реагентом и ковалентным закреплением гаптен-белкового конъюгата, характеризуется повышенной устойчивостью при эксплуатации в жидких средах и высокой поверхностной концентрацией активных сайтов распознавания [8]. Свойства иммуноаффинного слоя существенно зависят от природы и строения иммобилизованного конъюгата, послыонного увеличения массы и степени шероховатости поверхности. Процесс формирования покрытия сенсора контролировали методом пьезокварцевого микровзвешивания (рис. 1) и атомно-силовой микроскопии (рис.2). Поверхность золотого электрода, полученного методом магнетронного напыления, характеризуется довольно высокой степенью шероховатости (R_a), которая может негативно влиять на доступность активных центров распознавания, поскольку нахождение таких центров на нижнем уровне

неоднородной поверхности практически исключает возможность их связывания с объемными белковыми молекулами антител (рис. 2а).

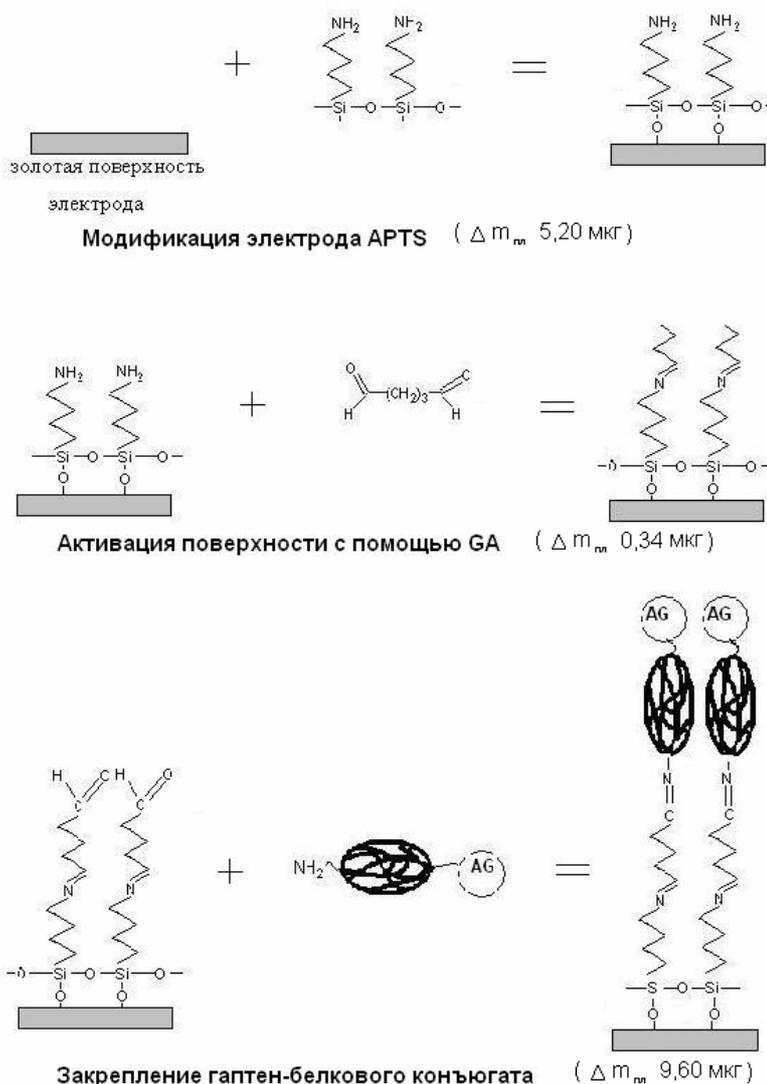


Рис. 1. Формирование рецепторного слоя ($\Delta m_{пл}$ - поэтапное увеличение массы слоя)

Поэтому основной задачей силанизации с помощью APTS является выравнивание поверхности и получение прочно связанной с металлическим электродом за счет гидроксильных групп подложки с активными терминальных NH_2 - группами, обеспечивающими прочные связи с кросс-реагентом. Было установлено, что нанесение 5%-го раствора γ -аминопропилтриэтоксисилана (расход реагента 2 мкл/см²) приводит к максимальному сглаживанию поверхностного слоя ($R_a=45$) и уменьшению разницы между «верхним» и «нижним» уровнями неоднородности поверхности (Δh) (рис. 2б). При применении на этой стадии больших объемов и концентраций APTS происходит существенное увеличение присоединенной массы ($\Delta m_{пл}$), которое сужает диапазон определяемых содержаний или даже приводит к перегрузке сенсора и срыву аналитического сигнала.

Применение в качестве бифункционального реагента глутарового альдегида, способствует образованию гибкого линкерного мостика между силанизированной поверхностью и присоединяемой биомолекулой. При активации GA наблюдается

незначительное увеличение массы рецепторного слоя (0,34 мкг), но возрастает шероховатость поверхности ($R_a=83$) (рис. 2в), что может быть связано с закреплением GA на возвышенностях силикоанового покрытия.

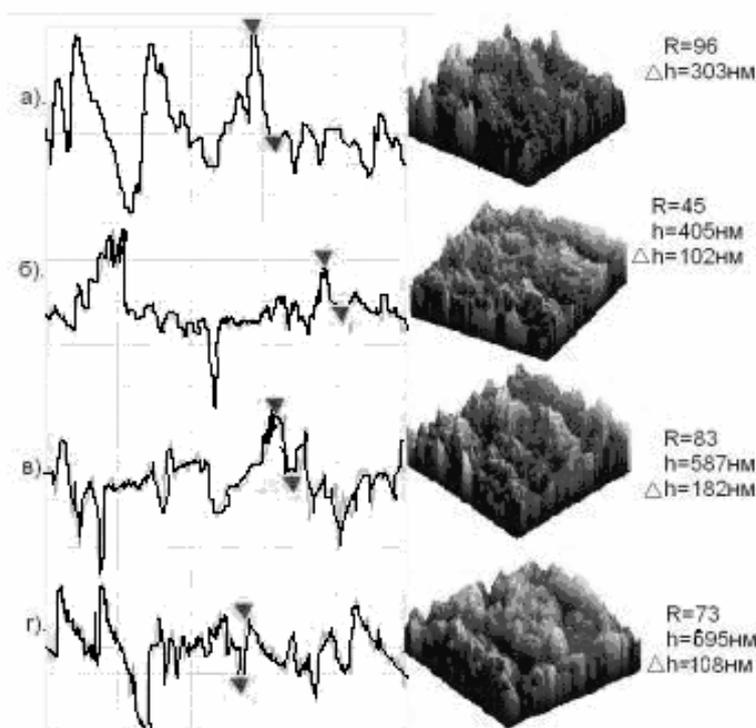


Рис. 2. Послойное изменение морфологии поверхности покрытия пьезокварцевого иммуносенсора

Максимальное увеличение массы иммуноаффинного слоя наблюдается на стадии закрепления гаптен-белкового конъюгата. Существенные перепады «низменностей» и «возвышенностей» на поверхности сенсора способствуют присоединению конъюгата преимущественно на выступающих точках поверхности, а большой объем биомолекул приводит к частичному перекрыванию нижних уровней, поэтому степень шероховатости снижается ($R = 73$) (рис. 2г). Таким образом, образуется покрытие с хорошей пространственной доступностью активных центров, имеющее небольшую массу (15,50 мкг) и высокую гидролитическую устойчивость.

Предварительно полученная зависимость аналитического сигнала сенсора от концентрации специфических антител (рис. 3) позволила установить рабочую концентрацию, соответствующую 50 %-ному связыванию и позволяющую достичь оптимального соотношения активных центров на поверхности сенсора и количества молекул антител, не связавшихся в гомогенный аффинный комплекс со стрептомицином. Использование концентрации антител за пределами линейной зависимости, приводит к искажению сигнала сенсора из-за неспецифического связывания в области малых концентраций и нарушения линейной зависимости Δf от изменения массы в области больших концентраций.

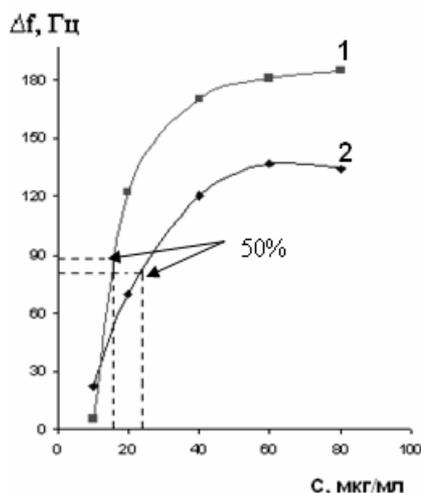


Рис. 3. Выбор оптимальной концентрации антител
1 – (An-STP-BSA) и 2 – (An-STP) к стрептомицину

Концентрация, соответствующая 50 % связыванию для антител An-STP-BSA и An-STP, составляет 17 и 23 мкг/мл соответственно.

Возможность использования антител для молекулярного распознавания оценивалась по константе аффинности ($K_{Аф}$), характеризующей сродство и специфичность иммунореагентов, рассчитанной по методике Скэтчарда как отношение констант скоростей образования (k_o) и разрушения (k_p) гетерогенного иммунокомплекса (табл. 1). Для всех исследованных иммунореагентов значение константы k_o ($\approx 10^5$) свидетельствует о практически мгновенном связывании в аффинный комплекс, а достаточно низкая величина k_p ($\approx 10^{-5}$) указывает на прочность поверхностного комплекса, что создает дополнительные трудности при его разрушении на стадии регенерации.

Таблица 1. Константы скорости прямой и обратной иммунохимической реакции и $K_{Аф}$ антител к стрептомицину

антитела	$k_o \cdot 10^{-5}$, моль ⁻¹ ·л с ⁻¹	$k_p \cdot 10^5$, с ⁻¹	$K_{Аф} \cdot 10^{-10}$, М ⁻¹
Anti-STP	2,55	1,31	1,95
An-STP-BSA	1,30	1,20	1,08

Константы аффинности изученных антител свидетельствуют о высоком сродстве к стрептомицину и могут быть применены для определения следовых концентраций антибиотика.

Для оценки селективности определения стрептомицина были рассчитаны коэффициенты перекрестного реагирования (ПР%) поликлональных антител с антибиотиками родственного строения (в структуру которых входят молекулы аминсахаров) и назначения, а также другими соединениями, присутствующими в фармацевтических препаратах на основе стрептомицина (табл. 2):

$$ПР\% = 100 \times C_{анал.} / C_{инд. соед.}$$

где $C_{инд.соед.}$, $C_{анал}$ – концентрация определяемого и мешающего соединения соответственно.

Таблица 2. Коэффициенты перекрестного реагирования (ПР%) поликлональных антител An-STP-BSA к стрептомицину

Аналит	ПР, %	Аналит	ПР, %
Стрептомицин	100,00	Эрихромицин	5,34
Ампициллин	2,74	Ласалоцид	3,42
Бацитрацин	5,78	Сахароза	<1,00
Гентамицин	2,51	Тетрациклин	1,66

Антибиотики сходного строения имеют значения ПР% порядка 2-6% и следовательно не должны оказывать существенного влияния на результаты определения стрептомицина в пробах при совместном присутствии. Сахароза (ПР% <1,00), входящая в состав фармацевтических препаратов в качестве наполнителя, также практически не оказывает мешающего влияния на определение стрептомицина, даже в количествах, существенно превышающих содержание аналита.

Разработка методики определения стрептомицина. Определение стрептомицина осуществляли в проточно-инжекционном режиме. Предварительные исследования показали, что при извлечении антибиотика из куриного мяса по способу 4 удается достичь максимальной степени извлечения (93 %, другими способами 90 % и ниже). Перед началом измерений через проточную ячейку пропускали фосфатный буферный раствор до стабилизации сигнала сенсора. При определении стрептомицина к пробе, содержащей аналит, добавляли 50 мкл раствора антител (An-STP-BSA) с концентрацией 17 мкг/мл, затем пробу вводили в поток раствора-носителя. При этом гаптен-белковый конъюгат, иммобилизованный на поверхности сенсора, и стрептомицин анализируемой пробы конкурировали за ограниченное количество антител. Аналитический сигнал сенсора был обратно пропорционален содержанию стрептомицина в пробе.

Методика была апробирована на модельных растворах и образцах куриного мяса. В табл. 3 приведены метрологические характеристики разработанной методики.

Таблица 3. Метрологические характеристики методики определения стрептомицина с помощью аффинного пьезокварцевого сенсора

Пара иммунореагентов	C_{\min} , нг/мл	Диапазон определяемых содержаний, нг/мл	Уравнение градуировочной функции
An-STP + STP-cc-BSA	8,0	10 - 50	$y = -1,3x + 67,1$
An-STP-BSA + STP-cc-BSA	0,6	1 - 50	$y = -1,2x + 112,0$

Более широкий диапазон определяемых содержаний и низкий предел обнаружения стрептомицина наблюдается при использовании антител An-STP-BSA, поэтому эта антисыворотка была использована при определении стрептомицина в курином мясе.

Правильность определения стрептомицина с помощью аффинного пьезокварцевого сенсора проверена методом “введено – найдено” (табл. 4).

Таблица 4. Проверка правильности определения стрептомицина с помощью аффинного пьезокварцевого сенсора ($n = 3$, $P = 0,95$)

Введено, нг/мл	Найдено, нг/мл	% открытия	S_r
1,00	1,00±0,01	100±10	0,01
10,00	10,00±0,02	100±20	0,03
50,00	49,80±0,01	100±10	0,01

Статистическая обработка результатов с помощью критерия Стьюдента не выявила систематической погрешности. Низкие значения S_r свидетельствуют о высокой воспроизводимости результатов анализа.

Результаты определения стрептомицина в мясной продукции (табл. 5) не выявили превышения содержания стрептомицина относительно нормируемых показателей (в табл.5 приведены также пересчитанные результаты в мг/кг). Продолжительность анализа не превышала 20 мин.

Таблица 5. Результаты определения стрептомицина в курином мясе

Объект исследования	Найдено		S_r
	нг/мл	мг/кг	
Грудки куриные Канада	45,00±0,05	0,03±0,01	0,01
Грудки куриные Москва	50,00±0,10	0,02±0,01	0,02
Грудки куриные Липецк	28,00±0,02	0,02±0,01	0,01

Следовательно, можно констатировать, что изучение закономерностей иммунохимической реакции, протекающей на поверхности пьезокварцевого сенсора, применение высокоаффинных и специфичных иммунореагентов позволило разработать высокочувствительную и селективную методику определения остаточных концентраций стрептомицина в пищевых продуктах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Липецкой области (грант № 09-03-97566_p_центр_a).

Список литературы

1. СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов.
2. Buijnsvoort M., Ottink S.J.M., Jonker K.M., Boer E. Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry // J.Chromatogr. 2004. V. 1–2. P. 137–142.
3. Zhen Y.F., Xiao C.X., Li X.Q., Cai J.N., Hong H.H., Huaxue Fenxi Определение остатков линкозамидов и макролидов в тканях животных методом жидкостной хроматографии/тандемной масс-спектрометрии (LC/MS/MS) // Chin. J. Anal. Chem. 2007. V. 9. P. 1290–1294.
4. Lima J., Delerue – Martos C., Vaz C. Enzymatic determination of choline in milk using a FIA system with potentiometric detection // Analyst. 2000. V. 125. P. 1281 – 1284.
5. Федорчук В.А. Вольтамперометрическое определение стрептомицина и левомицетина в лекарственных препаратах и пищевых продуктах. Дисс. ... канд. хим. наук. Томск. 2003 131 с.

6. Kaufmann A., Maden K. Determination of 11 Aminoglycosides in Meat and liver by liquid chromatography with tandem mass spectrometry // Journal of AOAC International. 2005. V. 88. P. 1118–1125.

7. Мелихова Е.В., Калмыкова Е.Н., Ермолаева Т.Н. Оценка методов иммобилизации иммунореагентов на поверхности пьезокварцевых сенсоров для определения сульфопрепаратов в жидких средах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т.6. Вып 1. С. 99-107.

8. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н., Еремин С.А. Разработка пьезокварцевого иммуносенсора для проточно-инжекционного анализа высоко- и низкомолекулярных соединений // Вест. Моск. университета. 2002. Т. 43. Вып 6. С. 391-403.

9. Мелихова Е.В., Калмыкова Е.Н., Еремин С.А., Ермолаева Т.Н. Применение проточного пьезокварцевого иммуносенсора для определения сульфаметоксазола в объектах окружающей среды // Журн. аналит. химии. 2006. Т.61. Вып 7. С. 744-750.

Воронежцева Ольга Вячеславовна – аспирант, Липецкий государственный технический университет, кафедра химии, Липецк, тел. 8(4742)328155

Нартова Юлия Викторовна – к.х.н., доц. Липецкий государственный технический университет, кафедра химии, Липецк, тел. 8(4742)328155

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии Липецкий государственный технический университет, Липецк

Еремин Сергей Александрович – д.х.н., профессор, вед. научный сотрудник кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ

Voronezhstseva Olga V. – Post-graduate Chemistry Department, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Nartova Julia V. – professor, Candidate of Science (Chemistry), associate Chemistry Department, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Ermolaeva Tatyana N. – D.Sc (Chemistry), Professor, Head of the Chemistry Department, Russia, Lipetsk State Technical University, Chemistry Department, Lipetsk, e-mail: ermolaeva@stu.lipetsk.ru

Eremin Sergey A. – D.Sc (Chemistry), Professor Department of Chemical Enzymology, Moscow State University,



УДК 531.717.53:543

Систематические погрешности локально-распределительного анализа растворов методом одночастотной лазерной интерферометрии

Васильева В.И., Малыхин М.Д., Жильцова А.В., Акберова Э.М.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 04.09.2009 г.

