



## 75 лет химическому факультету Воронежского государственного университета

Афиногенов Ю.П.

В текущем году химический факультет ВГУ будет отмечать свое семидесятипятилетие. Его первые учебные и научные лаборатории были созданы еще в 1918 году профессором А.Д. Богоявленским и ассистентом Н.И. Виноградовым. Первым деканом факультета был выдающийся ученый, член – корреспондент АН СССР, профессор А.В. Думанский. В разные годы в становлении и развитии факультета большую роль сыграли такие крупные российские ученые – химики, как профессора ВГУ Н.В. Култашев (ученик Г. Таммана), А.П. Палкин (ученик академика Н.С. Курнакова), Б.И. Михантьев (ректор ВГУ в 1953-1964 гг.), В.П. Мелешко (ректор ВГУ в 1964-1974 гг.), ректор ВГУ в годы Великой Отечественной войны Н.Н. Глистенко, проректоры - профессора А.Я. Шаталов, Я.А. Угай, Ф.Г. Пономарев, Л.П. Залукаев, Г.А. Чикин. Не без влияния работ выдающегося русского ученого профессора М.С. Цвета (зав. кафедрой ботаники ВГУ в 1918 г.) на факультете сложилась научная школа профессора В.П. Мелешко в области ионного обмена и хроматографии. Впоследствии профессорами А.П. Палкиным, Я.А. Угаем и А.Я. Шаталовым были созданы научные школы в области неорганической и физической химии, получившие широкое признание научной общественности.

В настоящее время в едином учебно-научно-воспитательном процессе на факультете участвуют кафедры общей, неорганической, органической, аналитической, физической химии, химии высокомолекулярных соединений и коллоидов, Научно-исследовательский институт химии с двумя проблемными лабораториями и четырьмя совместными научными лабораториями с НИИ РАН: «Ионообменная хроматография» (кафедра аналитической химии и ИФН РАН); «Электронное строение твердого тела» (кафедра неорганической химии и ИОНХ РАН); «Эллипсометрические методы исследования материалов» (кафедра неорганической химии и Институт неорганической химии СО РАН); «Сопряженные процессы в электрохимии и коррозия металлов» (кафедра физической химии и ИФХ РАН). Созданы учебно-научно-производственные комплексы с ОАО «Воронежсинтезкаучук», с КБ Химавтоматики, с Институтом проблем химической физики РАН (г. Черноголовка).

На факультете по специальности 020101 – Химия и направлению 020100 – Химия (бакалавриат, магистратура) обучается 550 студентов (дневная и вечерняя форма). Специализации факультета: неорганическая, аналитическая, физическая, органическая химия, химия ВМС, медицинская химия; химия окружающей среды, химическая экспертиза и экологическая безопасность; химия твердого тела. В магистратуре студенты обучаются по следующим программам: «Неорганическая химия», «Физическая химия», «Аналитическая химия», «Органическая химия», «Химия твердого тела» и «Химия окружающей среды».

В рамках специальности и направления студенты приобретают глубокие знания в области современного материаловедения (наноэлектроника, технология новых материалов и т.п.), коррозии и защиты металлов, создания электрохимических источников токов, «скелетных катализаторов». Они изучают и синтезируют разнообразные полимеры и биологически-активные вещества, которые могут быть использованы в качестве эффективных лекарственных препаратов, стимуляторов роста растений, ингибиторов коррозии металлов и т.п. Большое внимание уделяется подготовке специалистов, которые могут решать экологические проблемы, связанные с загрязнением окружающей среды

сточными водами, газовыми выбросами, создавать и применять экологически чистые технологии, осуществлять контроль за состоянием окружающей среды.

В 2008 году открывается прием абитуриентов на новое межфакультетское направление «Химия, физика и механика материалов» (руководитель – член-корр. РАН, профессор В.М. Иевлев), в рамках которого студенты будут решать разнообразные проблемы современного материаловедения. Здесь – синтез и изучение структуры новых материалов (нанокompозиты, магнитные, экологически безопасные и т.д.), кинетика и механизм твердофазных реакций в процессах синтеза, фазовые равновесия и диаграммы состояния, твердофазные процессы, процессы коррозии, физикохимия и технология новых функциональных материалов и т.п. Студенты будут изучать и использовать современные экспериментальные методы физики конденсированного состояния.

Кафедры факультета традиционно активно вовлекают студентов в единый учебно-научный процесс, начиная со второго-третьего курсов. Тем самым обеспечивается высокий уровень дипломных работ и магистерских диссертаций, в большинстве своем защищаемых на отлично и рекомендуемых к публикации, стимулируется желание студентов заниматься самообразованием на основе современных информационных технологий. Лучшим студентам факультета регулярно присуждаются именные стипендии Президента и Правительства Российской Федерации, многие из них являются лауреатами различных конференций и конкурсов, награждены серебряными медалями РАН, дипломами и медалями Минобразования РФ за лучшую научную работу.

Все преподаватели факультета имеют ученые степени доктора (24 человека) или кандидата наук (37 человек). Среди них шесть преподавателей являются Заслуженными деятелями науки и Заслуженными работниками высшей школы РФ, пять – награждены знаком «За заслуги перед Воронежским государственным университетом», семь человек являются Почетными работниками ВГУ.

Кафедры факультета активно работают в области подготовки и кадров высшей квалификации через аспирантуру и докторантуру не только для внутренних потребностей, но и для области, и региона. Успешно уже несколько лет функционируют два специализированных совета по защите кандидатских и докторских диссертаций по специальностям: неорганическая, физическая, аналитическая, органическая химия, электрохимия, химия твердого тела.

Научные исследования на факультете традиционно развиваются на стыке различных дисциплин. В этом отношении имеются в виду не только совместные межкафедральные исследования внутри факультета, но и тесные связи кафедр факультета с кафедрами физического, биолого-почвенного, фармацевтического и других факультетов. Эти исследования сосредоточены на решение проблем по двум основным направлениям: «Физико-химические и электрохимические процессы на границах раздела многокомпонентных фаз» и «Разработка научных основ синтеза и исследование новых органических соединений, фармсредств, полимеров и их коллоидных дисперсий».

В лабораториях кафедры общей химии исследуются фазовые превращения в многокомпонентных системах и процессы формирования твердотельных структур. Научный поиск сотрудников кафедры находится в разных областях химии твердого тела и включает в себя изучение фазовых диаграмм, областей нестехиометрии промежуточных фаз и твердых растворов между ними, механизмов дефектообразования в твердофазных системах. Значительное внимание уделяется процессам, протекающим в тонкопленочных структурах при их синтезе и различных внешних воздействиях (термического, лазерного и др.). Данное научное направление включает и моделирование физико-химических процессов в многокомпонентных тонкопленочных гетероструктурах. Исследуются физико-химические процессы формирования пленок сульфидов металлов, разрабатываются основы синтеза тонких слоев полупроводниковых объектов с использованием координационных соединений. Возглавляют эти работы заведующий кафедрой, Заслуженный работник ВШ РФ профессор Е.Г. Гончаров, профессора А.М. Ховив и В.Н. Семенов.