Аннотация

Выявлены, классифицированы и оценены систематические погрешности, возникающие при проведении локально-распределительного анализа растворов в гетерогенных системах методом лазерной интерферометрии. Проведен детальный метрологический анализ различного рода поправок, необходимых при градуировке интерферометра и расшифровке интерферограмм. Определены оптимальные условия проведения измерений для минимизации ошибок и устранения их причин.

Ключевые слова: распределительный анализ, лазерная интерферометрия, локальная концентрация, метрология

Systematic errors that appear in local distribution analysis of solutions in heterogeneous systems with the use of laser interferometry technique were revealed, classified and estimated in the work. A detailed metrological analysis was made for different kinds of corrections that are required for the calibration of the interferometer and interpretation of interferograms. Optimum conditions of carrying out of measurements for minimization of errors and elimination of their reasons are defined.

Key words: local distribution analysis, laser interferometry, local concentration, metrology

Введение

По мнению ведущего аналитика России акад. Ю.А. Золотова одной из ближайших перспективных задач в области аналитической химии является развитие локальных (распределительных), непрерывных и неразрушающих методов анализа [1]. Метод лазерной интерферометрии является практически единственным информативным методом измерения концентрационных полей в растворах и газах. Широкое применение он получил в электрохимии мембранных и электродных процессов.

Специфика явлений, происходящих на границе раздела фаз в небольшом пространстве, обуславливает неизбежное наличие различного типа погрешностей. Форма интерференционной полосы надежно воспроизводит концентрационный профиль лишь в том случае, когда можно было пренебречь оптическими ошибками, а также учесть сопутствующие случайные эффекты (изменения температуры и т. д.).

Изучение причин появления ошибок позволяет распознать и устранить их, либо учесть введением соответствующих поправок.

Цель данной работы состояла в изучении возможности минимизации и устранения систематических погрешностей лазерно-интерферометрического локально-распределительного анализа растворов на границе раздела фаз гетерогенных систем.

Методика эксперимента

Принципиальная схема интерферометрической установки типа Маха-Цендера состояла из монохроматического источника излучения, двух отражающих и двух разделяющих световой пучок полупрозрачных зеркал, расположенных в виде прямоугольника или параллелограмма, линз и экрана, на котором регистрировалась интерференционная картина [2]. Один из пучков света проходил через исследуемую секцию оптической ячейки в растворе параллельно поверхности мембраны. Были применены перестраиваемый аргоновый лазер ЛГН-503 с длинами волн 457,9 и 514,5 нм, лазер непрерывного действия на парах кадмия с длиной волны 441,6 нм и гелий – неоновый лазер ЛГН-207В с длиной волны 632,8 нм.

Изменение концентрации ΔC , связанное с изменением показателя преломления раствора Δn , выражалось через относительное смещение интерференционных полос S :

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

где l – толщина оптической ячейки по направлению прохождения света, λ – длина волны монохроматического источника света, γ – коэффициент чувствительности определения, который устанавливался при предварительной градуировке интерферометра. В работе использовались величины смещения интерференционных полос $S = \Delta y / b$, нормированные на расстояние между максимумами оптической плотности двух соседних полос b , так как абсолютные смещения Δy различны для разных плоскостей наблюдения.

Интерференционные полосы являлись концентрационными профилями в масштабе, определяемом коэффициентами чувствительности. Процедуру декодирования интерферограмм иллюстрирует рис.1.

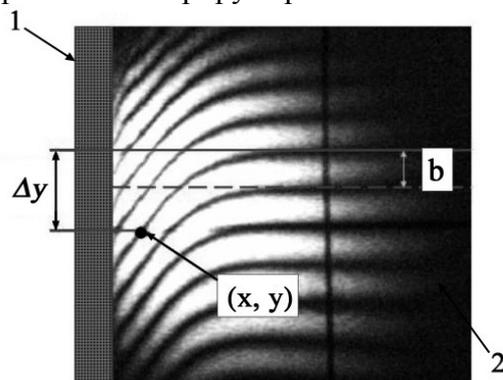


Рис. 1. Интерферограммы раствора на границе с ионообменной мембраной; (x, y) – произвольная точка в растворе, b – расстояние между центрами соседних интерференционных полос, Δy – смещение полосы от первоначального положения, 1 – фаза мембраны, 2 – фаза раствора

Значение локальной концентрации раствора в рассматриваемой точке находили согласно (2)

$$C(x, y) = C_0 - \frac{S(x, y)}{\gamma \cdot l}, \quad (2)$$

где C_0 – концентрация за пределами области концентрационных изменений. Координаты рассматриваемых произвольных точек находили, предварительно определив масштаб фотографированием эталона длины. В качестве эталона длины использовали оптическую щель шириной $1 \cdot 10^{-3}$ м.

Результаты и их обсуждение

Экспериментально наблюдаемый порядок интерференции S в произвольной точке изображения (x, y) (рис.1) может значительно отличаться от порядка интерференции в случае идеального интерферометра S_{id} , предполагающего, что все зондирующие лучи представляют собой прямые линии. При отклонении от прямолинейного распространения света коррекцию интерферограмм с целью нахождения порядка интерференции идеального интерферометра проводили с учетом (3)

$$S = S_{id} + \Delta S_r + \Delta S_l + \Delta S_f, \quad (3)$$

где S соответствует экспериментальному смещению интерференционной полосы, ΔS_r представляет собой дополнительное смещение интерференционной полосы, вызванное рефракцией лучей. Дополнительное смещение интерференционной полосы ΔS_l вдоль координаты x по толщине слоя концентрационных изменений δ было вызвано наличием «краевых» эффектов, а последний член выражения (3) соответствовал дополнительному смещению интерференционной полосы при некорректном выборе плоскости фокусировки.

Систематические погрешности локально-распределительного анализа методом лазерной интерферометрии рассмотрены в рамках принятой классификации [3]: 1) систематические погрешности известной природы, значения которых могут быть рассчитаны аргументом и учтены путем введения соответствующей поправки; 2) систематические погрешности известной природы, значения которых неизвестны, но могут быть оценены в ходе химического анализа или при постановке специального эксперимента; 3) систематические погрешности не выясненной природы, значения которых неизвестны. Обычно они именуется систематическими погрешностями первого, второго и третьего типов.

Систематические ошибки I рода. При измерении локальных концентраций в растворе на границе раздела фаз наиболее существенным источником систематических ошибок является рефракция лучей. Рефракция – отклонение луча света в сторону оптически более плотной среды, приводящее к увеличению длины пути луча света в исследуемой области по сравнению с идеальной интерферометрией, предполагающей прямолинейное распространение света [2]. Так как скорость света в диэлектрической среде зависит главным образом от плотности среды, то пройденный светом путь больше в областях, где показатель преломления меньше, и световые лучи отклоняются в сторону оптически более плотной среды. Прохождение лучей через исследуемый раствор на границе с твердой фазой, характеризующийся большими градиентами показателя преломления, может приводить к появлению двух эффектов отклонения световых лучей. Уменьшение концентрации вещества на границе приводит к уменьшению показателя

преломления и возникновению градиента показателя преломления, который вызывает отклонение световых лучей в сторону оптически более плотной среды (рис.2а).

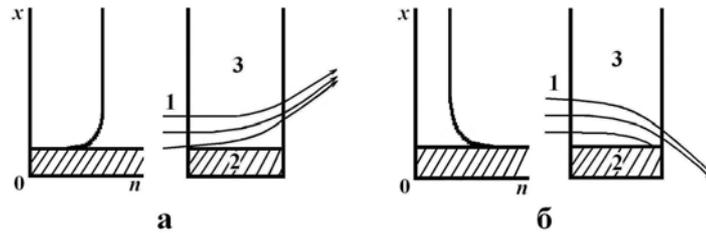


Рис.2. Влияние градиента показателя преломления на распространение света вблизи межфазной границы (1 – луч света, 2 – ионообменная мембрана, 3 – раствор)

Так как градиент показателя преломления имеет наибольшее значение непосредственно у поверхности раздела фаз, то сильнее остальных отклонялся ближайший к поверхности луч. В результате, между поверхностью твердого объекта и концом интерференционных полос оставалась светлая линия, равная величине отклонения луча, так как в этой области лучи не интерферировали.

Другой возможностью является увеличение показателя преломления раствора с увеличением концентрации по мере приближения к межфазной поверхности. В этом случае световые лучи отклоняются в сторону твердой фазы и отражаются от нее (рис.2б), что вызывало удлинение интерференционных полос и кажущееся сужение ширины твердого объекта. В результате этого изображение пограничного слоя непосредственно вблизи раздела фаз было размыто.

Таким образом, в зависимости от знака градиента показателя преломления на межфазной границе наблюдался эффект «миража», вызванный отклонением световых лучей в сторону оптически более плотной среды и проявлявшийся в удлинении или уменьшении длины интерференционной полосы [2, 4]. Величина дополнительного смещения интерференционной полосы, вызванная рефракцией лучей, может быть рассчитана *a priori* и учтена путем введения соответствующей поправки ΔS_r

$$\Delta S_r = \frac{n_0 \lambda l}{12b^2}, \quad (4)$$

где n_0 – величина показателя преломления исходного однородного раствора, λ – длина волны монохроматического источника света, b – ширина интерференционной полосы. При этом знак поправки зависит от направления градиента показателя преломления.

Установлено, что пренебречь отклонением световых лучей можно, если на границе раздела фаз выполняется условие [2, 5]

$$R \equiv \frac{(n')^2 \cdot l^3}{n_0 \cdot \lambda} < 0,3, \quad (5)$$

где n' – градиент показателя преломления. Условие (5) получено при допущении, что дополнительная длина пути света меньше величины $0,1\lambda$.

Применение локально-интерферометрического метода для локально-распределительного анализа раствора на границе с ионообменной мембраной при электродиализе показало, что рефракция световых лучей имеет заметную величину при значительной степени деионизации раствора высокой исходной концентрации. Согласно (5) измерение концентрационного распределения хлорида натрия при

электродиализе в широком диапазоне плотностей токов необходимо проводить в растворах концентраций, не превышающих $3,3 \cdot 10^{-2}$ М при максимальной скорости потока $7,0 \cdot 10^{-4}$ м/с и длине исследуемой области $1,8 \cdot 10^{-2}$ м. Теоретическая оценка степени влияния рефракции показала, что уменьшение исходной концентрации до $1,0 \cdot 10^{-2}$ М позволяло увеличить интервал скоростей подачи раствора хлорида натрия до $2,5 \cdot 10^{-2}$ м/с. При электродиализе растворов уксусной кислоты отсутствие ошибок, связанных с рефракцией световых лучей, наблюдалось в интервале концентраций до $8,9 \cdot 10^{-2}$ М. Таким образом, в каждом конкретном случае на основе предварительной оценки максимальной величины градиента концентрации необходимо проводить выбор интервалов концентраций и скоростей подачи растворов, для которых профиль интерференционной полосы достоверно соответствует профилю концентрации.

Систематические ошибки II рода. Основным источником систематических ошибок второго рода являются инструментальные погрешности, связанные с неточной фокусировкой интерферометра. Для получения четких и неискаженных изображений плоскость фокусировки располагают в середине измерительной ячейки. В этом случае погрешность смещения световых лучей незначительна при условии близости траектории лучей к параболической форме [4]. При этом изображение интерференционных полос в области, примыкающей к межфазной поверхности, и на внешней границе концентрационных изменений не имеют погрешностей смещения. Когда плоскость фокусировки расположена в начале или в конце ячейки, то происходит искажение изображения. Постановка специального эксперимента показала, что дополнительное смещение интерференционной полосы составляло величину до 0.25 от его истинного значения. При точной фокусировке интерферометра погрешность смещения обычно составляла менее $10^{-2} \cdot \delta$ (δ - величина области изменения концентрации), что позволяло измерять величины локальных концентраций на расстояниях порядка единиц микрометров от межфазной поверхности.

Особенности конструкции оптической ячейки вызывали наличие ещё двух систематических ошибок второго рода. Первая ошибка была обусловлена «краевыми» эффектами, возникающими из-за того, что ионообменная мембрана крепилась клеем на каркас из органического стекла, и образовывались участки, не проводившие электрический ток и не участвовавшие в массопереносе. В результате возникала переходная область, где обессоленный раствор стремился разбавить раствор исходной концентрации (рис. 3). Появление дополнительной области Δl , в которой происходило изменение поля показателя преломления, вызывало дополнительную разность оптических путей световых лучей.

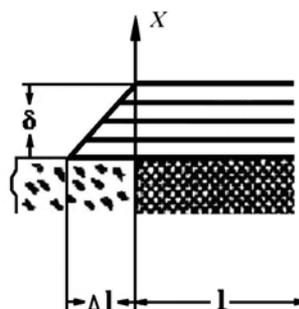


Рис.3. Краевые эффекты: x – расстояние от поверхности мембраны; δ – толщина области концентрационных изменений; Δl – длина переходной области раствора; l – длина исследуемой области

Дополнительную разность оптических путей $\lambda \cdot \Delta S_l$ на расстоянии x от поверхности мембраны, обусловленную «краевыми эффектами» на двух краях мембраны, для идеального интерферометра можно рассчитать с учетом формулы (1)

$$\Delta S_l \cdot \lambda = 2[n_0 - n(x)] \cdot \Delta l \left(1 - \frac{x}{\delta}\right). \quad (6)$$

Поскольку из интерферограммы было известно

$$n(x) = n_0 - \frac{S(x) \cdot \lambda}{l}, \quad (7)$$

то поправка к оптическому пути равна

$$\Delta S_l = 2S \frac{\Delta l}{l} \left(1 - \frac{x}{\delta}\right), \quad (8)$$

где l – длина исследуемой области, x – расстояние от поверхности мембраны, δ – толщина области концентрационных изменений, S – смещение полосы, рассчитанное по интерференционной картине, Δl – длина переходной области раствора, которую необходимо предварительно измерить или оценить (например, принять $\Delta l = \delta$).

Если исследуемая межфазная поверхность была установлена относительно пучка света не параллельно, то имели место значительные измерительные погрешности, вызванные угловыми отклонениями [4]. На рис. 4 показаны некоторые возможные варианты расположения исследуемой границы по отношению к лучу источника излучения.

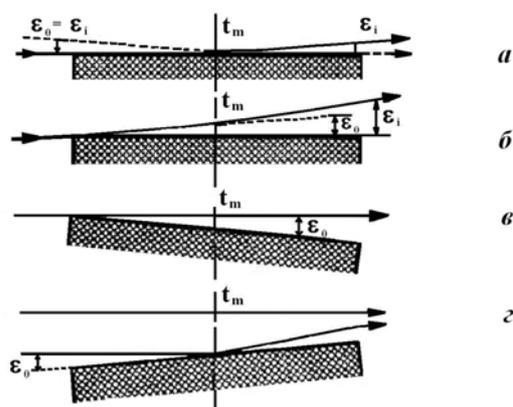


Рис.4. Варианты установки мембраны относительно параллельного пучка света: ε_0 – угол на входе в рабочую область; ε_1 – угол на выходе из рабочей части; t_m – плоскость фокусировки

Обычно угол на входе в систему $\varepsilon_0 \sim 0$, а угол отклонения поверхности относительно оптической оси не должен превышать величину $\text{tg} \varepsilon_1 < 10^{-3}$, где ε_1 – угол выхода измерительного луча из рабочей части. Величину $\text{tg} \varepsilon_1$ можно определить непосредственно из интерферограмм по ширине интерференционных полос b

$$\text{tg} \varepsilon_1 = \frac{\lambda}{b}. \quad (9)$$

Установку правильного углового положения осуществляли по наблюдению увеличенной интерференционной картины, образовавшейся вследствие дифракционной интерференции Френеля (рис. 4в) и (или) интерференции между отраженными от поверхности лучами (рис. 4г). Луч сравнения при этом перекрывался, а ориентация мембраны регулировалась до появления светлой линии

и нахождения положения, при котором она сливалась с контуром мембраны [4]. Тщательная регулировка по этому методу обеспечивала точность установки $\varepsilon_0 < 5 \cdot 10^{-4}$.

Систематические ошибки III типа, то есть погрешности не выясненной природы и значения которых неизвестны, могли быть связаны с оптической неоднородностью материала ячейки, шероховатостью мембранной поверхности и другими причинами.

Анализ литературы и проведенные экспериментальные исследования позволили систематизировать и выделить следующие типы и способы корректировки систематических ошибок, встречающихся при проведении локально – распределительного анализа растворов методом лазерной интерферометрии (табл. 1, 2).