Сотрудники и студенты кафедры неорганической химии проводят исследования в рамках научной школы лауреата Государственной премии СССР профессора Я.А. Угая в

области химии твердого тела и полупроводников, процессов в их объеме и на поверхности. Работа проводится в двух основных направлениях: «Исследование кинетики и механизмов сложных многокомпонентных гетерогенных реакций типа «твердое тело – газ» и «твердое тело – твердое тело» в процессах хемостимулированного термического окисления поверхности полупроводников» и «Изучение физико-химических свойств объемных и пленочных полупроводниковых материалов, обладающих сенсорными свойствами». Активно исследуются процессы роста кристаллов в водных системах при низких температурах. Исследования последних лет посвящены новым функциональным нанокерамическим и биосовместимым материалам, разработке методов их синтеза и установлению механизма процессов в соответствующих системах. Руководят исследованиями профессора И.Я. Миттова (заведующая кафедрой), О.Б. Яценко и доктор химических наук А.М. Самойлов.

Сотрудники и студенты кафедры аналитической химии продолжают во главе с профессорами В.Ф. Селеменевым (заведующий кафедрой), В.А. Шапошником, О.В. Бобрешовой, Д.Л. Котовой развивать традиции, заложенные научной школой «Ионный обмен и хроматография» Заслуженного деятеля науки РФ, профессора В.П. Мелешко. Основные научные направления сосредоточены в области ионного обмена и хроматографии физиологически активных веществ и мембранных методов разделения, концентрирования и очистки веществ. Кафедра является ведущей в регионе по разработке принципов очистки и анализа природных вод и сточных вод гальванических производств, переработке отходов сельскохозяйственного производства, создания основ выделения физиологически активных веществ из полупродуктов пищевых и микробиологических производств. В настоящее время интенсивно развиваются методы сенсорного анализа различных природных и синтетических веществ, широко используются методы квантово-химических расчетов и математического моделирования в разработке технологий переработки отходов.

Научные исследования на кафедре физической химии проводятся в рамках научной школы Заслуженного деятеля науки РФ, профессора И.К. Маршакова «Электрохимия металлов и интерметаллических фаз». В рамках этого направления проведено систематическое изучение одного из самых опасных видов коррозионных поражений сплавов – селективной коррозии. К важнейшим результатам последних лет следует отнести обоснование нового принципа управления химическими и электрохимическими процессами на границе раздела металла, сплава или металлосодержащего сорбента с раствором электролита, использующего эффект взаимовлияния, сопряжения отдельных стадий одновременно протекающих на электроде реакций. В практическом плане развиваемая концепция в ближайшие годы получит практическую реализацию в виде эффективных и нетрадиционных технологий получения «скелетных» катализаторов, электрокаталитического синтеза или деструкции органических соединений, разработки сплавных электродов для химических источников тока и топливных элементов и т.д. Координирует исследования заведующий кафедрой, профессор А.В. Введенский.

Коллектив кафедры органической химии проводит научные исследования под лозунгом одной из важнейших проблем теоретической и практической органической химии «Взаимосвязь между структурой молекулы, ее реакционной способностью и физиологической активностью». Был синтезирован и внедрен в практику ряд эффективных сердечно-сосудистых препаратов, стимуляторов роста растений, стабилизаторов полимеров, ингибиторов коррозии металлов, микродобавок для электрохимических процессов. В настоящее время исследования проводятся по теме «Разработка методов синтеза и исследования новых биологически активных веществ на основе азот-, серо- и кислородосодержащих гетероциклических соединений». Продолжают создаваться теоретические основы проблемы оценки реакционной способности гетероциклических систем, содержащих также и природные фрагменты. Возглавляют исследования заведующий кафедрой профессор Х.С. Шихалиев, доктор химических наук М.Ю. Крысин, доцент А.С. Соловьев

Научно-исследовательская работа кафедры химии высокомолекулярных соединений и коллоидов проводится в рамках таких приоритетных направлений, как: «Направленный

синтез и выделение химических соединений с физиологически активными свойствами и веществ специального назначения»; «Поверхностные явления и наночастицы». Исследования осуществляются научным коллективом, состоящим из сотрудников трех кафедр – ВМСК, органической химии и фармацевтической химии и фармтехнологии (руководители – профессора Г.В. Шаталов, В.Н. Вережников, Х.С. Шихалиев, А.И. Сливкин). Созданы продукты, представляющие интерес для медицины, ветеринарной практики, промышленности каучуков и латексов, производства материалов специального назначения. Получены многочисленные результаты, служащие теоретической основой как для создания полимерных материалов с новым комплексом свойств, так и для интенсификации промышленного синтеза на основе не использованных ранее соединений. Большое внимание уделяется вопросам изыскания новых методов «бессолевого» выделения каучуков из латексов, позволяющих решить ряд экологических проблем. Серьезное внимание уделяется математическому моделированию полимерных структур.

Химический факультет активно сотрудничает с научно-исследовательскими институтами РАН и вузами России (практики, выполнение дипломных работ, совместные научные исследования, стажировки, конференции, семинары и пр.). Это Институты Физической, Общей и неорганической химии, Металлургии, Химической физики, ГЕОХИ им. В.И. Вернадского, Элементоорганических соединений, Водных проблем РАН, Московская Академия тонкой химической технологии, кафедры МГУ, НИИСК (г. Воронеж) и т.п. Ученые химфака имеют прочные связи и с зарубежными университетами городов Берлина, Галле, Ольденбурга, Стокгольма, Тарту, Гренобля и др.

Факультет издает собственные научные журналы и сборники: «Конденсированные среды и межфазные границы», «Теория и практика сорбционных процессов», «Сорбционные и хроматографические процессы», «Вестник ВГУ» (серия «Химия, Биология, Фармация» совместно с биолого-почвенным и фармацевтическим факультетами). Регулярно проводятся научные конференции. Так за последние годы проведены две Региональные научные конференции «Проблемы химии и химической технологии»; Международные конференции «Иониты – 2001, 2004, 2007»; Научная сессия секции «Физико-химия ПАВ» научного Совета по коллоидной химии и физико-химической механике РАН «Коллоидная химия эмульсионных и латексных сред»; Межвузовский научный семинар памяти профессора Г.А. Чикина; три Всероссийские конференции «Физико-химические процессы в конденсированных состояниях на межфазных границах (ФАГРАН – 2002, 2004, 2006); две Межрегиональные научно-методические конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования» (совместно с фармацевтическим и биолого-почвенным факультетами). Научные исследования ученых факультета поддерживаются многочисленными грантами РФФИ, Министерства образования РФ, Университетов России, Областной администрации, НТП исследований ВШ, отдельными проектами.

Преподаватели факультета активно занимаются учебно-методической работой – издают учебники, учебно-методические пособия и указания, тесты, сборники контрольных задач. Наиболее значимые из них за последние 5 лет получили грифы Министерства науки и образования, Здравоохранения РФ, УМО университетов: Я.А. Угай «Общая и неорганическая химия»; Ю.П. Афиногенов «Фазовые диаграммы многокомпонентных систем»; А.И. Сливкин, В.Ф. Селеменев и др. «Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств»; В.Ф. Селеменев и др. «Практикум по ионному обмену»; Ю.П. Афиногенов, Е.Г. Гончаров, Г.В. Семенова, В.П. Зломанов «Физико-химический анализ многокомпонентных систем»; А.И. Сливкин, В.Ф. Селеменев и др. «Фармхимия»; А.В. Кукуев, И.Я. Миттова, Э.П. Домашевская «Физические методы исследования тонких пленок и поверхностных слоев». В ближайшее время выходят из печати учебные пособия: Ю.П. Афиногенов, И.А. Бусыгина, Е.Г. Гончаров «Биогенные элементы и их физиологическая роль» и Е.Г. Гончаров, Ю.П. Афиногенов, А.М. Ховив «Строение вещества и химическая связь в курсе неорганической химии» (с грифом УМО по классическому университетскому образованию), А.В. Калач, А.Н. Зяблов, В.Ф. Селеменев «Введение в сенсорный анализ».