Таблица 1. Причины и способы корректировки систематических ошибок I типа интерферометрического локально – распределительного анализа растворов

Причина ошибок	Выявление ошибки и способ корректировки	Источники литературы
Рефракция лучей (искажение траектории лучей света в области с градиентом показателя преломления)	1. Критерий оценки степени влияния рефракции лучей $R = \frac{n'^2 \cdot l^3}{n_0 \cdot \lambda}$	[2]
	Если $R > 0,3$ рефракцией лучей пренебречь нельзя.	[2, 4-16]
	2. Расчет дополнительной длины пути лучей света в области с градиентом показателя преломления $\Delta P = \frac{n'^2 \cdot l^3}{3n_0}$	
	и соответствующего дополнительного смещения интерференционной полосы $\Delta S_r = \frac{n'^2 \cdot l^3}{3 \cdot n_0 \cdot \lambda}$	[4, 9, 17]
	3. Расчет дополнительного смещения интерференционной полосы на границе раздела фаз при отклонении луча по параболической траектории $\Delta S_l = -\frac{n_0 \cdot \lambda \cdot l}{12 \cdot b^2}$	

Анализ выражений для корректировочных формул, приведенных в табл.1, 2 позволил выявить оптимальные параметры аппаратного оформления и условия проведения процесса электролиза для уменьшения величины систематических погрешностей. Например, если вместо гелий-неонового лазера с длиной волны $\lambda = 632,8$ нм использовать эксимерный газовый лазер на парах фтора с длиной волны $\lambda = 157,0$ нм, то ошибка, вызванная рефракцией лучей, может быть уменьшена в четыре раза.

Таблица 2. Причины и способы корректировки систематических ошибок II типа интерферометрического локально – распределительного анализа растворов

Причина ошибок	Выявление ошибки и способ корректировки	Источники литературы
1. Неточность фокусировки (влияние положения плоскости фокусировки на смещение и контраст интерференционной картины)	<p>Оптимальное расположение плоскости фокусировки в центре исследуемой системы.</p> <p>Расчет дополнительного смещения интерференционной полосы при сдвиге плоскости фокусировки в сторону входного сечения</p> $\Delta S_f \lambda = nl \left[1 + \left(\frac{dx}{dl} \right)_i^2 \right]^{1/2} - n \left[1 + \left(\frac{dx}{dl} \right)^2 \right]^{1/2} dl,$ <p>при сдвиге плоскости фокусировки в сторону выходного сечения</p> $\Delta S_f \lambda = nl - n \left[1 + \left(\frac{dx}{dl} \right)^2 \right]^{1/2} dl.$	[5, 9, 12, 14-17]
2. Краевые эффекты (отклонение лучей света в поле градиента показателя преломления на внешних границах исследуемой области)	<p>Расчет дополнительного смещения интерференционной полосы при линейной границе пограничного слоя в области дополнительной длины Δl</p> $\Delta S_l = 2S \cdot \frac{\Delta l}{l} \cdot \left(1 - \frac{x}{\delta} \right).$	[4]
3. Угловые отклонения (непараллельное расположение межфазной поверхности относительно светового луча).	<p>Точность установки поверхности относительно оптической оси должна быть сравнима с величиной</p> $\operatorname{tg} \varepsilon_t = \lambda/b < 10^{-3}.$	[4]

Подобрать оптимальные размеры исследуемой области раствора позволил совместный анализ величины ошибок, зависящих от геометрии системы. С увеличением размеров исследуемой области относительная ошибка, вызванная рефракцией лучей возрастала, а ошибка, обусловленная «краевыми» эффектами, стремилась к минимальному значению (рис. 5). Области минимальных значений ошибок, обусловленных совместным влиянием рефракции лучей и «краевыми» эффектами, соответствуют размеры ячейки по направлению распространения лучей света $(1,5-2,0) \cdot 10^{-2}$ м.

На рис.6 представлен пример корректировки концентрационных профилей у поверхности катионообменной мембраны при электродиализе раствора хлорида натрия. Пунктирной линией обозначено концентрационное распределение, полученное декодированием интерферограмм без учета возможных ошибок метода, а сплошной линией – концентрационные профили после корректировки.

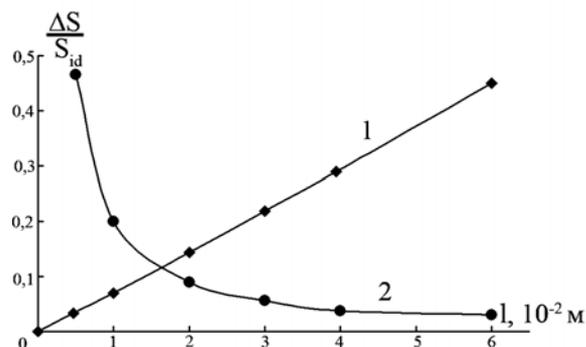


Рис. 5. Зависимости погрешности смещения интерференционной полосы, обусловленные рефракцией лучей (1) и «краевыми» эффектами (2) в растворе у поверхности мембраны МК-40, от длины исследуемой области l при $C_0(\text{NaCl})=10^{-2}\text{M}$, плотности тока $6,6 \text{ A/m}^2$, координате по направлению подачи раствора $2 \cdot 10^{-2} \text{ м}$

Величины критерия рефракции (5) увеличивались с ростом тока и составляли 0,23, 0,55, 1,46 соответственно для плотности тока $3,9 \text{ A/m}^2$, $6,6 \text{ A/m}^2$, $11,9 \text{ A/m}^2$. При плотностях тока, не превышающих 0,75 от предельной величины i_{lim} , концентрационный профиль не требовал корректировки. При плотности тока $11,9 \text{ A/m}^2$ ($1,5i_{lim}$) расшифровка интерферограммы дала отрицательные значения локальной поверхностной концентрации $C_s = -1,5 \cdot 10^{-3}\text{M}$, а ее значение после корректировки составляло $7 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. Следует отметить, что наблюдаемое при этом токе значительное смещение интерференционной полосы могло быть также вызвано тепловыми эффектами на межфазной границе, величину которых необходимо предварительно экспериментально или теоретически оценивать.

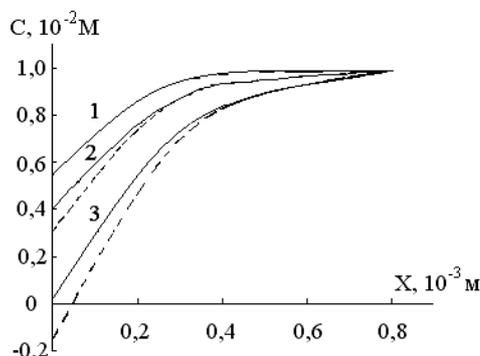


Рис.6. Концентрационные профили раствора хлорида натрия $C_0(\text{NaCl})=10^{-2} \text{ M}$ у поверхности катионообменной мембраны МК-40 при плотностях тока 1 – $3,9 \text{ A/m}^2$ ($0,6i_{lim}$); 2 – $6,6 \text{ A/m}^2$ (i_{lim}); 3 – $11,9 \text{ A/m}^2$ ($1,5i_{lim}$); скорости подачи раствора $1,3 \cdot 10^{-3} \text{ м/с}$, координате по направлению подачи раствора $2 \cdot 10^{-2} \text{ м}$

Минимально определяемая разность концентраций. При расшифровке сфотографированной интерференционной картины погрешность, с которой может быть определено смещение интерференционной полосы, обычно оценивается в 10^{-1} полосы [2]. Изменение концентрации компонентов, соответствовавшее такому смещению полосы, принималось как минимально определяемое значение. Для хлорида натрия изменение концентрации, соответствующее минимальному смещению полосы при $\lambda = 632,8 \text{ нм}$, составило величину $4 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. При увеличении чувствительности аналитического отклика с уменьшением длины волны источника света минимально определяемая разность концентрации хлорида натрия составляла $3 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ и $2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ для длин волн 520,0 и 488,0 нм. Изменение температуры,

соответствующее этой погрешности смещения полосы, составило $\Delta t = 0,03^\circ\text{C}$ ($\lambda = 632,8$ нм). В тех случаях, когда необходима более высокая точность измерений, применяются электронные фотоизмерительные методы, позволяющие регистрировать изменение сдвига интерференционной полосы с точностью 10^{-3} полосы.

Дальнейшее совершенствование методики локального анализа растворов возможно при использовании таких лазеров и систем регистрации интерференционной картины, которые позволили бы получать генерацию и определять порядок интерференции в различных областях спектра.

Геометрическая разрешающая способность. Точность локального анализа определяется не только погрешностями измерений величины смещения интерференционной полосы, но и правильным отнесением ее к определенной точке объекта (локализацией). Характеристическим показателем любого локально-распределительного анализа является геометрическая разрешающая способность, которая указывает, сколько однозначно различающихся ступеней содержит область регистрации [18]. При лазерно-интерферометрическом распределительном анализе в качестве независимых переменных выступают две пространственные координаты. В связи с этим для характеристики способности различать концентрации близко расположенных участков образца использовали поверхностную разрешающую способность A_F

$$A_F = \frac{F}{\Delta F}, \quad (10)$$

где ΔF – исследуемый элемент площади, который относили к $F = 1 \cdot 10^{-4} \text{ м}^2$.

Расчет по (10) с учётом масштаба увеличенных интерференционных картин показал, что геометрические пределы разрешения по пространственным координатам Δx и Δy находились в области $(1 - 5) \cdot 10^{-6} \text{ м}$, что соответствовало поверхностной разрешающей способности метода порядка $10^4 - 10^5$. Таким образом, лазерная интерферометрия представляет собой исключительно эффективный метод локально-распределительного анализа, пределы разрешения которого соизмеримы с такими методами локального анализа, как лазерный микроспектральный анализ ($10^4 - 10^6$), автордиография ($10^6 - 10^8$) и др.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 09.03.97567р_центр_а.

Список литературы

1. Золотов Ю.А. Аналитическая химия: день сегодняшний // ЖАХ. 2007. Т.62. №10. С. 1014-1020.
2. Вест Ч. Голографическая интерферометрия. М.: Мир. 1982. 502с.
3. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. Л.: Химия. 168 с.
4. Хауф В., Григуль У. Оптические методы в теплопередаче. М.: Мир. 1973. 240с.
5. Clifton M., Sanchez V. Optical errors encountered in using holographic interferometry to observe liquid boundary layers in electrochemical cells // Electrochim. Acta. 1979. Vol.24. №4. P. 445-450.
6. Иванова С.Н., Овчинников И.Г., Певницкая М.В. Исследование массопереноса через границу ионообменная мембрана-раствор. Применение лазерной интерферометрии для изучения границы ионообменная мембрана-раствор при

высоких плотностях тока // Электрохимия в решении проблем экологии. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние. 1990. С.92-96.

7. Awakura Y., Kondo Y. Concentration profile of CuSO_4 in the cathodic diffusion layer // J. Electrochem. Soc. 1976. V.123. №8 P. 1184-1192.

8. Fukunaka Y., Denpo K., Iwata M., Maruoka K., Kondo Y. Concentration profile of Cu^{2+} ion near a plane vertical cathode in electrolytes containing CuSO_4 and excess of H_2SO_4 as a supporting electrolyte // J. Electrochem. Soc. 1983. Vol.130. №2. P. 2492-2500.

9. Kahl G.D., Mylin D.C. Refractive deviation errors of interferograms // J. Opt. Soc. Am. 1965. Vol.55. P. 364-372.

10. Mahlab D., Yosef B., Belfort G. Interferometric measurement of concentration polarization profile for dissolved species in unstirred batch hyper filtration (reverse osmosis) // Chem.eng.commun. 1980. V.6. P.225-243.

11. Matysik J., Chmiel J., Cieszyk-Chmiel A. Particular concentration profiles at the electrode with respect to interferometric investigations // J. Electroanal. Chem. 1985. V.195. №1. P.39-50.

12. McLarnon F.R., Muller R.H., Tobias C.W. Light – deflection errors in the interferometry of electrochemical mass transfer boundary layer // J. Electrochem. Soc. 1975. Vol.122. P. 59-64.

13. Min S., Duda J.L., Notter R.H. An interferometric technique for the study of steady state membrane transport // AJChE Journal. 1976. Vol.22. №1. P.175-182.

14. Muller R. H. Double beam interferometry for electrochemical studies // Advances in Electrochemistry and Elektrochemical Engineering. 1973. Vol.9. P. 281-361.

15. Sanchez V., Clifton M, Alvarez R. Utilizacion de la interferometria holografica en el campo de los fenomenos de transporte. II Aplicaciones practicas // Afinidad. 1985. Vol.42. № 397. P.251-259.

16. Srinivasan V.S. Holography and holographic interferometry in electrochemistry // Advances in Electrochemistry and Electrochem. Engineering. 1973. Vol.9. P. 369-422.

17. Denpo K., Okumura O., Fukunaka Y., Kondo Y. Measurement of concentration profiles of Cu^{2+} ion and H^+ ion near a plane vertical cathode by two-wavelength holographic interferometry // J. Electrochem. Soc. 1985. Vol.132. № 5. P.1145-1050.

18. Данцер К., Тан Д., Мольх Д. Аналитика. Систематический обзор. М.: Химия. 1981. 278 с.

Васильева Вера Ивановна – д.х.н., доцент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 20-88-28

Малыхин Михаил Дмитриевич – к.х.н., докторант кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж, тел. (4732) 20-88-28

Жильцова Анна Владимировна – студентка кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Акберова Эльмара Маликовна – магистрант кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Vasil'eva Vera I. - Dr. Sci. Chem., associate professor of chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: roshim@roshim.vrn.ru

Malykhyn Mikhail D. – competitor for science degree of Dr. Sci. Chem. of chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh

Zhiltsova Anna V. – student of chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh

Akberova Elmara M. – competitor for science degree of Master Sci. Chem. of chemical faculty, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: elmara_09@inbox.ru



УДК 581.13

Выделение, хроматографическая очистка и свойства β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых воздействию гипоксии и CO_2 -среды

Ершова А.Н., Баркалова О.Н.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж

Поступила в редакцию 23.07.2009 г.

Аннотация

Разработана схема получения высокоочищенных препаратов β -глюкозидазы проростков гороха, подвергнутых воздействию кратковременной гипоксии и CO_2 -среды. Путем высаливания сульфатом аммония и гель-хроматографии на G-25 и G-100 получены электрофоретически гомогенные препараты цитоплазматической формы фермента. Показано, что действие на проростки гипоксии и высоких концентраций диоксида углерода не изменяло скорости элюции β -глюкозидазы при хроматографическом разделении на колонке с G-100 и не отражалось на электрофоретической подвижности фермента. Величины R_f для всех трех форм фермента, выделенных из растений, находящихся в условиях разных газовых сред составляло 0,39. С помощью высокоочищенных препаратов β -глюкозидазы впервые установлено, что в условиях гипоксического стресса изменялась активность фермента по отношению к расщепляемым гликозидам. Она возрастала при использовании салицина и изосукцинимид- β -D-гликозида (ИС-гликозида), но снижалась в отношении *p*-нитрофенил- β -D-глюкопиранозида (*p*-НФГ) и α -метил-D-глюкопиранозида, что отразилось на кинетических характеристиках β -глюкозидазы (K_m и V_{max}). При всех сроках действия гипоксии на растения величина K_m фермента снижалась для салицина, а по отношению к ИС-гликозиду, *p*-НФГ, α -метил-D-глюкопиранозиду – возрастала. CO_2 -среда вызывала увеличение K_m для всех субстратов, за исключением *p*-НФГ. Показано, что при дефиците кислорода у растений менялся оптимум pH β -глюкозидазы, который сдвигался с 5,6 до 5,3.

Ключевые слова: β -глюкозидаза, горох, хроматографическая очистка, свойства, гипоксия

Purification scheme for β -glucosidase of pea seedlings exposed to short-term hypoxia and CO_2 -media was developed. By sulphate ammonium desalting and G-25 and G-100 gel chromatography the electrophoretically homogeneous samples of enzyme cytoplasmic form were obtained.

It was shown that hypoxia and high concentrations of carbon dioxide did not change the β -glucosidase elution speed under chromatographic separation on G-100 and did not affect electrophoretic enzyme mobility. The R_f values for all three forms of enzyme extracted from plants being under different gas media was 0.39. By means of β -glucosidase high-purity samples it was first discovered that under hypoxic stress the enzyme activity was changing compare to decomposed glycosides. It was increasing under usage of salicin and isosuccinimide- β -D-glycoside (IS-glycoside), but it was decreasing towards *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (*p*-NPG) and α -methyl-D-glucopyranoside that affected kinetic characteristics of β -glucosidase like K_m and V_{max} . Under all periods of hypoxia exposition on plants the K_m of enzyme for salicin was decreasing, but towards other substrates like IS-glycoside, *p*-NPG, α -methyl-D-glucopyranoside it was increasing. CO_2 -media induced an increase of K_m for all the substrates except *p*-NPG. It was shown that under oxygen deficit in plants the pH optimum for β -glucosidase was also varying from 5.6 to 5.3.

Key words: β -glucosidase, pea, chromatographic purification, properties, hypoxia

Введение

β -Глюкозидаза (β -D-глюкозид-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.21), катализирует гидролитическое расщепление β -гликозидной связи между двумя остатками гликона или связи между глюкозой и алкил- или арилагликоном. Фермент составляет основную группу среди гликозидгидролаз, выделенных из представителей всех трех царств живых организмов, однако в меньшей степени изучен в растениях. β -Глюкозидазы могут локализоваться в различных компартментах растительной

клетки, так, расщепляющие салицин (в листьях овса, кукурузы, фасоли, подсолнечника, картофеля) присутствовали в основном во фракции клеточных стенок [12] или могут быть локализованы в цитоплазме или в вакуоле, где находятся расщепляющиеся ими гликозиды [10].