Химический факультет активно сотрудничает со школами, гимназиями, лицеями г. Воронежа и, что особенно важно, – с образовательными учреждениями, расположенными в сельской местности (шесть районов). Эта деятельность многопрофильна: консультации для учителей и школьников, подготовка методической литературы, чтение спецкурсов, организация работы научного общества учащихся, подготовка школьников к олимпиадам, регулярные занятия со школьниками 10–11 классов по программе «Химия» для поступающих в вузы, чтение лекций на подготовительных курсах и т.п. Это приносит свои плоды. Многие выпускники школ поступают на факультет.

Структура специальностей и направлений факультета соответствует потребностям региона. Подавляющая часть выпускников устраивается на работу по профилю, ежегодно до двадцати человек поступает в аспирантуру химфака, МГУ, НИИ РАН, вузов других городов, университетов зарубежья. Наиболее успешных выпускников факультет старается удержать на кафедрах, в исследовательских лабораториях технопарка и института химии.

Все сказанное выше говорит об устойчивом функционировании факультета в настоящее время и создает предпосылки для дальнейшего его развития. Этому будет способствовать решение многих проблем.

В ближайшее время в условиях негативной демографической ситуации необходимо приложить максимум усилий для обеспечения приема студентов на дневное и вечернее отделения факультета и организации учебного процесса в новых условиях полного перехода на двухуровневую систему подготовки кадров. Привлечению абитуриентов на факультет будет способствовать открытие новых направлений и магистерских программ (сейчас их – шесть), в том числе и междисциплинарных, разработка новых спецкурсов, направленных на решение проблем энергетики (например, связанных с использованием водорода), нефтехимии, получения новых современных функциональных материалов в условиях бурного развития нанотехнологий, на эффективное решение экологических проблем и т.п. Несомненно, что в новых экономических условиях все это необходимо связывать с потребностями предприятий города, области и региона. Следовательно, необходимо налаживать старые, ранее нарушенные связи с предприятиями, и организовывать – новые, развивать корпоративные отношения с ними. С решениями этой проблемы остро связан и вопрос восстановления баз производственных практик, которые факультет потерял в годы резкого падения производства. В этом отношении можно рассчитывать на стратегическое партнерство в образовательной и научно-исследовательской деятельности с ОАО «НЛМК» в рамках подписанного соглашения. Лидера отечественной металлургии интересуют вопросы подготовки кадров, материаловедение, мониторинг и охрана окружающей среды и т.п.

Кафедры факультета в ближайшее время могут значительно расширить подготовку магистров химии за счет привлечения выпускников бакалавриатов большинства других вузов, поскольку магистратура в них практически отсутствует или только начинает создаваться.

Следует подумать и об организации подготовки на факультете специалистов со средним специальным образованием, потребность в которых ощущается все в большей и большей степени.

Продолжая развивать серьезные исследования в области фундаментальной науки, необходимо направить усилия и на решение прикладных задач, в которых остро нуждаются современные отрасли производства. Эти требования времени.

Факультет должен окончательно стать и центром подготовки кадров высшей квалификации для города и всего региона. Для этого есть все предпосылки: 24 профессора, доктора наук; мощная докторантура и аспирантура; наличие двух докторских советов по защите диссертаций; активно развивающаяся материальная база на кафедрах, в технопарке и центре коллективного пользования научным оборудованием.

Факультет гордится своими выпускниками. Вот лишь некоторые из них: трижды лауреат Государственной премии СССР и РФ Л.В. Киселевич, член-корр. АН СССР А.А. Петров, лауреаты Государственных премий СССР и РФ И.И. Тюляев, А.И. Базыкина, И.П. Галкин, Я.А. Угай, ректоры университета Н.И. Глистенко, В.П. Мелешко, проректоры Г.А. Чикин, Л.П. Залукаев, А.Я. Шаталов, Первый проректор А.М. Ховив, Заслуженный работник

---

ВШ РФ Е.Г. Гончаров, Заслуженные деятели науки И.К. Маршаков, Т.А. Кравченко, В.Ф. Селеменев, В.И. Вигдорович, С.Е. Харин, В.А. Шапошник. Многие из выпускников возглавляли или возглавляют кафедры ведущих вузов города Воронежа (в прошлом – С.Е. Харин, Н.И. Исаев, В.М. Перелыгин, в настоящее время – В.В. Котов, Л.И. Бельчинская, Т.А. Кучменко и др.). Среди выпускников факультета известный режиссер документального кино Л.А. Гуревич, герой Социалистического труда Н.П. Богатырев, многократный чемпион города и области, чемпион Мира по шахматам (по переписке) по версии ФИФЕ Г.К. Санаков, чемпионка Олимпийских игр, Заслуженный мастер спорта по спортивной гимнастике Т.Л. Замотайлова, чемпионка Мира, Заслуженный мастер спорта И. Первушина, чемпионки РСФСР по спортивной гимнастике Л. Калиниченко, В. Радугина, мастера спорта Л. Сергеева, Л.А. Озеров, Т. Теткина, В. Беляев, А. Кучерявый, Заслуженный мастер спорта по подводному плаванию, чемпион Мира и Европы К.В. Янчук и многие другие.



## Characterization of surface properties of silica alumina by catalytic conversion of methylbutynol

Murad AlSawalha

*Organic Materials Division, Industrial Chemistry Center, Royal Scientific Society, P.O. Box: 1438, Al-Jubaiha, Amman 11941 Jordan*

Frank Roessner

*Industrial Chemistry, Institute of Pure and Applied Chemistry, Carl v. Ossietzky University Oldenburg, D-26111 Oldenburg, Germany*

---

### Аннотация

The conversion of methylbutynol (MBOH) over commercially available silica-alumina solids was studied. The formation of 3-methyl-3-butene-2-one (MIPK) was explained in terms of the cooperative action of both Brönsted acidic and co-ordinatively unsaturated surface sites. With increasing silica content the number of defect sites decreases and well ordered silica-alumina is formed

---

### Introduction

The characterization of acid-basic properties of a catalyst is strongly linked with the prediction of both activity and selectivity in many reactions. Numerous physico-chemical methods have been developed to determine the surface properties of oxides. Beside spectroscopic methods like infrared, UV-visible and NMR spectroscopy and thermal methods like calorimetry and thermodesorption [1] catalytic test reactions are the most suitable tools as they are sensitive to the reactive site. The isomerisation of but-1-ene was one of the first proposed test reactions to distinguish between acidic and basic centers taking into account the cis/trans ratio of the but-2-ene formed [2]. The main drawback was, however, that this test reaction is can only be non-ambiguously applied when a single type of the catalytic centers is expected to be present.

The use of alcohols, first of all isopropanol, was proposed by Ai [3]. The acidic sites catalyses the dehydration pathway whereas basic sites form acetone. On the other hand several authors questioned this assumption showing that the formation of acetone is also related to redox properties [4,5].

To keep the advantage of alcohols as reactive probe molecules and to avoid the problem of redox properties 2-methyl-but-2-yn-2-ol (MBOH) has been proposed by Lauron-Pernot et al. [6]. Recently, the state of the art was described in an excellent review [7]. The products formed on different sites of the catalyst as proposed by Lauron-Pernot [6] are given in scheme 1, and it may be seen that, whereas acidic and basic sites of a catalyst are clearly defined amphoteric sites are uncommon. Not many studies have been devoted to the mechanism of formation of 3-methyl-3-butene-2-one (MIPK). As reactive centers either strong acidic sites, e.g. on H-ZSM-5 zeolites [8], or acid-base pairs on alumina were contradictorily discussed. It is known that alumina, especially in the  $\gamma$ -phase, is catalytically very active in several reactions [9,10]. The catalytic activity of  $\gamma$ -alumina is closely related to certain acid sites which are created by surface hydroxyl groups [11].

During thermal treatment different dehydroxylation processes, accompanied by water desorption take place resulting in additional Lewis acidic sites.

The addition of silica during the synthesis process strongly changes the surface properties of alumina. Applying FTIR spectroscopy, Daniell and Knözinger [12] have been studied the change of surface properties of alumina by silica addition.

They detected several surface species which formation depends on the chemical composition of the amorphous aluminosilicate. For such materials with a silica content in the range of 10 – 20 wt.% three types of acidic surface sites were observed: (i) an alumino-silicate phase, (ii) coordinatively unsaturated  $Al^{3+}_{(TET)}$  ions exposed on the surface, and (iii) sites with enhanced Brönsted acidity, attributed to bridged OH groups on the exposed alumino-silicate. At higher silica contents the formation of a silica phase covering the alumina crystallites is expected. Furthermore, the morphology of alumina is changed which also should attribute to the acid-base properties of the silica-alumina due to possible formation of different domains of silica and alumina.

Since small changes in the amount of silica added to alumina drastically influences on the surface properties silica-alumina should have a lasting effect on the product distribution in the conversion of MBOH. Additionally, a correlation of the formation of MIPK with the surface properties of silica-alumina should give insight into the nature of the so-called amphoteric sites.

## Experimental

### Investigated catalysts

For this study different silica-alumina and supplied by Sasol Germany GmbH were studied. The samples differ in ratios of silica to alumina and calcination temperatures. The content of silica in the studied samples was 5, 10, 20, and 40 wt.%. The catalysts were pre-treatment temperatures at  $T = 550\text{ °C}$  and  $T = 900\text{ °C}$ , respectively, for 3h. Sample names were abbreviated using the prefix Si/Al relating to silica-alumina and a number referring to the content of  $SiO_2$  in wt.% as well as to the calcinations temperature,  $550\text{ °C}$  and  $900\text{ °C}$ , respectively.

For comparison the following zeolites were studied: H-ZSM-5 (Si/Al=45), H-Beta (Si/Al=25) and Y zeolite (Si/Al=5.5) supplied by Sud-Chemie AG, Munich (Germany).

### Conditions for methylbutynol conversion

The conversion of methylbutynol was performed in fixed bed reactor. An amount of 0.2 g of the catalyst with a particle size of 200 – 315  $\mu\text{m}$  was used. Adjusting the MBOH flow before evaporation to 0.02 mL/min and using a nitrogen stream of 12 mL/min as carrier gas, a  $WHSV = 5.2\text{ g}_{MBOH} / \text{g}_{cat}\text{ h}$  was established. A detailed description of the procedures is given elsewhere [13]. The products were analysed on-line on a HP 8090 Series II gas chromatograph with a 60 m Optima Wax capillary column. Conversion, yield and selectivities are given in % and mol%, respectively, and were calculated on the basis of peak areas of the chromatogram considering the response factors of all compounds. Reference substances were obtained from Fluka (MBOH, 99 %, Prenal, 99%), Aldrich (MBYNE, 98 %, HMB 99%), Acros (acetone 99 %) and Messer-Griesheim (acetylene, 99 %). MIPK was synthesised by acid catalysed dehydration of HMB.

### Temperature programmed desorption of ammonia

Silica-aluminas were characterized by temperature programmed desorption of ammonia (TPAD) carried out on an apparatus constructed from Raczek Analyse Technik GmbH, Hannover (Germany). The samples were conditioned at  $550\text{ °C}$  in helium flow. Afterwards, a mixture of 10%  $NH_3/He$  was passed over the sample at  $T = 60\text{ °C}$ . The physisorbed ammonia was removed by flushing with helium at  $T = 120\text{ °C}$  for 2 h. The chemisorbed ammonia was removed by passing helium over the sample as the sample was heated up to  $T = 550\text{ °C}$  with a linear heating rate of  $10\text{ °C/min}$ .



## Results and discussion

### Catalytic activity of silica –alumina in the conversion of methylbutynol

Figure 1 shows the dependence of the conversion on the time on stream at  $T=120^{\circ}\text{C}$ . It is evident that the activity increases with an increase in the silica content up to 96 %, which is close to the thermodynamic equilibrium.

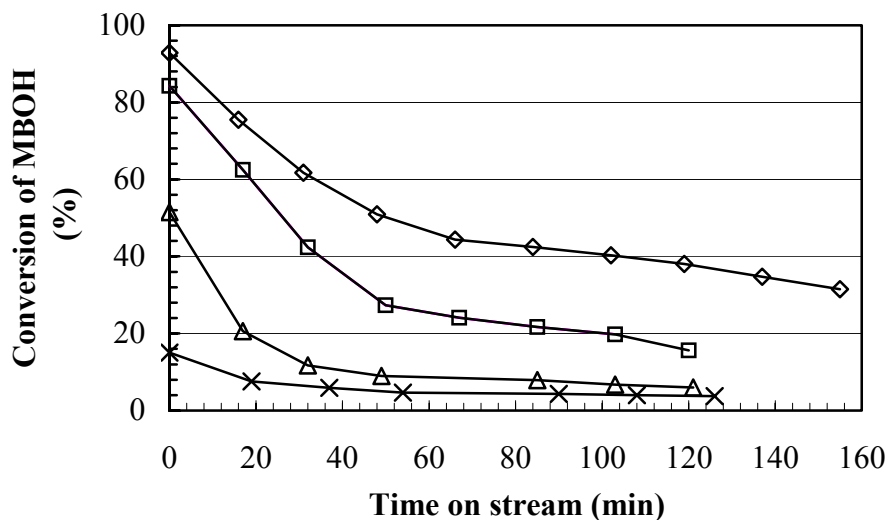


Fig. 1. Conversion of MBOH over different Si/Al (550), reaction temperature  $120^{\circ}\text{C}$ , × Si/Al 5, Δ Si/Al 10, □ Si/Al 20, ◇ Si/Al 40

Furthermore, all catalysts undergo a rapid deactivation during the initial period up to 60 min. The higher the silica content the higher the drop in activity. Increasing the reaction temperature to  $T=180^{\circ}\text{C}$  (Figure 2) two effects can be distinguished: (i) the catalysts with the a silica content of 30 and 40 wt.%, respectively, do not deactivate and (ii) the initial conversion of the low silica materials increases up to 70 and 80 %, respectively. However, their activity declines with time on stream.