Физиологические функции растительных β -глюкозидаз разнообразны. Они участвуют в процессах активации/деактивации фитогормонов [11], в синтезе веществ клеточных стенок, в процессах лигнификации, а также в расщеплении транспортных форм β -D-гликозидов [14]. β -Глюкозидаза диоскореи катализировала превращение фураностаноловых гликозидов в спиростаноловые, которые обладали фунгицидной и антибактериальной активностями, что обеспечивало защиту растений от фитопатогенных микроорганизмов [2].

Растительные глюкозидазы обычно проявляют максимальную активность при кислых значениях pH (4-6) и температуре 30-50°C [1; 6-8;13]. Ранее нами [1] в проростках гороха была обнаружена β -глюкозидаза, расщепляющая специфический изосукцинимид- β -гликозид (ИС-гликозид), предшественником агликона которого является циклическое производное γ -аминомасляная кислота (ГАМК). Было показано, что существуют цитоплазматическая и клеточносвязанная молекулярные формы фермента. Активность их менялась в ходе онтогенеза [4] и гипоксии [5]. Однако для исследования влияния факторов внешней среды на свойства фермента необходимо было получить высокоочищенные препараты β -глюкозидазы из растений. В связи с этим, целью данной работы было разработать методику и получить высокоочищенные препараты фермента из растений, подвергнутых воздействию гипоксии и CO₂-среды, и изучить их свойства, включая субстратную специфичность, кинетические характеристики и pH-оптимум.

Материалы и методы

Объектом исследования служили листья 10-дневных проростков гороха (*Pisum sativum*) сорта "Рамонский 77", выращенные гидропонным методом на свету (1000 люкс/см²) при +20°C. Проростки гороха подвергались воздействию разных газовых сред: воздух, гипоксия и углекислый газ (6-24ч). Навеску листьев (15 г) растирали в ступке с 0,05 М фосфатно-цитратным буфером pH 7,0, содержащим 0,4 М сахарозу и 0,01 М фосфат калия в соотношении 1:4. Гомогенат отжимали через капроновую ткань и центрифугировали (30 мин., 8000 об/мин) для отделения неразрушенных клеток и их крупных фрагментов. Надосадочную жидкость насыщали серноокислым аммонием (60-90 %). Полученную после высаливания фракцию для удаления низкомолекулярных примесей пропускали через колонку (1,0×34 см) с G-25, уравновешенную фосфатно-цитратным буфером (pH 5,6) со скоростью 20 мл/час по 1 мл. Обессоленную фракцию наносили на колонку (1,5×30 см) с сефадексом G-100, предварительно уравновешенную тем же буфером. Собирали фракции по 1 мл при скорости элюции 8 мл/час. Все операции по выделению и очистке фермента проводили при 4°C.

При определении активности в качестве субстратов использовали природные (салицин, ИС-гликозид) и синтетические (p-нитрофенил- β -D-глюкопиранозид (p-НФГ), α -метил-D-глюкопиранозид) гликозиды (0,5-10 мМ). Активность β -глюкозидазы определяли по количеству освободившейся при гидролизе субстратов глюкозы, а для p-НФГ по количеству отщепившегося p-нитрофенола [8]. Количество глюкозы в пробе определяли глюкооксидазным методом [1].

Оптическую плотность растворов измеряли на СФ-56 (Россия). За единицу активности β -глюкозидазы принимали количество фермента, катализирующего расщепление 1 мкмоль субстрата в мин при 37°C. Удельную активность выражали в Е на мг белка. Белок определяли по Лоури или по поглощению при $\lambda = 260$ нм. Определение K_m проводили методом двойных обратных величин по Лайуниверу-Берку [3].

Чистоту выделенного фермента контролировали электрофоретическим методом. Неденатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле проводили по Davis [13]. Разделяющий гель содержал Трис-НСI pH 8,9, ТЕМЕД, акриламидную смесь, персульфат аммония. Концентрирующий гель содержал Трис-НСI pH 6,7, ТЕМЕД, акриламидную смесь, рибофлавин, сахарозу. Концентрация концентрирующего геля составляла 2,5%, а разделяющего 7,5%. Идентификацию белка проводили нитратом серебра. Электродный буфер представлял собой смесь 0,5 М Трис-глицинового буфера pH 8,3. Напряжение электрического тока подбиралась из расчета 2 мА на 1 слот.

Все опыты проводили в 3-кратной биологической повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в трех повторностях. В работе приведены данные типичных опытов.

Результаты и обсуждение

Для получения высокоочищенного ферментативного препарата цитоплазматической β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых воздействию разных газовых сред (6-24 ч), была проведена многостадийная очистка растительного гомогената. Результаты типичной очистки представлены в таблице 1. Фермент, выделенный из аэрируемых растений, был очищен в 80,7 раз с выходом 16,2 %. β -Глюкозидаза, выделенная из проростков гороха, подвергнутого воздействию гипоксии и CO_2 -среды (6ч), была очищена в 72,8 и 74,7 раза соответственно с выходом 14,8 и 10,4 %. При увеличении сроков экспонирования проростков в условиях гипоксии до 24 часов были получены ферментативные препараты с такой же степенью очистки, которая составила 80,7 (воздух), 75,7 (гипоксия) и 72,7 (CO_2 -среда).

На рис. 1 приведены кривые элюации препаратов фермента на G-100, выделенных из проростков, находящихся 6 часов в условиях разных газовых сред. Как видно из этих результатов, нахождение растений в условиях дефицита кислорода и CO_2 -среды не влияло на объемы и скорость элюции препарата с колонки.

С помощью электрофореза в полиакриламидном геле было показано, что в результате предложенной схемы очистки, были выделены электрофоретически гомогенные формы ферментного препарата (рис. 2). Воздействие на растения условий гипоксии или высоких концентраций диоксида углерода не изменило электрофоретической подвижности β -глюкозидазы. Величины R_f для всех трех форм фермента, выделенного из растений, находящихся 6 часов в условиях разных газовых сред составило 0,39, что близко к полученным ранее [1] величинам R_f этого фермента из растений гороха.

Таблица 1. Стадии очистки β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых воздействию разных газовых сред

Стадия очистки	Вариант	Активность, Е	Количество белка, мг	Удельная активность, Е/мг	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	воздух	2612	167,8	15,6	100	1
	гипоксия	2463	134,4	18,3	100	1
	СО ₂ -среда	2197	157,2	13,9	100	1
Высаливание сульфатом аммония (60-90%)	воздух	2234	87,4	25,5	85,5	1,6
	гипоксия	2145	60,6	35,4	87,1	1,9
	СО ₂ -среда	1644	74,9	21,9	74,8	1,6
Гель-хроматография на сефадексе G-25	воздух	1595	24,9	64,1	61,1	4,1
	гипоксия	1435	18,2	78,8	58,2	4,3
	СО ₂ -среда	1149	14,3	80,3	52,3	5,8
Гель-хроматография на сефадексе G-100	воздух	399	0,27	1477,7	16,2	80,7
	гипоксия	386	0,34	1137,0	14,8	72,8
	СО ₂ -среда	228	0,22	1038,6	10,4	74,7

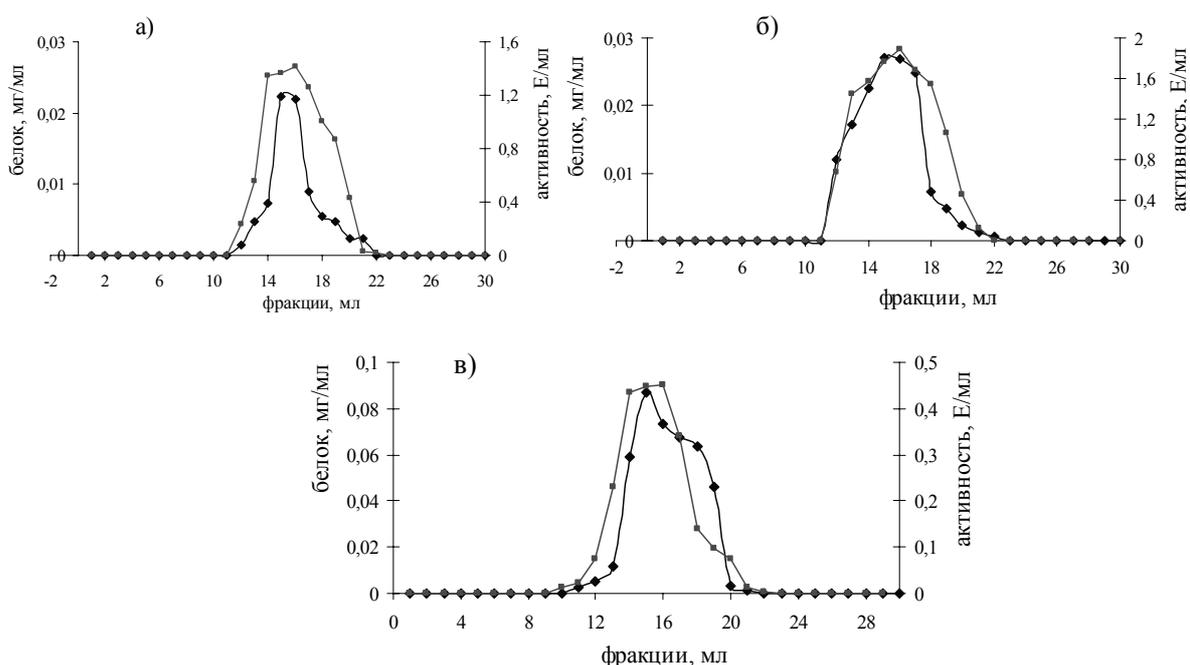


Рис. 1. Кривые элюции препарата β -глюкозидазы 0,1 М фосфатно-цитратным буфером (рН 5,6) с колонки G-100 из растений гороха, подвергнутых воздействию разных газовых сред (а- воздух, б- гипоксия, в-СО₂-среда).

Полученные препараты β -глюкозидазы использовались для определения субстратной специфичности и активности фермента в зависимости от условий аэрации. Как показывают данные таблицы 2, в первые шесть часов активность β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых действию гипоксического стресса, возрастала для природных гликозидов, таких как салицина в 2,7 раза, а ИС-

гликозида- в 1,2 раза, но понижалась по отношению к синтетическим гликозидам: р-НФГ и α -метил-D- глюкопиранозиду практически в два раза.

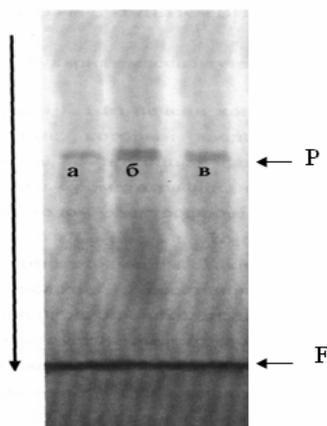


Рис. 2. Неденатурирующий электрофорез выделенного препарата β -глюкозидазы из проростков гороха в норме (а), при гипоксии (б) и в CO_2 -среде (в).

Направление движения белка указано стрелкой.

F-фронт красителя бромфенолового синего, Р- β -глюкозидаза.

Таблица 2. Влияние гипоксии и CO_2 -среды на субстратную специфичность β -глюкозидазы растений гороха (Е- мкмоль/мин; %-от аэрируемого контроля)

Время, ч	Субстрат	Воздух		Гипоксия		CO_2 -среда	
		Е	%	Е	%	Е	%
6	Салицин	22,47	100	60,45	269,0	49,47	220,2
	р-НФГ	112	100	53,48	47,7	43,48	38,82
	α -метил- β -D-глюкопиранозид	11,60	100	6,19	53,4	14,04	121,0
	ИС-гликозид	166,5	100	202,3	121,5	202,8	121,8
24	Салицин	22,47	100	27,00	120,2	27,03	120,3
	р-НФГ	112	100	13,22	11,8	24,0	21,4
	α -метил- β -D-глюкопиранозид	11,60	100	7,99	68,8	12,97	118,8
	ИС-гликозид	166,5	100	175,7	105,5	175,7	105,5

С увеличением сроков экспонирования растений до 24 часов активность фермента значительно снижалась при использовании всех субстратов, за исключением салицина. По отношению к нему активность фермента оставалась выше на 20% по сравнению с контрольными растениями. При действии CO_2 -среды в первые 6 часов у растений активность β -глюкозидазы снижалась только для р-НФГ в 2,6 раза. Для других субстратов она была выше аэрируемых растений, но только на 20-30%. Исключение составил салицин, по отношению к которому активность β -глюкозидазы, наоборот, возрастала до 220% от уровня аэрируемых растений. С увеличением сроков действия CO_2 -среды на растения активность β -глюкозидазы возрастала менее значительно (20-30%) для салицина, α -метил-D-глюкопиранозид, ИС-гликозида, но она понижалась для р-НФГ практически в 5 раз. В то же время активность фермента по способности расщеплять ИС-гликозид возрастала в 1,7 раза. Такой эффект повышения активности β -глюкозидазы в условиях CO_2 -среды, при использовании ИС-гликозида в качестве субстрата, мы наблюдали и ранее [5], но только для частичноочищенной формы фермента, где активность β -глюкозидазы

возрастала на 30%. В нашем же опыте это происходило более значительно. Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что субстратная специфичность β -глюкозидазы лучше проявляется на высокоочищенных препаратах и она значительно меняется, если растения предварительно подвергались воздействию гипоксического стресса или CO_2 -среды.

Было обнаружено, что в условиях разных газовых сред у растений менялась не только активность фермента, но и его кинетические характеристики, такие как K_m и V_{max} . Показано, что кинетика ферментативных реакций, катализируемых β -глюкозидазой растений гороха, подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен. Как видно из данных таблицы 3, при всех сроках действия гипоксии значение K_m фермента значительно снижалось для салицина (в 1,7 раза), но возрастала для р-НФГ, α -метил- β -D-глюкопиранозид и практически не изменялась по отношению к ИС-гликозиду. CO_2 -среда вызывала возрастание величины K_m по отношению ко всем субстратам, за исключением р-НФГ. Можно предположить, что β -глюкозидаза растений гороха обладает более высокой специфичностью по отношению к ИС – гликозиду и р-НФГ, чем к другим субстратам. Различное воздействие газовых сред на величины K_m по отношению к исследуемым субстратам указывает на важную роль агликона в процессах расщепления гликозидной связи.

Таблица 3. Изменение K_m (мМ) β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых действию разных газовых сред

Экспозиция, ч Субстрат	6 часов			24 часа	
	воздух	гипоксия	CO_2 -среда	гипоксия	CO_2 -среда
Салицин	1,52±0,054	0,90±0,031	0,68±0,024	0,90±0,031	0,96±0,035
р-НФГ	0,62±0,015	1,05±0,043	1,01±0,065	0,87±0,040	0,77±0,054
α -метил- β -D- глюкопиранозид	0,76±0,023	1,02±0,044	0,71±0,034	0,90±0,032	0,45±0,012
ИС-гликозид	0,58±0,013	0,57±0,019	0,53±0,016	0,68±0,015	0,56±0,014

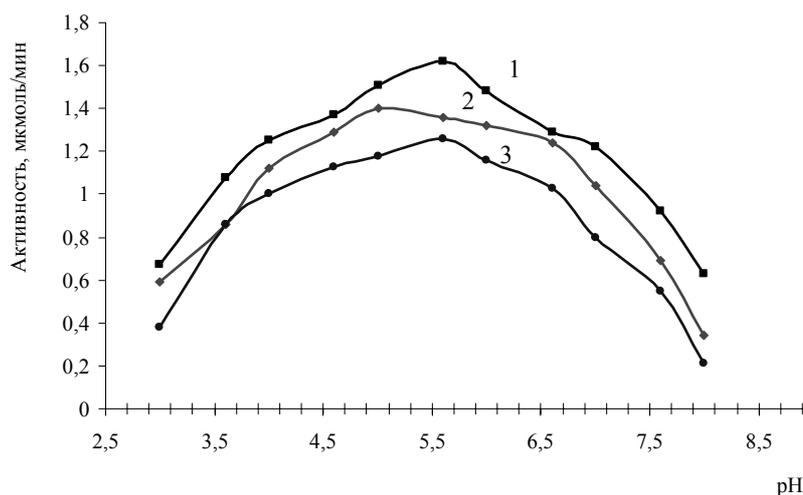


Рис. 3. Влияние pH на активность β -глюкозидазы растений гороха в условиях разных газовых сред (1-воздух, 2-гипоксия, 3- CO_2 -среда)

В опытах по изучению влияния концентрации ионов $[\text{H}^+]$ на активность цитоплазматической β -глюкозидазы проростков гороха в норме, среде диоксида углерода и гипоксии, было выявлено, что фермент может функционировать в

широком интервале рН (рис.3). Однако оптимальным значением для проявления ферментативной активности β -глюкозидазы из контрольных растений является значение рН 5,6, что совпадает с ранее полученными результатами [1]. Следует отметить, что для фермента растений, подвергнутых гипоксическому стрессу, оптимальным является значение рН 5,3. При действии CO_2 -среды на растения оптимум рН фермента практически не менялся и составил 5,5. Известно [6], что в растениях в условиях недостатка кислорода происходит накопление недоокисленных метаболитов, вызывающих снижение рН клеток и это могло вызвать сдвиг рН-оптимума фермента в область более низких значений.

Заключение

В результате исследований была разработана методика многостадийной очистки для выделения цитоплазматической β -глюкозидазы из проростков гороха, подвергнутых воздействию разных газовых сред. Полученные высокоочищенные формы препаратов фермента имели одинаковую электрофоретическую подвижность с R_f 0,39. Исследована активность и субстратная специфичность высокоочищенной цитоплазматической β -глюкозидазы проростков гороха при действии гипоксического стресса. Обнаружено повышение у растений активности фермента по отношению к природным гликозидам (салицин, ИС-гликозид), что поставляет глюкозу, необходимую для дыхательного обмена проростков в условиях дефицита кислорода. Изменялись в этих условиях и кинетические параметры β -глюкозидазы, такие как K_m и V_{max} . Величина K_m фермента имела более низкие значения у растений в условиях аэрации для ИС-гликозида и р-НФГ, что свидетельствует о высокой специфичности фермента к данным субстратам. Анализ изменения величины K_m фермента для различных субстратов позволяет предположить, что стрессовые условия вызывают определенные конформационные изменения β -глюкозидазы, затрагивающие активный центр фермента, как предполагалось ранее [10]. Выяснилось, что в условиях CO_2 -среды оптимум рН фермента оставался на уровне аэрируемых растений. Полученные данные подтверждают специфичность воздействия диоксида углерода на метаболические процессы растений, которые не связаны со сдвигом рН цитоплазмы, а являются результатом воздействия на мембранные и ферментные структуры клеток [6].

Список литературы

1. Винокурова Н.В, Ершова А.Н. Очистка, физико-химические свойства β -глюкозидазы растений гороха //Теория и практика сорбционных процессов: сб. науч. тр. 2000. С.251-257.
2. Гуриелидзе К.Г., Пасешниченко В.А., Васильева И.С. Гликогидролазы листьев и корневищ диоскореи дельтовидной *Dioscorea deltoidea wall*// Биохимия. 1987. Т.52. В.4. С.562-568.
3. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты: в 3-х т.-М: Мир, 1982. Т.2. С.515
4. Ершова А.Н., Баркалова О.Н. β -Глюкозидазы растений гороха, свойства, внутриклеточная локализация, изменение в онтогенезе //IV съезд Российского об-ва биохимиков и молекул. биологов. Новосибирск, 2008.С.235

5. Ершова А.Н., Еремина Н.А. Физико-химические и кинетические свойства клеточносвязанных молекулярных форм β -глюкозидазы проростков гороха // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т.6. Вып.3. С.432-440
6. Ершова А.Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода. ВГУ, 2007.-229с.
7. Жданов, Ю.А., Кесслер Р.М., Колоколова Н.С. Система β -гликозидаз подсолнечника. Выделение ферментов и изучение их субстратной специфичности // Биохимия. 1980. Т.45. В.12. С.2158-2163.
8. Захарова Н.С., Петрова Т.А. β -Глюкозидазы листьев и корнеплодов столовой свеклы *Beta vulgaris* // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т.36. №4. С.458-461.
9. Кунаева, Р.М. Гидролитические и окислительные ферменты обмена фенольных соединений растений / Наука, 1986. –158с.
10. Пасешниченко, В.А. β -глюкозидазы высших растений и их участие в процессах ферментации растительного сырья// Прикладная биохимия и микробиология. 1989. Т.25. В.4. С.435-449.
11. Туран Ю., Женг М. Очистка и характеристика внутриклеточной β -глюкозидазы метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* // Биохимия. 2005.Т. 70. Вып.12. С. 1656-1663.
12. Чкаников, Д.И., Тарабрин Г.А., Шабанова А.М. Локализация β -глюкозидазы в клетках высших растений // Физиология растений. 1969.Т.16. В.2. С.322-325.
13. Davis B.J. Disc electrophoresis II. Method and application to human serum protein// ann. N. Y. Acad. Sci..1994. V. 121. P. 404-427
14. Sue M., Yamazaki K. Molecular and Structural Characterization of β -D-Glucosidases in Wheat and Rye // Plant Physiology. 2006. V.141. P.1237-1247.

Ершова Антонина Николаевна – профессор, д.бн., зав. кафедрой биологии растений и микробиологии, Воронежский государственный педагогический университет

Ershova Antonina N. – Voronezh State Pedagogical University, chief of biology of plant and microbiology department, doctor of biology science, professor, e-mail: aershova@vspu.ac.ru

Баркалова Оксана Николаевна – аспирант 3 года обучения кафедры биологии растений и микробиологии Воронежский государственный педагогический университет, - e-mail: oks-bar@mail.ru

Barkalova Oksana N. – Voronezh State Pedagogical University, post-graduate student of biology of plant and microbiology department (3-rd year), e-mail: oks-bar@mail.ru,



УДК: 631.413.2

Поглощение катионов меди и цинка черноземом обыкновенным

Ульрих Д.В., Денисов С.Е.

Южно-Уральский государственный университет, Челябинск

Поступила в редакцию 07.04.2009 г.

Аннотация

Рассматриваются поглотительная способность чернозема обыкновенного по отношению к ионам меди и цинка. Для оценки поглотительной способности чернозема обыкновенного используется физико-химический метод инверсионной вольтамперометрии. Полученные результаты будут использоваться в разработке сорбционной технологии очистки почв от солей меди и цинка на загрязненных территориях.

Ключевые слова: почва, медь, цинк, адсорбция, метод

The copper and zinc cations receptivity of the common chernozem is being examined. An inverse volt-ampere physicochemical method is used to estimate the receptivity of chernozem. The obtained results are going to be used in the sorption technology being elaborated to refie soil of copper and zinc salts in the contaminated areas.

Key words: soil, copper, zinc, adsorption, method

Введение

Челябинская область – это регион, имеющий интенсивное промышленное производство, в области чрезвычайно велико влияние на окружающую среду и почву металлургической промышленности. Ежегодно производятся выбросы тяжелых металлов в размере от 750 – 800 т, из них: свинца – 144 т, хрома – 222 т, никеля – 180 т, ванадия – 88 т, меди – 95 т, цинка – 130 т, мышьяка – 151. В литературе не рассмотрено поведение ионов меди и цинка при контакте с черноземом обыкновенным. Данный вид почв нам наиболее интересен, так как он занимает большую часть территории Челябинска и Челябинской области. Цинк и медь, как и другие катионы металлов накапливаются в почве и создают неблагоприятную экологическую обстановку[1]. Исходя из этого необходим комплекс исследований для разработки технологии по реабилитации почв. Одним из этапов являться изучение поглотительной способности ионов меди и цинка черноземом обыкновенным.

Поглотительной способностью почвы называют способность почвы поглощать из водной или воздушной среды вещества в ионном, молекулярном, коллоидном виде или в виде суспензий.

Наиболее важную роль в ионном почвенном обмене играют катионы.

Физико-химическое поглощение имеет ряд закономерностей.

1) Преимущественно поглощаются катионы, так как поглощающий комплекс почвы заряжен в основном отрицательно.

2) Энергия обменного поглощения различных катионов зависит от валентности, а при одной и той же валентности - от атомной массы.

3) Интенсивность поглощения зависит от концентрации раствора, а при одинаковой концентрации - от количества раствора.

4) Поглощение и закрепление катионов зависит не только от характера ионов, но и от свойств самой почвы.

Цель исследований: Определить поглотительную способность чернозема обыкновенного по отношению к катионам металлов меди и цинка.

Задачи исследований:

1) Определить сорбционную способность почвы по целевым веществам в динамических условиях;

2) с помощью физико – химического метода инверсионной вольтамперометрии определить концентрацию меди и цинка в исследуемой почве.

Эксперимент

Слой почвы 1м*1м и высотой 30 см, отобранный на водосборе, после получения предварительных результатов анализов на содержание меди и цинка, был отправлен в химическую лабораторию для опытного исследования. В лаборатории почва с влажностью 52%, наличием гуминовых веществ от 4 до 7 % и катионным составом мг-экв/100г почвы: кальция – 32,9; магния – 7,4; натрия – 3,2 размещалась в лотки с размерами 1м*1м с присоединенным водоприемником для скопления воды после полива (рис. 1). Реакция почвенной среды до эксперимента слабощелочная.



Рис. 1. Схема лабораторного опыта

Модельные растворы, содержащие соли меди и цинка (8,0 и 11,0 мг/л, соответственно, имитируя приблизительную концентрацию металлов в дождевом стоке у шламоотвалов Челябинского электрометаллургического комбината), пропускали через лотки с почвой со скоростью 1,05 м/час, попадала в почву, после чего отбирались пробы почвы через каждые 12 часов с последующим контролем содержания ионов металлов, растворы скапливались в водоприемнике после контакта с почвой [2].

Отбор проб почв из лотков проводится в соответствии с требованиями к отбору проб почв при общих и локальных загрязнениях, изложенными в ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 17.4.4.02-84 и «Методических указаниях по проведению полевых

и лабораторных исследований при контроле загрязнения окружающей среды металлами».

Измерения по определению концентрации металлов меди и цинка, проводили с помощью метода инверсионной вольтамперометрии.

По методике [3], отношение почвы к раствору брали 1:10. Пробу почвы массой ($5,0 \pm 0,1$) г помещали в коническую колбу вместимостью 200-300 см³, к пробе добавляли 50 см³ HNO₃ (или HCl) концентрации 1 моль/дм³. Взбалтывали суспензию на ротаторе в течение часа или после трехминутного встряхивания настаивали в течение суток.

Вытяжку фильтровали через сухой складчатый фильтр с белой лентой, промытый предварительно азотной кислотой (или соляной кислотой) концентрации 1 моль/дм³. Перед фильтрованием пробу перемешивали и переносили на фильтр.

Определение металлов проводилось по методике раздельного определения Cu²⁺ и Zn²⁺, так как высота пика Zn²⁺ в пробе превышала высоту Cu²⁺.

В первую очередь необходимо было определить массовые концентрации Cu²⁺. Для этого в текущей программе изменяли потенциал накопления на -1,2 В; потенциал успокоения и начала развертки на: -0,9 В.

Проводя измерения пробы и пробы с добавками аттестованных смесей Cu²⁺, получали значения концентраций меди в исходной пробе.

Для определения Zn²⁺ в той же пробе в текущей программе устанавливали потенциал накопления: -1,5 В; потенциал успокоения и начала развертки: -1,3 В; время накопления: 2-10 секунд [3].

Проводили измерения пробы и пробы с добавкой аттестованной смеси цинка, получая в результате значения концентрации Zn²⁺ в исходной пробе.

Опыт проводили в трех повторениях с определением погрешности от $\pm 0,2$ до $\pm 0,7$ мг/кг

Обсуждение результатов

Экспериментальные данные представлены графически на рисунке 2. Динамические кривые сорбции ионов меди и цинка свидетельствуют о том, что в первые 12 часов сорбция металлов почвой незначительна: меди с 25,4 – 26,2 мг/кг и цинка с 54,2 – 55,9 мг/кг, затем наблюдается увеличение поглощения почвой исследуемых элементов. Насыщение почвы металлами происходит неравномерно: Cu²⁺ через 84 часа, достигнув концентрации 41,7 мг/кг, а Zn²⁺ через 72 часа с концентрацией 70,1 мг/кг.

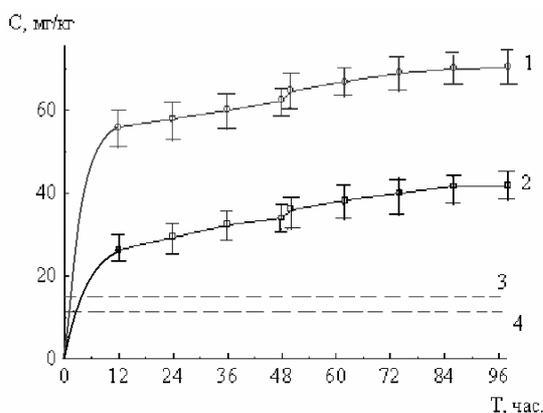


Рис. 2 Динамические кривые сорбции ионов меди и цинка черноземом обыкновенным (1 —цинк; 2 —медь; 3 — ПДК по цинку; 4 — ПДК по меди)

Катион магния не меняет своей концентрации на протяжении всего эксперимента, а у катионов кальция и натрия происходит незначительное снижение концентрации в почве, что предположительно свидетельствуют о вымывании ионов модельным раствором (таб. 1)

Таблица 1. Характеристика чернозема обыкновенного

Состав поглощенных катионов, мг-экв /100г почвы					
До эксперимента			После эксперимента		
Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺
32,9	7,4	3,2	32,8	7,4	3,0

Заключение

1. Установлено, что содержание в почве катионов Ca²⁺, Mg²⁺ и Na⁺, что не изменяется после контакта с модельными растворами, содержащими катионы Cu²⁺ и Zn²⁺.

2. Определен механизм фиксации ионов меди и цинка за счет комплексообразования с веществами гуминовой природы, имеющих в почвах (по литературным данным известно, что комплексы меди прочнее комплексов цинка, следовательно, ионы меди должны поглощаться сильнее, чем цинка).

3. Исследование образцов почвы, отобранных вблизи Челябинского электрометаллургического комбината, показали необходимость разработки метода по реабилитации почв от катионов металлов меди и цинка.

Список литературы

1. Козаченко А.П. Обоснование приемов рационального использования, обработки и мелиорации земель сельскохозяйственного назначения Челябинской области./ А.П. Козаченко – Челябинск: Изд-во ФГОУ ВПО ЧГАУ., 1999 – 141с.

2. Воскресенский П.И.. Техника лабораторных работ, М., Госхимиздат, 1962. - 534 с. С. 324-327.

3. Фоминцева Е.Е., Хустенко Л.А., Пикула Н.П. Количественных химический анализ проб почв. Методика выполнения измерений массовых концентраций цинка, кадмия, свинца и меди методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторах типа ТА. Томск. - Томский политехнический университет ООО "НПП Техноаналит". – 1995. – 95с. С 25-30.

Ульрих Дмитрий Владимирович – преподаватель кафедры «Водоснабжение и водоотведение» Южно-Уральского государственного университета, Челябинск, тел. (351) 265-36-54

Денисов Сергей Егорович – д.т.н., зав. кафедрой «Водоснабжения и водоотведения» Южно-Уральского государственного университета, Челябинск

Ulrikh Dmitry V. – a teacher of the board “Watersupply and Water – desposal” the South-Ural State University, Russia, e-mail: Ulrich.dm.25@mail.ru

Denisov Sergey E. – a cherman of the board “Watersupply and Water – desposal”, the South – Ural State University, e-mail: denisov52@mail.ru



УДК 39.543.544

Газохроматографическое определение предельных коэффициентов активности производных адамантана в полимерных неподвижных фазах различной полярности

Кудашева Н.В., Яшкин С.Н.

ГОУ ВПО "Самарский государственный технический университет", Самара

Поступила в редакцию 13.05.2009 г.

Аннотация

Методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) в широком интервале температур в области предельно малых концентраций сорбата в газовой фазе определены предельные коэффициенты активности и избыточные термодинамические функции смешения некоторых производных адамантана в полимерных неподвижных жидких фазах (НЖФ) различной полярности (OV-101, SP-2250, SP-2340 и Carbowax 20M). Исследовано влияние молекулярной структуры сорбатов, а также природы функциональных групп на значения коэффициентов активности и избыточных термодинамических функций смешения. Рассмотрена селективность исследованных НЖФ для разделения высоколипофильных производных адамантана в условиях ГЖХ.

Ключевые слова: производные адамантана, предельные коэффициенты активности, избыточные термодинамические функции смешения, полимерные неподвижные жидкие фазы, соотношения "структура-удерживание".

Activity coefficients at infinite dilution and excess thermodynamic functions of mixing of some adamantane's derivatives on polymer stationary liquid phases (SLP) with different polarity (OV-101, SP-2250, SP-2340 and Carbowax 20M) were determined by gas-liquid chromatography (GLC) in a wide range of temperatures in conditions of limiting small concentration of sorbate in gas phase. Influence of molecular structure of sorbates and the nature of functional groups on values of activity coefficients and excess thermodynamic functions of mixing is investigated. Selectivity investigated SLP for separation of high-lipophilicity derivatives of adamantane in conditions of GLC is considered

Key words: adamantane's derivatives, infinite dilution activity coefficients, excess thermodynamic function of mixing, polymer stationary liquid phases, relationships "structure-retention"

Введение

Газожидкостная хроматография является универсальным методом физико-химического исследования, позволяющим быстро и эффективно определять параметры межмолекулярных взаимодействий молекул сорбатов с различными по химической природе сорбентами. К числу таких параметров можно отнести предельные коэффициенты активности и рассчитываемые на их основе избыточные термодинамические функции смешения [1-3]. В научной литературе широко

представлены работы, посвященные ГЖХ-исследованию термодинамики межмолекулярных взаимодействий между компонентами высокомолекулярной неподвижной жидкой фазы и низкомолекулярным сорбатом [4-7]. При этом наиболее часто решаются две важнейшие задачи: 1) непосредственное исследование физико-химических свойств растворов полимеров [8]; 2) определение закономерностей и механизмов хроматографического удерживания веществ с последующей оптимизацией процесса их разделения и идентификации [9]. Однако, при использовании высокомолекулярных соединений в качестве НЖФ возникает ряд существенных трудностей, связанных как с интерпретацией получаемых физико-химических величин, так и с методикой их определения из первичных хроматографических данных. Например, молекулярная масса полимерной НЖФ, используемая для расчета мольного предельного (раулевского) коэффициента активности, как правило, не может быть измерена с достаточной точностью, и поэтому определяемые значения коэффициентов активности носят приближенный характер, что не всегда позволяет их рационально использовать в описании свойств получаемых бесконечно разбавленных растворов "полимер-сорбат" [10]. Кроме того, при описании растворов низкомолекулярных сорбатов в полимерных НЖФ неприменимыми оказываются мольные коэффициенты активности, численные значения которых независимо от наблюдаемых отклонений от закона Рауля всегда намного меньше единицы. Также важно отметить, что для многих сорбатов отсутствуют надежные данные по равновесным значениям давления насыщенного пара для систем "пар - жидкость", а для полимерных фаз имеются трудности с корректной оценкой величины молекулярной массы (среднечисловая (\overline{M}_n), либо средневесовая (\overline{M}_w)) [4], что вносит дополнительную погрешность в точность получаемых термодинамических характеристик исследуемых полимерных растворов. Вместе с тем, полимерные НЖФ занимают лидирующее положение в ГЖХ-анализе, и поэтому изучение термодинамики растворения веществ различного строения в таких фазах остается весьма актуальной задачей [11], поскольку термодинамические параметры сорбции непосредственно определяют селективность и эффективность разделения в хроматографической системе.