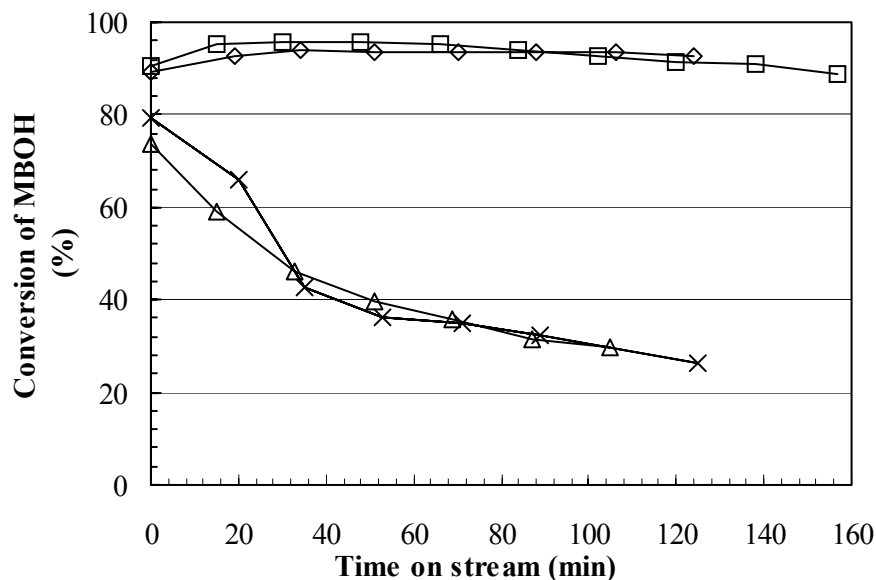
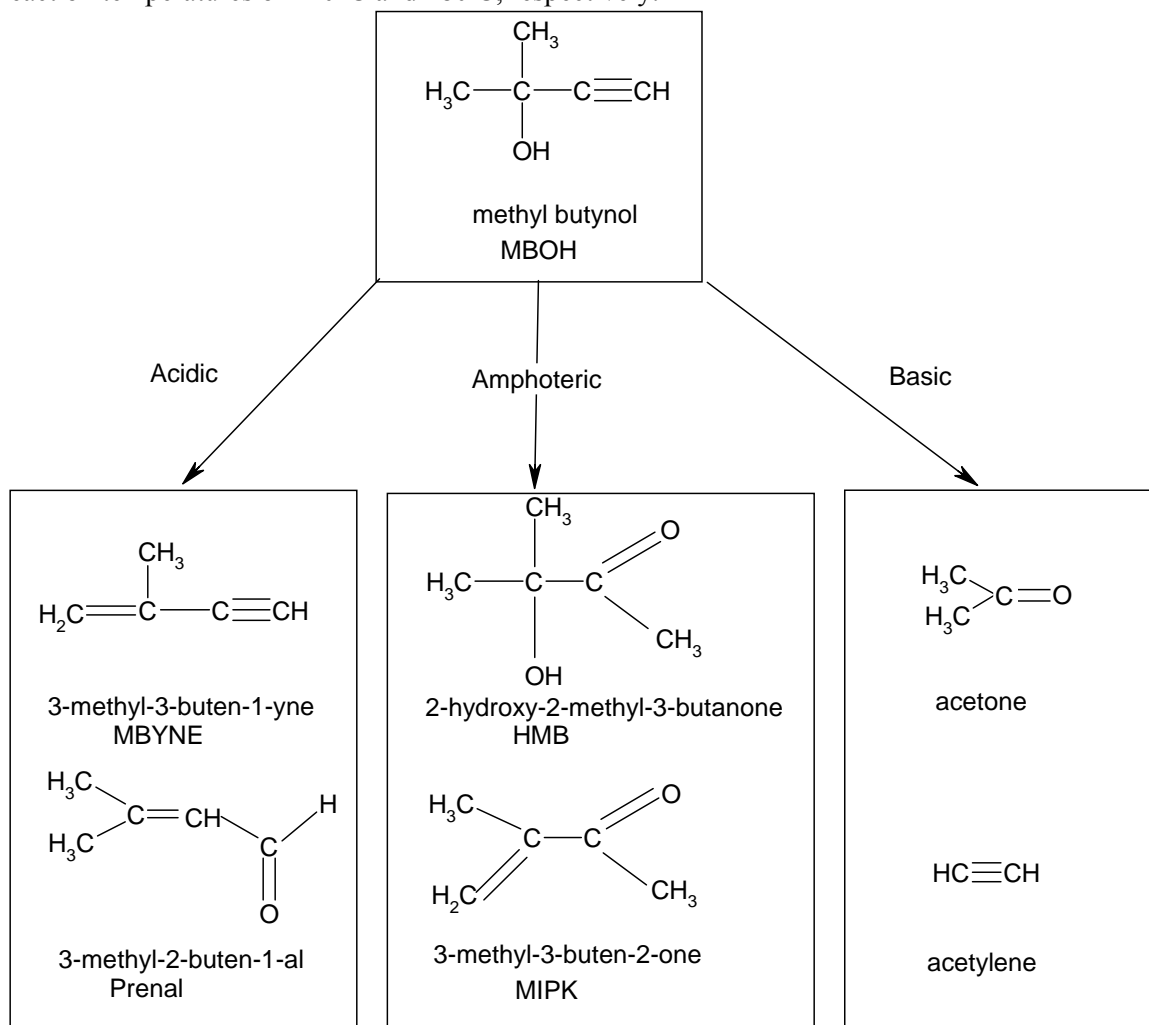


Fig. 2. Conversion of MBOH over different Si/Al (550) at reaction temperature  $180^{\circ}\text{C}$ . × Si/Al 5, Δ Si/Al 10, □ Si/Al 20, ◇ Si/Al 40

The behaviour could be explained in term of reaction inhibition both by product and methylbutynol. Especially the formed water could be strongly adsorbed on the active sites blocking

the access of MBOH. At higher temperature ( $T=180^{\circ}\text{C}$ ) the desorption is preferred and the access of MBOH is improved which results in a higher, constant activity. Catalysts which contain less silica have a lower number of acid but their strength is higher according to the model of Knözinger [9]. Therefore, the interaction with water is stronger, even at higher temperature, which finally results also in product inhibition. MBYNE and Prenal were detected as products. Both are formed via the acid pathway (scheme 1). Figures 3 and 4 depict the selectivities over Si/Al 5 (550) at reaction temperatures of  $120^{\circ}\text{C}$  and  $180^{\circ}\text{C}$ , respectively.



Scheme 1. Reaction pathways of conversion of methylbutynol on different surface sites

MBYNE and MIPK are the main products after 120 min time on stream (t.o.s.). At a reaction temperature of  $120^{\circ}\text{C}$  the selectivity of MIPK increases from 30 mol% in the initial period of the reaction to 60 mol% within 40 min on stream. In general, a high Si/Al ratio causes a lower electron density on the surface oxygen species, thus the protons will be more loosely bonded to these oxygen species and therefore the acid strength increases. Another explanation for the strong acidity at high ratios of  $\text{SiO}_2$  is that weak bonds between alcohol oxygen and the structure aluminium cations are formed. Therefore, the electron pair acceptance strength of these cations increases, hence acidity increases [8].

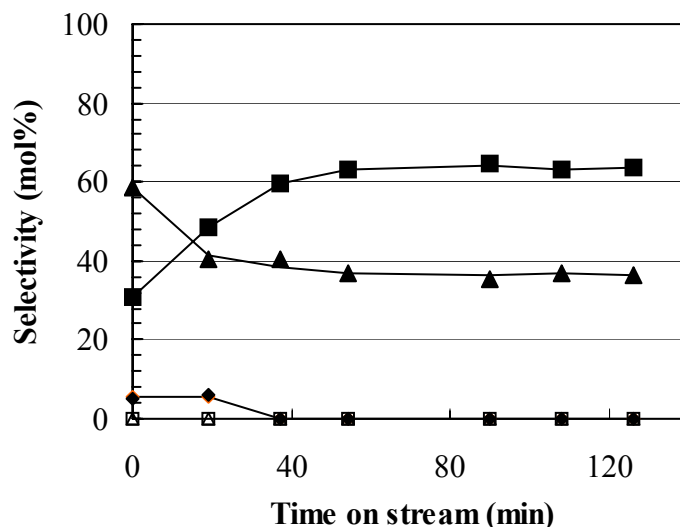


Fig.3. Selectivity of the products over Si/Al 5 (550), reaction temperature 120 °C, ◇ Acetylene, ◆ Acetone, ▲ MBYNE, △ Prenal, ■ MIPK, □ HMB

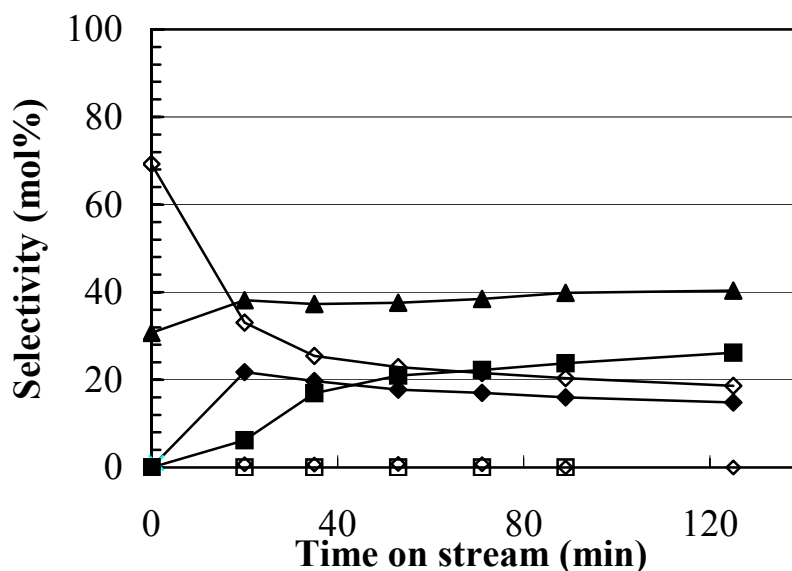


Fig. 4. Selectivity of the products over Si/Al 5 (550), reaction temperature 180 °C. ◇ Acetylene, ◆ Acetone, ▲ MBYNE, △ Prenal, ■ MIPK, □ HMB

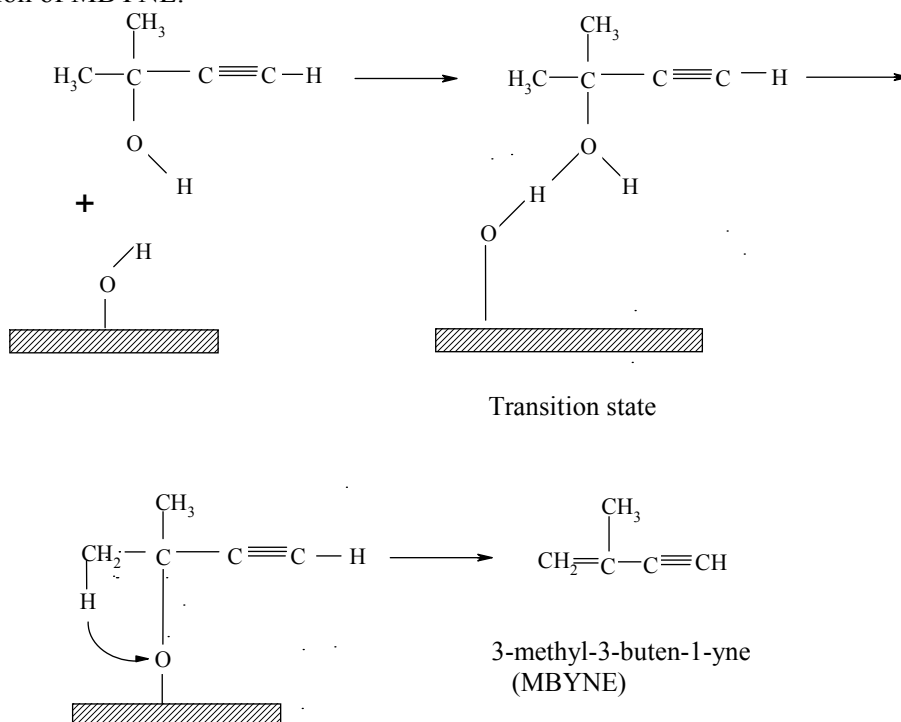
Other products like acetone are only observed at the initial period of the reaction up to 20 min t.o.s., i.e. basic centers are deactivated immediately at the beginning of the reaction.

The increase of the reaction temperature from  $T=120\text{ °C}$  to  $T=180\text{ °C}$  results in half as high selectivity of the products MBYNE and MIPK (see figure 3 and 4). This effect is accompanied by the appearance of acetylene and acetone with selectivity of about 25 mol%.

Acetone and acetylene are the products, which are formed at basic sites (see scheme 1). It is noteworthy that the ratio acetylene to acetone over studied samples was slightly higher than the expected stoichiometric value of one. This effect could be explained in term of aldol condensation of acetone resulting in high molecular condensation products which cannot desorb at the applied conditions.

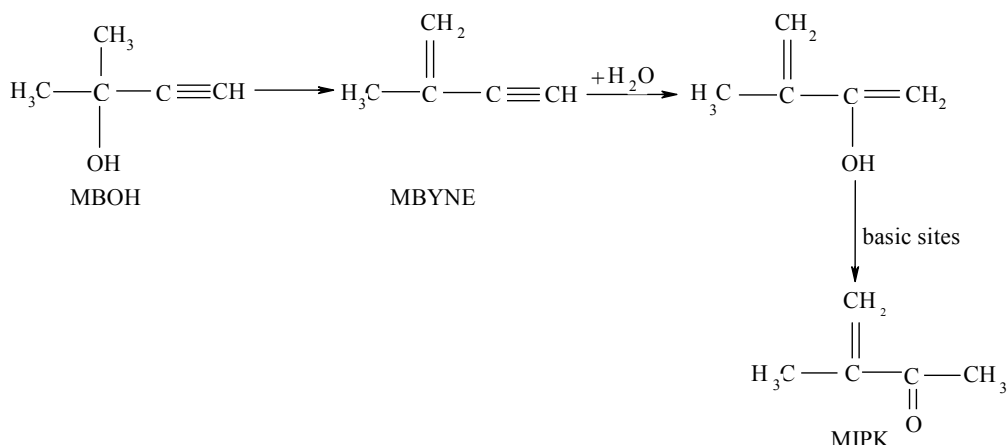
The mechanism of the transformation from methylbutynol to the main products 3-methyl-3-buten-1-yne (MBYNE) and 3-methyl-3-butene-2-one (MIPK) can be explained by scheme 2 and 3. The acidic hydroxyl groups form a transition state in which the alcoholic oxygen is attacked by

the acidic hydrogen of the surface. After elimination of water the acid site is restored, accompanied by the desorption of MBYNE.



Scheme 2. Reaction scheme for the formation of MBYNE

Aramendia et al. [14] suggested that hydration of MBYNE leads to formation of MIPK. Hereby, the formed water is added to the triple bond and the enol is rapidly transformed into the carbonyl.