Проблеме определения и физико-химического обоснования коэффициентов активности низкомолекулярных сорбатов в полимерной жидкости посвящен ряд крупных исследований [6, 12-13], однако большинство из них носит описательный характер и не содержит глубокого теоретического анализа получаемых экспериментальных величин, основанного на современных представлениях о строении и свойствах растворов.

Большое распространение в ГЖХ получили полисилоксановые неподвижные жидкие фазы, благодаря их химической инертности, термической стойкости, хорошей растворяющей способности, низкой температуре стеклования, возможности широкого варьирования селективности, обусловленной относительной легкостью их химического модифицирования и т.д. [11]. В связи с этим целью настоящей работы явилось ГЖХ-определение термодинамических характеристик сорбции (коэффициентов активности и связанных с ними избыточных функций смещения) функциональных производных адамантана на полисилоксановых фазах различной полярности (OV-101, SP-2250, SP-2340) и полиэтиленгликоле марки Carbowax 20M.

Эксперимент

Хроматографические измерения осуществляли в условиях равновесной газовой хроматографии на хроматографе "Цвет-100" в изотермическом режиме с пламенно-ионизационным детектором. О равновесном характере процесса сорбции свидетельствовали симметричные пики сорбатов и независимость времен их удерживания от концентрации в вводимой пробе (область Генри) [14]. Газом-носителем служил гелий. Применялись стеклянные насадочные колонки, заполненные твердым носителем, содержащим необходимое количество НЖФ. Основные характеристики использованных НЖФ и параметры колонок приведены в таблицах 1-2. Пробы жидких при комнатной температуре веществ вводили в хроматограф 3-6 раз в виде разведенных паровоздушных смесей (1,3-диметил- и 1,3,5-триметиладамантаны). Пробы твердых веществ вводили в хроматограф 3-6 раз в виде разбавленных растворов в соответствующих растворителях. Интервалы рабочих температур варьировались в зависимости от природы сорбатов и НЖФ (см. табл. 2). Температура испарителя на 20-40°C превышала соответствующее значение температуры колонки.

Таблица 1. Важнейшие характеристики рассмотренных в работе НЖФ [11]

НЖФ	Химическая формула	Константы Мак-Рейнольдса						M_L , (г/моль)	ρ_L^{298} , (г/см ³)
		X	Y	Z	U	S	P		
OV-101	$\text{Si}(\text{CH}_3)_3 \left[\text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{Si}}}-\text{O} \right]_n \text{Si}(\text{CH}_3)_3$	17	57	45	67	43	229	30000	0.97
SP-2250	$\text{Si}(\text{CH}_3)_3 \left[\text{O}-\underset{\text{Ph}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{Si}}}-\text{O} \right]_n \text{Si}(\text{CH}_3)_3$	119	158	162	243	202	884	2600	1.12
SP-2340	$\text{Si}(\text{CH}_3)_3 \left[\text{O}-\underset{(\text{CH}_2)_3\text{CN}}{\overset{(\text{CH}_2)_3\text{CN}}{\text{Si}}}-\text{O} \right]_n \text{Si}(\text{CH}_3)_3$	520	757	659	942	800	3678	8000	1.08
CW-20M	$\text{HOCH}_2-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{O}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{O} \left[\text{O}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{O} \right]_n \text{O}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\text{CH}_2\text{OH}$	322	536	368	572	510	2308	20000	1.13

Таблица 2. Параметры использованных в работе хроматографических колонок

Параметры колонок	OV-101	SP-2250	SP-2340	Carbowax 20M
Размер	2×1200 мм	2×800 мм	2×1300 мм	2×800 мм
Твердый носитель	Chromosorb W-HP, 80/100 mesh	Supelcoport, 100/120 mesh	Supelcoport, 80/100 mesh	Chromosorb WAW, 100/120 mesh
Массовая доля НЖФ	10%	10%	15%	10%
Интервал рабочих температур, К	353-513	363-513	343-503	373-523

Структурные формулы исследованных функциональных производных адамантана представлены на рис. 1.

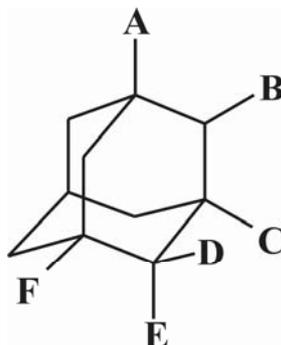


Рис. 1. Структурные формулы исследованных функциональных производных адамантана: А,В,С,Д,Е,Ф=Н (1); А=СН₃, В,С,Д,Е,Ф=Н (2); В=СН₃, А,С,Д,Е,Ф=Н (3); А,С=СН₃, В,Д,Е,Ф=Н (4); А,Д=СН₃, В,С,Е,Ф=Н (5); А,Е=СН₃, В,С,Д,Ф=Н (6); А,В=СН₃, С,Д,Е,Ф=Н (7); А,С,Ф=СН₃, В,Д,Е=Н (8); А=Сl, В,С,Д,Е,Ф=Н (9); А=Br, В,С,Д,Е,Ф=Н (10); В=Br, А,С,Д,Е,Ф=Н (11); А,С=Br, В,Д,Е,Ф=Н (12); А,С,Ф=Br, В,Д,Е=Н (13); В=O, А,С,Д,Е,Ф=Н (14); А=OH, В,С,Д,Е,Ф=Н (15); В=OH, А,С,Д,Е,Ф=Н (16); А=СН₃СО, В,С,Д,Е,Ф=Н (17)

Мольный предельный (раулевский) коэффициент активности сорбата (γ_i^∞) не может быть непосредственно измерен в условиях газохроматографического эксперимента, а определяется на основании удельного удерживаемого объема (V_g^T), с которым связан соотношением:

$$\gamma_i^\infty = \frac{R \cdot T_c}{V_g^T \cdot M_L \cdot p_i^0}, \quad (1)$$

где T_c - температура колонки (К); p_i^0 - давление насыщенного пара сорбата при T_c (Па), M_L - молекулярная масса неподвижной жидкой фазы (г/моль); $R=8,314$ (Дж/моль·К); V_g^T - удельный удерживаемый объем (м³/г) [15].

Значения удельных удерживаемых объемов V_g^T (см³/г) рассчитывали по формуле [15]:

$$V_g^T = \frac{(t_R - t_M) \cdot F_{P_i, T_a}}{g} \cdot \frac{T_c}{T_a} \cdot \frac{3 \cdot (P_i/P_a)^2 - 1}{2 \cdot (P_i/P_a)^3 - 1} \cdot \frac{P_a - P_w}{P_a}, \quad (2)$$

где t_R - время удерживания адсорбата (мин); t_M - время удерживания несорбирующегося вещества (мин); P_i - давление газа-носителя на входе в колонку (атм); P_a - атмосферное давление (атм); T_a - комнатная температура (К); T_c - температура колонки (К); F_{P_i, T_a} - объемная скорость газа-носителя при давлении P_i и температуре T_a (см³/мин); g - масса НЖФ в колонке (г), P_w - давление паров воды при T_a (атм).

Наряду с мольным предельным коэффициентом активности в хроматографической практике широкое распространение получил массовый предельный коэффициент активности (Ω_i^∞), рассчитываемый по формуле [13]:

$$\Omega_i^\infty = \frac{R \cdot T_c}{V_g^T \cdot M_i \cdot p_i^0}, \quad (3)$$

где M_i - молярная масса сорбата (г/моль).

Из температурных зависимостей γ_i^∞ (Ω_i^∞) для рассмотренных в работе сорбатов были определены значения парциальной молярной избыточной энтальпии смешения ($\overline{H}_i^{E,\infty}$) и парциальной молярной избыточной энтропии смешения ($\overline{S}_i^{E,\infty}$) [13]:

$$\ln \gamma_i^\infty = \frac{\overline{H}_i^{E,\infty}}{RT} - \frac{\overline{S}_i^{E,\infty}}{R}. \quad (4)$$

Значения парциальной молярной избыточной энергии Гиббса сорбата ($\overline{G}_i^{E,\infty}$) для конкретной НЖФ при температуре колонки T_c определяли по формуле:

$$\overline{G}_i^{E,\infty} = RT \ln \Omega_i^\infty = \overline{H}_i^{E,\infty} - T \cdot \overline{S}_i^{E,\infty}. \quad (5)$$

Погрешность экспериментального определения удельного удерживаемого объема (V_g^T) не превышала 5 %. Соответствующую статистическую обработку данных проводили с помощью методики, подробно описанной в литературе [16].

Обсуждение результатов

Определенные в настоящей работе молярные (γ_i^∞) и массовые (Ω_i^∞) коэффициенты активности исследованных функциональных производных адамантана и некоторых углеводов состава $C_{10}H_n$ приведены в табл. 3. Необходимые значения давлений насыщенных паров в равновесных системах "жидкость - пар" для изученных производных адамантана были рассчитаны нами ранее на основании принципа соответственных состояний с применением Ли-Кеслеровской формы уравнения Питцера [17], а для углеводов состава $C_{10}H_n$ использованы справочные данные [18]. Анализ приведенных в табл. 3 значений коэффициентов активности показывает, что для всех исследованных соединений величины γ_i^∞ намного меньше единицы (результат высоких значений M_L в формуле (1)), что не позволяет сделать адекватного вывода о характере отклонений получаемых растворов "полимер-сорбат" от идеального состояния, для которого принимается $\gamma_i^\infty=1$. Подобная неопределенность преодолевается, если вместо молярного коэффициента активности используется массовый, на что неоднократно указывалось в научной литературе [12]. Нужно отметить, что использование Ω_i^∞ также не лишено недостатков, поскольку его значения для сорбатов с высокими значениями молекулярной массы также могут оказаться существенно меньше единицы.

Однако подобным влиянием значений M_i на величину Ω_i^∞ в случае сорбатов с близкими M_i можно пренебречь, а относительную разницу в значениях Ω_i^∞ для систем "сорбат-полимер" с участием таких соединений следует считать результатом проявления различных по энергии типов межмолекулярных взаимодействий. Так, для НЖФ ОV-101 в ряду 1-(2-)метиладамантаны – 1-хлорадамантан – 2-адамантанон – 1-(2-)гидроксиадамантаны значения Ω_i^∞ заметно возрастают, что свидетельствует об уменьшении сродства полярных молекул сорбатов к неполярной НЖФ. С другой

стороны, для сильнополярной НЖФ Carbowax 20M наблюдается обратная зависимость: для сорбатов с близкими M_i с ростом полярности молекул значения Ω_i^∞ монотонно уменьшаются. На рис.2 приведена корреляционная зависимость между величинами групповой электроотрицательности заместителей (χ) [19] и Ω_i^∞ для соответствующих производных адамантана на НЖФ OV-101 и Carbowax 20M.

Таблица 3. Мольные (Γ_i^∞) и массовые (Ω_i^∞) предельные коэффициенты активности при бесконечном разбавлении исследованных функциональных производных адамантана при $T_c=403.15$ К.

Сорбат	$\ln(p_i^o, \text{Па})$ 403.15 К	OV-101		SP-2250		SP-2340		Carbowax 20M	
		$\gamma_i^\infty \cdot 10^3$	Ω_i^∞						
1	9.758	13.10	2.89	157.21	3.00	–	–	40.89	6.00
2	9.700	12.24	2.44	165.30	2.85	–	–	46.10	6.12
3	9.299	13.47	2.68	162.66	2.81	–	–	43.87	5.83
4	9.621	12.52	2.29	175.51	2.78	–	–	54.47	6.63
5	9.271	12.53	2.29	249.65	3.95	–	–	45.14	5.49
6	9.242	12.90	2.35	256.97	4.07	–	–	46.46	5.66
7	9.071	13.12	2.40	170.94	2.71	–	–	43.25	5.27
8	9.327	15.66	2.64	228.95	3.34	–	–	79.10	8.87
9	8.598	24.29	4.27	128.61	1.96	128.07	6.00	27.42	3.21
10	8.080	17.44	2.43	130.15	1.57	129.82	4.83	26.06	2.42
11	7.571	22.43	3.13	157.88	1.91	175.50	6.53	34.22	3.18
12	6.887	18.59	1.90	96.51	0.85	190.58	5.18	13.62	0.93
13	5.835	21.99	1.77	–	–	–	–	–	–
14	7.182	26.26	5.24	154.87	2.68	65.35	3.48	21.01	2.80
15	8.064	32.49	6.40	258.21	4.41	81.13	4.26	17.17	2.26
16	7.491	42.31	8.34	324.25	5.54	108.61	5.71	23.12	3.04
17	5.579	45.78	7.70	311.95	4.55	194.32	8.72	51.43	5.77
18	10.251	14.20	3.00	314.58	5.76	–	–	135.72	19.12
19	9.967	12.69	2.75	181.66	3.42	–	–	52.25	7.56
20	9.712	12.78	2.78	167.42	3.15	–	–	47.07	6.81
21	9.515	9.81	2.10	165.44	3.07	–	–	61.12	8.73
22	9.093	50.22	11.75	134.88	2.74	–	–	–	–

Примечание: **18** – *n*-декан; **19** – *транс*-декалин; **20** – *цис*-декалин; **21** – циклодекан; **22** – нафталин.

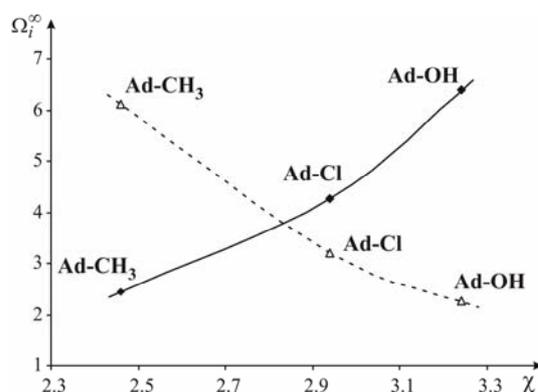


Рис.2. Корреляционная зависимость величин электроотрицательности заместителей (χ) и Ω_1^∞ (403.15 К) для производных адамантана на НЖФ OV-101 (сплошная линия) и Carbowax 20M (пунктирная линия)

В ряду изученных алкилаадамантанов с ростом полярности НЖФ значения Ω_1^∞ монотонно увеличиваются, а в ряду кислородсодержащих соединений, напротив, уменьшаются. В случае галогенпроизводных самые высокие значения Ω_1^∞ наблюдаются для поли(цианопропил)силоксановой НЖФ (SP-2340), а самые низкие для поли(фенилметил)силоксановой НЖФ (SP-2250). Близкие к единице значения Ω_1^∞ для галогенаадамантанов на SP-2250 свидетельствуют о малых отклонениях полученных растворов от идеального состояния и о высоком сродстве молекул сорбатов с данными функциональными группами к фрагментам НЖФ. Известно, что атомы галогенов могут легко вступать в индукционные и ориентационные межмолекулярные взаимодействия, характерные для легкополяризуемых фенилсодержащих полисилоксановых НЖФ [11]. Существенные отклонения от идеальности в случае НЖФ SP-2340 могут быть объяснены тем, что несущие отрицательный заряд атомы галогенов в молекулах сорбатов и содержащие повышенную электронную плотность CN-фрагменты полимерной цепи сорбента будут отталкиваться друг от друга, что, в итоге, будет ослаблять их взаимодействие. Высказанное предположение хорошо согласуется с предложенной в работе [20] Гайселером с соавт. классификацией взаимодействующих в хроматографической системе различных функциональных групп.

Использованные в работе насадочные колонки с рассмотренными полимерными НЖФ не позволяют разделить стереоизомерные молекулы (например, *цис*-/*транс*-1,4-диметилаадамантаны), для которых в условиях ГЖХ необходимо использовать длинные капиллярные колонки [21-22]. Вместе с тем на использованных относительно коротких насадочных колонках удается добиться удовлетворительного разделения соответствующих изомеров положения (1- и 2-замещенные). При этом селективность разделения соответствующих изомеров может быть оценена с помощью фактора разделения ($\alpha_{1/2}$), равного отношению коэффициентов активности для данной НЖФ. Так, из данных табл.3 следует, что для эффективного разделения монометилаадамантанов в большей степени пригодна неполярная НЖФ OV-101, для которой величина фактора селективности $\alpha_{1/2}$ наиболее отлична от единицы (0.91); для разделения изомерных 1- и 2-бромаадамантанов в большей степени пригодна НЖФ SP-2340 ($\alpha_{1/2}=0.73$), а в случае изомерных адамантанолов наибольшее различие в величинах Ω_1^∞ наблюдается для НЖФ Carbowax 20M ($\alpha_{1/2}=0.74$). Аналогичным образом могут быть рассчитаны

значения факторов разделения и для любых других пар рассмотренных соединений. Таким образом, селективность разделения близких по свойствам изомерных производных адамантана определяется их функциональной принадлежностью и степенью сродства молекул сорбатов к молекулам НЖФ. Отметим, что в литературе полностью отсутствуют данные по величинам как мольных, так и массовых коэффициентов активности для функциональных производных адамантана. Вместе с тем, имеющиеся данные по некоторым углеводородам состава $C_{10}H_n$ (n -декан, нафталин) [6] хорошо согласуются со значениями Ω_i^∞ , полученными в настоящей работе для этих соединений. Последнее непосредственно указывает на корректность определенных в данной работе величин Ω_i^∞ для адамантана и его производных.