Scheme 3. Reaction scheme for the formation of MIPK according to Armendia et. al [14]

### Temperature programmed desorption of ammonia

In table 1, the results of the TPAD measurements are compiled. The desorption maxima of the relatively broad desorption profiles were observed in the range of 280-450°C. As expected the amount of desorbed ammonia depends on the Si/Al ratio of the catalyst. The increase of amount of SiO<sub>2</sub> leads to an increase in the amount of chemisorbed ammonia, independent on the calcinations

temperature. This can be discussed in terms of formation of bridged hydroxyl groups which has Brönsted acidic properties. Although the determination of the acidity distribution was not in the focus of the present study, one can speculate in accordance with the literature that generally the strength of the Brönsted sites increases with increasing silicon content [12]. According to literature Brönsted acid sites are required for the formation of MIPK [14]. Therefore, with respect to table 1 an increase in MIPK formation should be expected with increasing Si/Al ratio.

Table 1. Comparison of the amount of adsorbed ammonia in dependence on the calcination temperature

Sample	Calcination Conditions			
	550 °C, 3 h		900 °C, 3 h	
	Adsorbed NH <sub>3</sub> (μmol/g)	Al content (wt.%)	Adsorbed NH <sub>3</sub> (μmol/g)	Al content (wt.%)
alumina	107	100	260	100
Si/Al 5	288	95.2	120	95.2
Si/Al 10	289	89.9	214	89.9
Si/Al 20	289	80.4	223	80.8
Si/Al 40	332	61.3	234	60.8

#### Influence of GHSV on the formation of MIPK

The dependency of the selectivity of MIPK on the conversion of MBOH was investigated applying different amounts of catalyst. From figure 5 it is obviously, that the lower the conversion the higher the selectivity to MIPK. This fact is a strong indication for the assumption that MIPK seems to be a primary product of MBOH conversion.

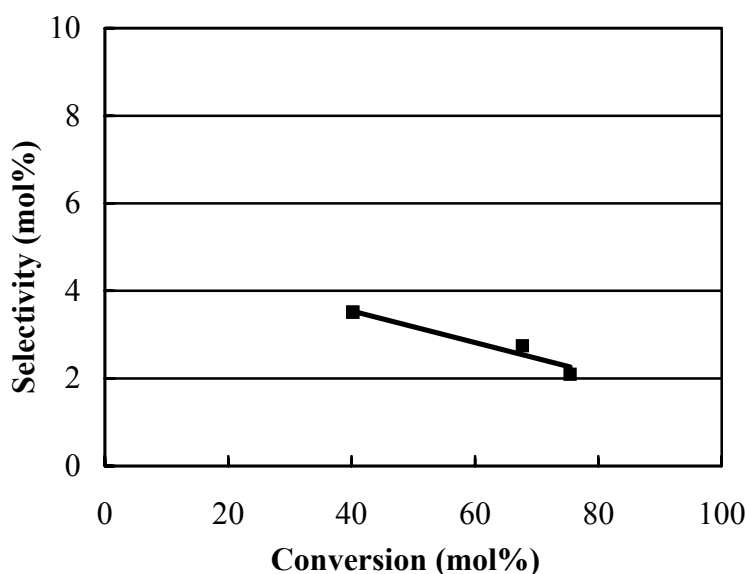


Fig. 5. Selectivity of MIPK over different amount of Si/Al 5 (550), reaction temperature 120 °C, t.o.s. = 20 min

#### Effect of water on the conversion of MBOH

As mentioned above Aramendia et.al. [14] proposed that the formation of MIPK is the result of addition of water, which is produced by dehydration of MBOH, to MBOH (Scheme 3). Their conclusions are based on the studied influence of addition of water to MBOH converted on ZrO<sub>2</sub>. Consequently, the increase of the partial pressure in the gas phase should influence on the selectivity of MIPK formation. To proof this hypothesis a mixture of 95 vol% MBOH and 5vol%

water was passed over silica alumina with different Si/Al ratio. No influence of added water both on conversion and selectivity of MIPK formation was observed.

This experimental fact clearly demonstrates that water, being present in the gas phase, is not involved into the reaction. Otherwise, the added water should influence the adsorption-desorption equilibrium, and consequently, the MIPK formation should be changed. Therefore, the formation of MIPK should be the result of an intra-molecular rearrangement.

#### Formation of MIPK over silica alumina

From data given in table 2 it is evident that the exclusive presence of strong acidic sites, as present in zeolites or silica-alumina Si/Al 40 (550), is insufficient to explain the formation of MIPK. According to Knözinger et al. [9] addition of small amounts of silica to alumina results in drastic changes of the alumina surface. One should distinguish between two types of centers existing on the surface: (i) isolated acidic surface site, (ii) acidic center with coordinatively unsaturated surface center in the vicinity.

The adsorption of MBOH on isolated acidic centers results in dehydration to MBYNE (scheme 3, path A). Therefore, both a high degree of conversion and high selectivity to MBYNE were observed for materials with well-ordered structures, e.g. zeolites and silica-alumina Si/Al 40 (Table 2). Furthermore, the formation of MBYNE correlates with the increase of number of acidic centers on silica-aluminas as determined by TPO.

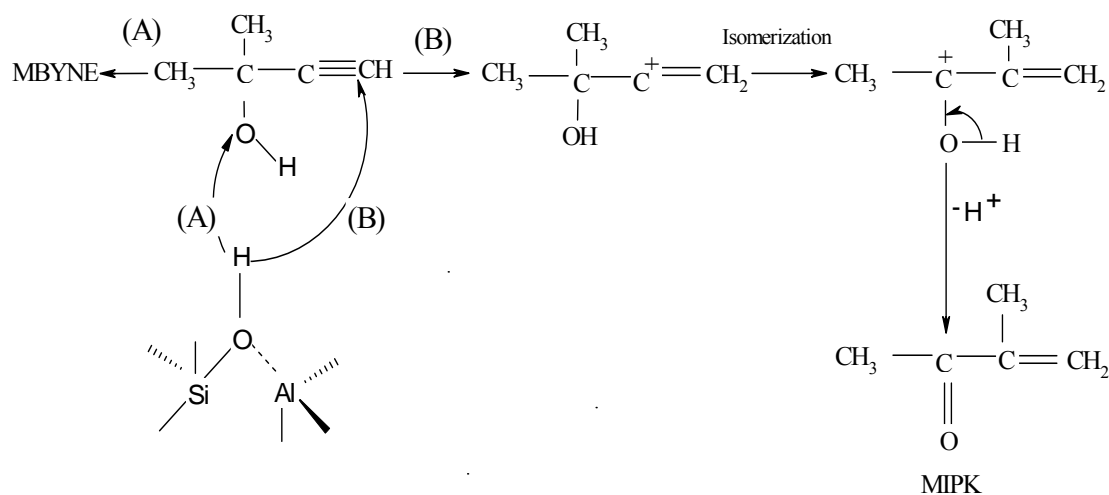
Table 2. Conversion of MBOH and selectivity over different types of zeolites and different silica alumina (550) at reaction temperature 120 °C after t=90 min

Catalyst	Si/Al ratio	X <sub>MBOH</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> (mol%)	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O (mol%)	MBYNE (mol%)	Prenal (mol%)	MIPK (mol%)
H-ZM5	45	46.9	0.0	0.0	90.4	9.6	0.0
H-Beta	25	9.6	0.0	0.0	95.8	4.2	0.0
Y	5.5	4.9	0.0	0.0	95.5	4.5	0.0
Si/Al 5	5	4.3	0.0	0.0	35.4	0.0	60.3
Si/Al 10	10	7.9	0.0	0.0	65.0	0.0	35.1
Si/Al 20	20	21.7	0.0	0.0	21.2	0.0	2.2
Si/Al 40	40	40.3	0.0	0.0	99.3	0.7	0.0

The adsorption of MBOH on coordinatively unsaturated surface centers, which are probably vacancies, should result in a polarization of the triple bond. The next step (scheme 3, path B) is the addition of an acidic proton of the adjacent Brønsted acidic site to the negatively polarized sp-hybridised carbon atom and formation of intermediate carbenium which rearranges exclusively by a methyl shift. Finally, the scission of OH bond and restoration of surface hydroxyl groups leads to MIPK formation.