В работе установлено, что с увеличением температуры значения предельных коэффициентов активности уменьшаются для каждой из рассмотренных пар "сорбат – полимерная НЖФ", что находится в хорошем согласии с известными литературными данными для многих других аналогичных систем [4-6, 13]. Температурные зависимости $\ln \Omega_i^\infty = f(1/T)$ для некоторых функциональных производных адамантана представлены на рис. 3. Полученные зависимости являются линейными и характеризуются достаточно высокими коэффициентами корреляции: например, для 1-гидроксиадамантана ($r^2=0.9985$, число температурных точек $N=11$), для 1-бромадамантана ($r^2=0.9935$, число температурных точек $N=11$), для 2-адамантанона ($r^2=0.9925$, число температурных точек $N=8$). Линейный характер полученных графиков позволяет с достаточной точностью определить соответствующие величины избыточных термодинамических функций смешения, которые в рамках рассматриваемого температурного интервала можно считать постоянными величинами.

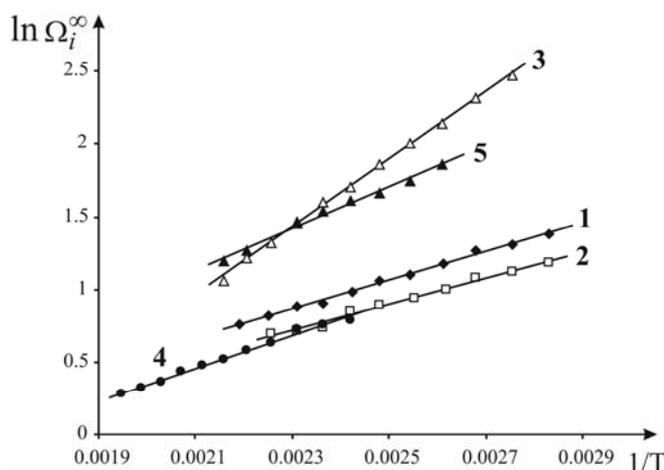


Рис. 3. Зависимости $\ln \Omega_i^\infty = f(1/T)$ для некоторых исследованных функциональных производных адамантана на НЖФ ОV-101: адамантан (1), 1-метиладамантан (2), 1-гидроксиадамантан (3), 1-бромадамантан (4), 2-адамантанон (5).

В таблице 4 приведены рассчитанные на основании температурных зависимостей величин Ω_i^∞ значения избыточных термодинамических функций смешения. Нужно отметить, что независимо от типа коэффициента активности (γ_i^∞

или Ω_i^∞) величины $\overline{H}_i^{E,\infty}$ остаются постоянными, по значениям которых можно судить о дополнительном количестве теплоты (выделившемся или поглотившемся) при образовании одного моля бесконечно разбавленного раствора сорбата в полимерной матрице. Из данных табл. 4 видно, что для всех исследованных в работе производных адамантана независимо от природы НЖФ значения $\overline{H}_i^{E,\infty} > 0$, что свидетельствует о дополнительном поглощении тепла при растворении молекул сорбатов в НЖФ относительно бесконечно разбавленного идеального раствора, для которого величина $\overline{H}_i^{E,\infty} = 0$. Для незамещенного адамантана и его алкилпроизводных значения $\overline{H}_i^{E,\infty}$ постепенно увеличиваются в ряду SP-2250 < OV-101 < Carbowax 20M. В случае бромпроизводных подобная тенденция сохраняется, а для кислородсодержащих сорбатов наблюдается иная последовательность в изменении величин $\overline{H}_i^{E,\infty}$: SP-2250 ~ SP-2340 < Carbowax 20M < OV-101. Таким образом, образование растворов с положительными значениями $\overline{H}_i^{E,\infty}$, вероятно, связано с необходимостью энергетических затрат на создание между полимерными молекулами полости для растворяющейся каркасной молекулы, поскольку они не могут внедриться в пространство между молекулами сорбента.

В отличие от величин $\overline{H}_i^{E,\infty}$ численные значения $\overline{S}_i^{E,\infty}$ сильно зависят от вида коэффициента активности. Так, величины $\overline{S}_i^{E,\infty}$, рассчитанные из зависимостей $\ln \gamma_i^\infty = f(1/T)$ в несколько раз превышают аналогичные значения, рассчитанные по зависимости $\ln \Omega_i^\infty = f(1/T)$. Подробному изучению причин наблюдаемых различий авторы планируют посвятить отдельное исследование. Отметим лишь, что при растворении производных адамантана в полимерных НЖФ величина всегда $\overline{S}_i^{E,\infty} > 0$, что может быть обусловлено объемным строением адамантового фрагмента, являющегося причиной повышенной неупорядоченности получаемых растворов "сорбат-полимер" относительно идеального раствора. Относительно высокими значениями $\overline{S}_i^{E,\infty}$ характеризуются растворы производных адамантана в НЖФ OV-101 и Carbowax 20M.

Из теории растворов известно, что характер отклонения от идеального состояния ($\ln \Omega_i^\infty = 1$ [23]) может быть обусловлен различными комбинациями энтальпийного и энтропийного факторов. Если выполняется условие, при котором $\overline{H}_i^{E,\infty} < 0$ и $\overline{S}_i^{E,\infty} > 0$, то в системе всегда будут наблюдаться отрицательные отклонения от идеальности, т.к. согласно (4) в этом случае $\ln \Omega_i^\infty < 0$, а $\Omega_i^\infty < 1$. Напротив, если $\overline{H}_i^{E,\infty} > 0$ и $\overline{S}_i^{E,\infty} < 0$, то в системе всегда будут наблюдаться положительные отклонения от идеальности, поскольку в этом случае $\ln \Omega_i^\infty > 0$, а $\Omega_i^\infty > 1$. Для обоих вариантов характерно согласованное влияние энтальпийного и энтропийного факторов на тип отклонения от идеальности [24]. Вместе с тем, зачастую наблюдается несогласованное влияние указанных факторов (например, как в нашем случае, $\overline{H}_i^{E,\infty} > 0$ и $\overline{S}_i^{E,\infty} > 0$), в результате чего возникает необходимость в

глубоком термодинамическом анализе характера отклонений от идеальности в системах "сорбат-НЖФ".

Таблица 4. Избыточные термодинамические функции смешения $\overline{H}_i^{E,\infty}$ (кДж/моль), $\overline{S}_i^{E,\infty}$ (Дж/моль·К) и $\overline{G}_i^{E,\infty}$ (при 403.15 К, Дж/моль) для исследованных функциональных производных адамантана, рассчитанные по зависимости $\ln \Omega_i^\infty = f(1/T)$

Сорбат	OV-101			SP-2250			SP-2340			Carbowax 20M		
	$\overline{H}_i^{E,\infty}$	$\overline{S}_i^{E,\infty}$	$\overline{G}_i^{E,\infty}$									
1	9.20	14.26	3.45	5.24	3.95	3.65	–	–	–	13.97	19.83	5.98
2	7.90	12.36	2.92	4.63	2.87	3.47	–	–	–	13.35	18.08	6.06
3	8.85	13.89	3.25	6.14	6.79	3.40	–	–	–	14.47	21.26	5.90
4	6.82	10.17	2.72	4.74	3.31	3.41	–	–	–	13.95	18.97	6.30
5	8.19	13.68	2.67	7.31	6.70	4.61	–	–	–	14.70	21.63	5.98
6	8.33	13.79	2.77	7.43	6.76	4.70	–	–	–	14.44	20.59	6.14
7	8.20	13.21	2.87	5.99	6.64	3.31	–	–	–	14.02	19.34	6.22
8	8.70	13.68	3.18	7.00	7.56	3.95	–	–	–	16.87	23.82	7.27
9	8.17	13.16	2.86	5.90	8.83	2.34	9.69	8.92	6.09	10.85	17.25	3.90
10	9.45	16.06	2.98	5.40	9.63	1.52	7.32	5.23	5.21	9.52	16.25	2.97
11	11.51	19.06	3.83	7.23	12.56	2.17	11.41	12.58	6.34	12.56	21.53	3.88
12	7.04	12.13	2.15	1.49	5.01	0.53	8.55	7.53	5.51	3.97	10.49	0.26
13	4.66	6.81	1.91	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14	13.12	18.60	5.62	6.52	8.03	3.28	8.14	9.74	4.21	10.25	16.86	3.45
15	19.37	32.70	6.19	15.27	25.97	4.80	10.80	14.75	4.85	10.71	19.46	2.86
16	22.61	38.63	7.04	18.36	32.44	5.28	14.22	20.79	5.84	14.12	26.73	3.34
17	17.58	26.52	6.89	12.25	17.78	5.08	13.48	15.49	7.24	16.65	26.73	5.87
18	7.84	10.14	3.75	6.75	2.60	5.70	–	–	–	12.28	6.03	9.85
19	7.85	11.06	3.39	5.80	4.44	4.01	–	–	–	13.16	15.66	6.85
20	7.38	9.79	3.43	5.21	3.66	3.73	–	–	–	12.51	14.99	6.47
21	8.67	15.33	2.49	10.58	17.08	3.69	–	–	–	15.90	21.42	7.26
22	12.24	9.74	8.31	7.10	9.37	3.32	–	–	–	–	–	–

На рис.4(а) при $T=403.15$ К сопоставлены энтальпийные ($\overline{H}_i^{E,\infty}$) и энтропийные ($T \cdot \overline{S}_i^{E,\infty}$) вклады в величину Ω_i^∞ , из которого следует, что для всех исследованных производных адамантана на полимерных НЖФ различной полярности доминирующее влияние оказывает энтальпийный фактор ($\overline{H}_i^{E,\infty} > 0$), ответственный за положительные отклонения от идеального состояния. Для исследованных в работе изологов адамантана (углеводороды состава $C_{10}H_n$: *n*-декан, *цис*-/*транс*-декалины, циклодекан и нафталин) на изученных полимерных НЖФ наблюдается аналогичная закономерность (рис.4(б)).

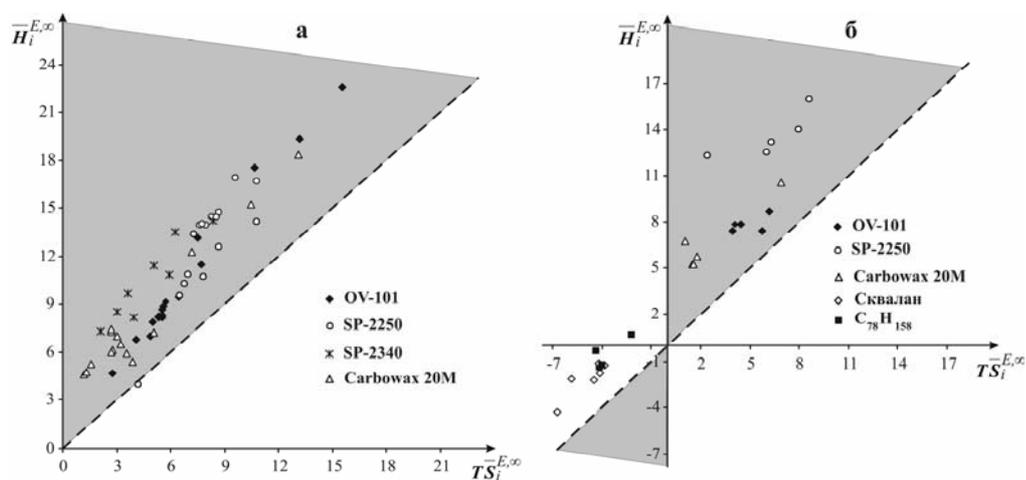


Рис. 4. Соотношение между энтальпийным ($\overline{H}_i^{E,\infty}$) и энтропийным ($T \cdot \overline{S}_i^{E,\infty}$) вкладами в величину Ω_i^∞ для растворов производных адамантана в исследованных полимерных фазах при $T_c=403.15$ К (пунктирная линия соответствует квазиидеальному раствору, в котором $\Omega_i^\infty=1$; заштрихованная область соответствует значениям Ω_i^∞ , для которых энтальпийный вклад доминирует)

Однако, в случае углеводородных НЖФ ($C_{30}H_{62}$ (Сквалян) [25], $C_{78}H_{158}$) [26], как видно из рис.4(б), доминирующее влияние на значения Ω_i^∞ оказывает энтропийный фактор также приводящий к $\Omega_i^\infty > 1$. Важно отметить, что для систем " $C_{10}H_n - C_{30}H_{62}$ ($C_{78}H_{158}$)" величины $\gamma_i^\infty < 1$, в то время как значения $\Omega_i^\infty > 1$, что может приводить к различным трактовкам характера отклонений от идеальности. Видимо, совместное использование двух типов коэффициентов активности (γ_i^∞ и Ω_i^∞) для одной системы не совсем корректно, и поэтому в практике термодинамического анализа растворов посредством ГЖХ-метода уместно придерживаться следующих рекомендаций [12]: выбор мольной доли x_i (в случае γ_i^∞) как реперной функции для корректировки активности является подходящим тогда, когда раствор образован молекулами сопоставимых размеров (случай регулярных растворов); если же размеры молекул сорбата и сорбента на несколько порядков отличны друг от друга, то целесообразнее применение массового коэффициента активности.

Заключение

В настоящей работе впервые в условиях ГЖХ определены значения мольных и массовых коэффициентов активности функциональных производных адамантана в растворах полимерных НЖФ различной полярности. Установлен характер отклонения предельно разбавленных растворов исследованных соединений от идеальности, а также определены избыточные термодинамические функции смешения, позволяющие сделать вывод о природе межмолекулярных взаимодействий в растворах каркасных молекул с различными заместителями. Сделан вывод о селективности разделения производных адамантана на различных по полярности НЖФ.

Список литературы

1. Laub R.J., Pecsok R.L. Physicochemical application of gas chromatography. John Wiley&Sons, New York. 1978. 300 p.
2. Conder J.R., Young C.L. Physicochemical measurement by gas chromatography. John Wiley&Sons, New York. 1979. 632 p.
3. Морачевский А.Г., Смирнова Н.А., Балашова И.М., Пукинский И.Б. Термодинамика разбавленных растворов неэлектролитов. Л.: Химия. 1982. 240 с.
4. Galin M. Gas-chromatographic investigation of the thermodynamic interactions of poly(dimethylsiloxane) or poly(diethylsiloxane) with some solvents // *Macromolecules*. 1977. V.10. №6. P.1239-1244.
5. Humpa O., Uhdeová, Roth M. Thermodynamics of poly(methylphenylsiloxane)-alkane systems by gas-liquid chromatography // *Macromolecules*. 1991. V.24. №9. P.2514-2517.
6. Santiuste J.M. Contribution to the study of solute-stationary phase retention interactions in terms of activity coefficients obtained by gas-liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta*. 2001. V.441. №1. P.63-72.
7. Sorensen E., Hao W., Alessi P. Infinite dilution activity coefficients in poly(ethylene glycol) // *Fluid Phase Equilibria*. 1990. V.56. P.249-256.
8. Нестеров А.Е. Обращенная газовая хроматография полимеров. Киев: Наукова думка. 1988. 184 с.
9. Гишон Ж., Гийемен К. Количественная газовая хроматография для лабораторных анализов и промышленного контроля. М.: Мир. 1991. 582 с.
10. Martire D.E. Dependence of solute retention parameters on stationary phase molecular weight in gas-liquid chromatography // *Anal. Chem*. 1974. V.46. №6. P.626-633.
11. Rotzsche H. Stationary phases in gas chromatography. Elsevier. New York. 1991. 410 p.
12. Patterson D., Tewari Y.B., Schreiber H.P., Guillet J.E. Application of gas-liquid chromatography to the thermodynamics of polymer solutions // *Macromolecules*. 1971. V.4. №3. P.356-359.
13. Santiuste J.M. Solute-solvent interactions between a range of solutes and trifluoropropyl siloxane stationary phases in terms of gas-liquid chromatography activity coefficients // *Chromatographia*. 2002. V.56. №1/2. P.81-90.
14. Иогансен А.В., Киселев А.В., Сакодынский К.И., Карнаухов А.П., Буянова Н.Е., Яшин Я.И. Физико-химическое применение газовой хроматографии. М.: Химия. 1973. 256 с.
15. Онучак Л.А., Буланова А.В., Егорова К.В., Арутюнов Ю.И. Номенклатура в хроматографии. Основные понятия. Терминология. Термодинамические характеристики сорбционного процесса. Самара. Изд-во "Самарский университет". 1999. 35 с.
16. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. М.: Химия. 1986. 272 с.
17. Яшкин С.Н., Кудашева Н.В. Определение равновесных параметров "жидкость - пар" для адамантана и его функциональных производных. Сообщение 2. Критические параметры и давления насыщенных паров // *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2009. Т.52. №8. (в печати).
18. Dean J.A. Lange's handbook of chemistry (15-th edition). New York. Donnelley R.R.& Sons. 1999. 1291 p.
19. Campanelli A.R., Domenicano A., Ramondo F., Hargittai I. Group electronegativities

from benzene ring deformations: a quantum chemical study // J. Phys. Chem. A. 2004. V.108. №22. P.4940-4948.

20. Geisler G., Seidel H. Die Wasserstoffbrückenbindung. Berlin. Akademie-Verlag. 1977. P.15-16.

21. Багрий Е.И. Адамантаны. М.: Наука. 1989. 264 с.

22. Яшкин С.Н., Светлов Д.А., Новоселова О.В., Яшкина Е.А. Экспериментальное и молекулярно-статистическое исследование адсорбции алкиладамантанов на графитированной термической саже // Изв. АН. Сер. хим. 2008. Т.57. №12. С.2422-2432.

23. Blokhina S.V., Usol'tsevab N.V., Ol'khovicha M.V., Sharapova A.V. Thermodynamics of solution in liquid crystalline poly(propyleneimine)dendrimers by inverse gas chromatography // J. Chromatogr. A. 2008. V.1215. №1-2. P.161-167.

24. Дуров В.А., Агеев Е.П. Термодинамическая теория растворов. М.: УРСС. 2003. 248 с.

25. Новоселова О.В. Термодинамика сорбции насыщенных карбоциклических углеводородов в условиях газовой хроматографии. Дисс. канд. хим. наук. Самара. СамГТУ. 2008. 200 с.

26. Dallos A., Kresz R. Infinite dilution activity coefficients, specific retention volumes and salvation thermodynamics of hydrocarbons in C₇₈H₁₅₈ branched alkane solvent // Fluid Phase Equilibria. 2006. V.248. P.78-88.

Яшкин Сергей Николаевич, к.х.н., доцент кафедры «Аналитическая и физическая химия» ГОУ ВПО Самарский государственный технический университет, Самара, тел. 8 (846) 3322251

Кудашева Наталья Владимировна, ассистент кафедры «Аналитическая и физическая химия», ГОУ ВПО Самарский государственный технический университет, Самара, тел. 8 (846) 3322251.

Yashkin Sergey N., Ph. D. in physical chemistry, the lecturer of Department of Analytical and Physical Chemistry, Samara State Technical University, Samara, e-mail: physchem@samgtu.ru

Kudasheva Natalia V. – assistant of Department of Analytical and Physical Chemistry, Samara State Technical University, Samara, e-mail: physchem@samgtu.ru



УДК 541.64:678.01

Целлюлозно-неорганические сорбенты в радиохимическом анализе II. Синтез и свойства сорбента АНФЕЖ®

Ремез В.П.

Уральский научно-исследовательский химический институт (УНИХИМ), Екатеринбург

Зеленин В.И., Смирнов А.Л., Распопин С.П.,
Матерн А.И., Моржерин Ю.Ю.

Уральский государственный технический университет – УПИ, Екатеринбург

Поступила в редакцию 22.06.2009 г.

Аннотация

Проведены исследования условий синтеза и свойств целлюлозно-неорганического сорбента для извлечения радионуклидов из водных растворов АНФЕЖ®. Определены оптимальные условия его синтеза для использования в процессе сорбции цезия-137.

Ключевые слова: целлюлозно-неорганические сорбенты, сорбция, ферроциансодержащие растворы, модификация, радиометрический анализ, радионуклиды.

The conditions of synthesis and properties of the cellulose inorganic sorbate АНФЕЖ®, suitable for extraction of radio nuclides from aqueous solutions, have been studied. Optimal conditions of its synthesis were determined for obtaining material suitable for cesium-137 sorption.

Key words: cellulose-inorganic sorbates, sorption, ferrocyanide-containing solutions, modification, radiometric analysis, radio nuclides

Введение

Химическое модифицирование неорганических соединений широко применяется для синтеза сорбентов с заданными свойствами [1, 2]. Использование анионообменной функции оксигидратов для модифицированных ТНС в ферроцианиды, фосфаты и оксисульфиды описано в работах [3]. Особый интерес представляет возможность получения ЦНС ферроцианида железа-калия, обладающего рядом уникальных свойств, благодаря которым он оказался востребованным на протяжении последних десятилетий [4]. Поэтому актуальным представляется оптимизация процессов модифицирования образцов гидроксида железа (III) с использованием различных методов получения ферроцианида железа-калия, например путём обработки гидроксида растворами железисто-синеродистого калия.

Результаты и их обсуждение

Радиохимические эксперименты по исследованию превращения гидроксида железа в ферроцианид проводили по следующей методике: гранулы целлюлозы, покрытые слоями гидроксида, помещали в растворы, содержащие железистосинеродистый калий, меченный углеродом-14. Степень модификации определяли по изменению содержания ферроцианид-ионов в растворе, радиометрируя пробы на установке УМФ-1500 со счётчиком СБТ-13. Поскольку для проведения реакции необходимо, чтобы гидроксид железа диссоциировал по основному типу, модифицирование проводили в кислой среде, в интервале $\text{pH} = 1,0-2,5$. При меньшем содержании кислоты взаимодействие проходит менее активно, так как дегидроксилирование гидроксида железа в этих условиях незначительно. В растворах со значением $\text{pH} < 1$ происходит пептизация образующихся слоев ферроцианида железа, а, следовательно, и снижение выхода ферроцианид-ионов в твёрдую фазу. Зависимость степени сорбции ферроцианид-иона и состава образующегося ферроцианида железа от условий модифицирования показана в табл. 1.

Во всех экспериментах модифицирование проводили при pH равновесного раствора, равного 2,2-2,5. За изменением содержания калия следили, используя радионуклид калий-42.

Представленные данные позволяют сделать вывод о том, что процесс модифицирования происходит в три стадии [5, 6].

На первой стадии, при недостатке цианоферрат-ионов, идёт образование нормального ферроцианида железа $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$. Эта стадия идёт при отношениях $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+} \leq 0,5$ в исходной системе "гидроксид железа - железистосинеродистый калий - H_2O ".

Таблица 1. Зависимость состава ферроцианида железа-калия от условий модифицирования растворами железисто-синеродистого калия

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+}$ в исходной системе	Содержание калия, ммоль/(грамм сорбента)	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+}$ в сорбенте после модификации
0,1	0,001	0,1
0,3	0,004	0,3
0,5	0,007	0,5
0,7	0,020	0,58
1,0	0,046	0,66
2,0	0,211	1,54
4,0	0,850	2,88
6,0	0,804	2,81
8,0	0,840	2,87

При отношениях в исходной системе $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+}$ в интервале от 0,5 до 2 происходит поглощение молекул $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ слоями ранее образовавшегося нормального ферроцианида железа $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$. При этом формируются слои смешанного ферроцианида железа-калия состава $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. С дальнейшим увеличением содержания железистосинеродистого калия в исходном

модифицирующем растворе образуются малоустойчивая твёрдая фаза переменного состава $KFe[Fe(CN)_6] \cdot n K[Fe(CN)_6]$, где n - переменная величина, зависящая от концентрации $K_n[Fe(CN)_6]$ в исходном растворе. Это соединение, в отличие от нормального и смешанных ферроцианидов железа растворимо в воде, поэтому в случаях его образования происходит переход некоторой доли ферроцианида железа из твёрдой фазы в раствор, что является причиной снижения сорбции ферроцианид-ионов в процессе модифицирования.

Одновременно с растворением фазы переменного состава в раствор переходит и железо, находящееся в слоях гидроксида железа (III). Это было показано экспериментами, в которых после модифицирования образующийся ферроцианидный слой удаляли трёх молярным раствором едкого натра, а оставшиеся слои гидроксида анализировали на содержание железа (III). Результаты представлены в таблице 2.

Исходя из того, что исследуемый сорбент представляет собой композиционный материал, т.е. инертные в сорбционном отношении гранулы, покрытые слоем ферроцианида, то необходимо оперировать двумя коэффициентами распределения:

K_{d1} - коэффициент распределения микрокомпонента, рассчитанный на грамм сорбирующего вещества;

K_{d2} - коэффициент распределения, рассчитанный на грамм всего композиционного материала.

Первый коэффициент характеризует сорбционные свойства только ферроцианидного слоя, второй является показателем свойств всего ЦНС.

Таблица 2. Зависимость содержания железа в сорбенте от условий модифицирования растворами железисто-синеродистого калия

$[Fe(CN)_6]^{4-}/Fe^{3+}$ в исходной системе	Содержание железа в исходном ЦНС, ммоль/г	Содержание железа в гидроксиде после модифицирования, ммоль/г
0,1	0,35	0,35
0,3	0,35	0,35
0,5	0,35	0,32
1	0,35	0,31
4	0,35	0,29
6	0,35	0,21
8	0,35	0,18

Сорбенты с разным удельным содержанием ферроцианида железа-калия были приготовлены модифицированием тонкослойного гидроксида железа, содержащего 0,30 ммоль железа на грамм целлюлозы, растворами железистосинеродистого калия разной концентрации. Коэффициенты распределения рассчитывали по формулам:

$$K_{d1} = \frac{S}{100 - S} \cdot \frac{V}{m_c} \quad (1)$$

$$K_{d2} = \frac{S}{100 - S} \cdot \frac{V}{m_c + m_n}, \quad (2)$$

где m_c - масса сорбирующего материала; m_n - масса носителя; S - процент сорбции микрокомпонента; V - объём раствора.

Для сорбентов, содержащих от 10 до 70 мг/г ферроцианида, значение K_{d1} постоянно и не зависит от толщины ферроцианидного слоя, то есть толщина слоя ферроцианида железа в данном диапазоне равна толщине сорбционного слоя h_c . Если учесть, что K_{d2} для интервала C_T от 10 до 70 мг/г имеет максимальное значение для сорбента, содержащего 70 мг (или 0,19 ммоль) ферроцианида на грамм ЦНС, то наиболее выгодно использовать именно этот сорбент для извлечения цезия из морской воды. Зная, что содержание железа (III) в гидроксиде железа перед модифицированием в ферроцианид составляло 0,3 ммоль/г, рассчитываем отношение $[Fe(CN)_6]^{4-}/Fe^{3+}$, характеризующее выбранный сорбент: $0,19 / 0,30 = 0,63$. С учётом этого находим, что оптимальное содержание железистосинеродистого калия в модифицирующем растворе, необходимом для получения сорбента с соотношением $[Fe(CN)_6]^{4-}/Fe^{3+} = 0,63$, должно соответствовать соотношению $[Fe(CN)_6]^{4-}/Fe^{3+} = 1$ в исходной системе модифицирования.

В то же время необходимо отметить, что использование для модифицирования растворов с содержанием железистосинеродистого калия соответствующим соотношению в исходной системе $[Fe(CN)_6]^{4-}/Fe^{3+} < 1$, является нецелесообразным, т.к. полученные в таких условиях ферроцианидные сорбенты будут иметь небольшую ёмкость.

Таблица 3. Коэффициенты распределения микрокомпонентов при сорбции ЦНС АНФЕЖ®

Радионуклид	Тип морской воды	Значения коэффициента распределения, мл/г	Режим испытаний
Рубидий-86	Натуральная	$(76 \pm 4) \cdot 10^4$	Статический
Цезий-137	Натуральная	$(9,4 \pm 0,7) \cdot 10^5$	Статический
Цезий-137	Имитат	$(1,1 \pm 0,8) \cdot 10^6$	Статический
Медь-64	Имитат	$(1,8 \pm 0,4) \cdot 10^4$	Статический
Цинк-65	Натуральная	$(4,2 \pm 0,2) \cdot 10^2$	Статический
Стронций-89	Имитат	$(2,1 \pm 0,8) \cdot 10^2$	Статический
Стронций-89	Натуральная	$(1,2 \pm 0,4) \cdot 10^2$	Статический
Иттрий-91	Имитат	$(4,7 \pm 0,7) \cdot 10^4$	Динамический
Иттрий-91	Натуральная	$(6,8 \pm 0,1) \cdot 10^4$	Динамический
Хром-51	Имитат	$(2,2 \pm 0,2) \cdot 10^4$	Статический
Марганец-54	Натуральная	$(3,1 \pm 0,4) \cdot 10^3$	Статический
Железо-59	Имитат	$(6,2 \pm 0,5) \cdot 10^4$	Динамический
Железо-59	Натуральная	$(1,4 \pm 0,2) \cdot 10^4$	Динамический
Рутений-106	Имитат	$(2,1 \pm 0,3) \cdot 10^2$	Статический
Кобальт-56	Натуральная	$(4,2 \pm 0,2) \cdot 10^4$	Динамический
Кобальт-56	Имитат	$(3,8 \pm 0,4) \cdot 10^4$	Динамический

Исследования химической устойчивости ферроцианида железа-калия показали что он может быть использован для концентрирования микрокомпонентов из растворов, имеющих рН=от 1 до 9.

Сорбционные характеристики ЦНС АНФЕЖ[®] исследовали в натуральной морской воде и её имитате. В таблице 3 представлены коэффициенты распределения, полученные при исследовании сорбции некоторых радионуклидов в статическом режиме. Состав сорбента соответствовал отношению $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/\text{Fe}^{3+} = 0,7$, время выдержки метки в растворе составило 24 часа. Из полученных данных видно, что ЦНС АНФЕЖ[®] может быть успешно использован для концентрирования цезия, меди, иттрия, хрома, железа и кобальта из морской воды.

Заключение

1. Из данных, полученных при радиохимическом исследовании процесса модифицирования гидроксида железа в смешанный ферроцианид железа-калия, следует, что состав слоев образующегося ферроцианида зависит от мольного соотношения $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+}$ в исходной системе. При соотношении менее 0,5 образуется нормальный ферроцианид железа, в интервале от 0,5 до 2 происходит поглощение молекул

2. Железистосинеродистого калия слоями ранее образовавшегося нормального ферроцианида железа, что приводит к образованию смешанного ферроцианида железа-калия. При соотношении $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / \text{Fe}^{3+} > 2$ образуется малоустойчивая твердая фаза переменного состава.

3. Установлено, что оптимальная для модифицирования концентрация ионов водорода в равновесной системе «гидроксид железа – железистосинеродистый калий – вода» находится в интервале $10^{-1} - 10^{-3}$ моль/л.

4. Разработана технология получения сорбента АНФЕЖ[®] повышенной радиохимической чистоты марки А.

Проведенные исследования сорбции ряда радионуклидов из имитата и натуральной морской воды ЦНС АНФЕЖ[®] в статических и динамических условиях позволили сделать вывод о возможности применения АНФЕЖ[®] для концентрирования цезия, кобальта, иттрия, железа, хрома и меди из морской воды.

Список литературы

1. Вольхин В.В., Егоров Ю.В., Белинская Ф.А. и др. Неорганические сорбенты// Ионный обмен. – М.: Наука, 1981. – С. 25 – 44.

2. Baron V., Caletka R., Tampl M., Urbanek V. Application of the sol-gel method for the preparation of some inorganic ion-exchangers in spherical form // J. of Radioanalyt. Chem. – 1975. – v. 24, № 2. – pp. 353 – 359.

3. Бетенеков Н.Д., Егоров Ю.В., Пузако В.Д. Применение тонкослойных неорганических сорбентов в гидрометаллургии и радиохимии. - Межвуз. Сб. науч. Трудов. «Химия и технология неорганических сорбентов», Пермь, 1980. – С. 115 – 120.

4. Результаты радиоэкологического обследования района гибели атомной подводной лодки "Курск"// журнал "Метеорология и гидрология", 2000, №10.

5.Ремез В.П., Сингуров С.Ю. Зависимость сорбционных свойств ферроцианида железа от его состава // Тез. докл. конф. «Физико-химические основы природы селективности неорганических сорбентов», Свердловск, 1979. – С. 37 – 40.

6.Ремез В.П., Сингуров С.Ю. Исследование химизма модифицирования оксигидратных пленок железа в смешанные ферроцианиды железа-калия // Тез. докл. II Всесоюзной Конференции «Неорганические ионообменные материалы», Ленинград, 1980. – С.109 – 110.

Ремез Виктор Павлович – д.т.н., зав. лабораторией 420 Уральского научно-исследовательского химического института (УНИХИМ)

Зеленин Виктор Иванович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Смирнов Алексей Леонидович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Распопин Сергей Павлович – д.т.н., проф. кафедры редких металлов и наноматериалов Уральского государственного технического университета –УПИ

Матерн Анатолий Иванович – д.т.н., проф., зав. кафедрой аналитической химии, ректор Уральского государственного технического университета –УПИ

Моржерин Юрий Юрьевич – д.т.н., проф. кафедры технологии органического синтеза Уральского государственного технического университета –УПИ

Remez Victor P. - Dr.Sci.Tech., head of the Laboratory 420 Ural Research Chemical Institutes (URCI)

Zelenin Victor I. - Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI, e-mail: vizel@isnet.ru

Smirnov Alexey L.- Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI

Raspopin Sergey P.- Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of rare metals and nanomaterials of the Ural State Technical University-UPI

Matern Anatoly I. - Dr.Sci.Tech., the professor, зав. Faculty of analytical chemistry, the rector of the Ural State Technical University-UPI

Morzherin Jury Ju. – Dr.Sci.Tech., the professor of faculty of technology of organic synthesis of the Ural State Technical University-UPI