Such type of centers exists only in disturbed structures. Usually, their number is low and, consequently, their overall catalytic activity is lower compared to isolated acidic sites.

It was observed that Si/Al 5 and Si/Al 10 permit both pathways presented in scheme 4 route; (A) to MBYNE and (B) to MIPK, while Si/Al 20 and Si/Al 40 favor only route (A) because MIPK is not observed. Taking into account the model of Knözinger [9], one can suggest that the further addition of silica heals the structural defects, which detailed structure is unknown yet, i.e. the number of coordinatively unsaturated sites decreases and, consequently, the formation of MIPK is suppressed. This speculation is in agreement with the catalytic results (see table 2).



Scheme 4. Proposed reaction scheme for the formation of MIPK on coordinatively unsaturated surface sites

## Conclusions

This work focused on the mechanism of the formation of MIPK in the conversion of methylbutynol on silica alumina with different Si/Al ratio. The dependence of MIPK selectivity on the degree of conversion and the inert behaviour of added water let us suggest that MIPK is a primary product of MBOH conversion. A reaction mechanism is proposed which avoids the formation of “free” water on the surface. Depending on the structure of the surface structure in silica-alumina samples, MBOH can be converted on single acidic sites to MBYNE by dehydration. Structural defects or a different ratio of tetrahedrally to octahedrally coordinated aluminium can form co-ordinatively unsaturated sites. The cooperative action of this Lewis acidic and of Brönsted sites is proposed to be catalytically active centers in the formation of MIPK by activation of the triple bond. The presence of this type of surface centres strongly depends on the Si/Al ratio; the higher the alumina content the higher selectivity to MIPK formation.

The amount of desorbed ammonia, determined by TPAD, correlated with the yield of MBYNE, formed by dehydration. This underlines that the formation of MBYNE proceeds on isolated Brönsted acidic sites.

## Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge Sasol Germany GmbH, for supplying samples. Andreas Rausch is thanked for fruitful discussions. Furthermore; Alsawalha is grateful acknowledged to DAAD for their financial support. His thankful belongs to President of Royal Scientific Society in Jordan, Princes Sumaya for her intensive encourage and deeply support for researcher scientists, Dr. Syf Eddin, Dr. Kahhaleh and to the director of institute of industrial Chemistry Dr. Rafat, for supporting the research in Germany.

## References

1. H. Hattori, *Chem. Rev.*, **95**, 537 (1995).
2. H. Pines, W.M. Stalick, *Base catalyzed Reactios of Hydrocarbons and Related Compounds*, Academic Press, New York, 1997.
3. M. Ai, *J. Catal.*, **40**, 318 (1975).
4. C. Lahousse, J. Bachelier, J-C. Lavally, H. Lauron-Pernot, A.-M. Le Govic, *J. Catal.*, **87**, 329 (1994).

- 
5. Corma, V. Fornes, F. Rey, *J. Catal.*, **148**, 205 (1994).
  6. H. Laurent-Pernot, Luck, F. Popa, J. M. *Appl. Catal.*, **78**, 213 (1991).
  7. H. Laurent-Pernot, *Catalysis Reviews*, **48**, 315 (2006).
  8. M. Huang, S. Kaliaguine, *Catal. Lett.*, **18**, 373 (1993).
  9. H. Knözinger, H. Ratnasamy, P. *Catal. Rev.-Sci. Eng.*, **24**, 31 (1978).
  10. R.K Oberlander, In : B.E Leach (ED), *Applied industrial Catalysis*, Vol. 3, Chapter 4 Academic Press, New York, , (1984).
  11. J. B. Peri, *J. Phys. Chem.*, **1**, 69, 220 (1956).
  12. W. Daniell, H. Knözinger, *Appl. Catal. A: General.*, **196**, 247 (2000)
  13. P. Kuśtrowski, L. Chmielarz, E. Bożek, M. Sawalha, F. Roessner, *Adv.. Mater.*, **39**, 263 (2004).
  14. M. Armendia, A. Borau, V. Jimenez, C. Marinas, J.M. Porras, A. Urbano, F. *J. Catal.*, **161**, 829 (1996).





## Модель кинетики массопереноса для сорбционной микросистемы, используемой в рентгенофлуоресцентном анализаторе с предварительным концентрированием

Груздева А.Н., Хамизов Р.Х

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

Токмачев М.Г., Тихонов Н.А

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

---

### Аннотация

В статье дано описание кинетики массопереноса в сорбционной микросистеме (сорбционном сенсоре), использование которой позволяет на несколько порядков снизить пределы обнаружения элементов при рентгенофлуоресцентном анализе (РФА). Приведена упрощенная модель кинетики, удовлетворительно описывающая экспериментальные результаты

---

### Введение

За последнее десятилетие создано новое поколение высокочувствительных малогабаритных рентгеновских аналитических инструментов (диффрактометров, флуоресцентных анализаторов и других приборов), в которых основным элементом является поликапиллярная оптика (или поликапиллярная линза) [1]. С помощью фокусировки рентгеновского излучения от весьма слабых источников мощностью несколько десятков ватт можно достигать плотности рентгеновского пучка до  $10^{12}$  фотонов/с/мм<sup>2</sup>.

Основная идея данной работы состоит в возможности дальнейшего повышения чувствительности приборов для анализа растворов за счет сочетания рентгеновской оптики с сорбционными накопительными микросистемами. В этом отношении наиболее актуальна задача повышения пределов обнаружения при энерго-дисперсионном рентгенофлуоресцентном анализе (ЭДФА). Преимуществом метода является возможность одновременного определения большого количества элементов. Однако приборы ЭДФА в стандартном исполнении не позволяют обнаруживать элементы с концентрациями ниже десятков мг/л [1]. В то же время, современные нормативы в области охраны окружающей среды, а также требования, предъявляемые к аналитическому обеспечению многих технологических процессов, ставят задачу создания широкодоступных инструментов с существенно более низкими пределами обнаружения. Поэтому сочетание рентгенофлуоресцентного анализа и предварительного концентрирования определяемых

---

элементов с помощью сорбционных микросистем, устанавливаемых в анализируемые потоки, представляется перспективным подходом для решения указанной проблемы [1].

## Эксперимент

Для создания накопительных сорбционных микросистем нами были использованы стеклянные многоканальные поликапиллярные структуры со сквозными капиллярами, разработанные в Институте рентгеновской оптики и изготавливаемые по технологии, описанной в патентах [2,3]. Каждый из сотен тысяч или миллионов микроканалов поликапиллярных столбиков или пластин содержит одну микрогранулу сорбента с радиусом в несколько микрон. Микрогранулы сосредоточены в одном из торцов поликапиллярной трубки и образуют активный сорбционный слой. Металлы, сорбированные в активном слое, под действием рентгеновского излучения дают спектр флуоресценции. В этом смысле, сорбционная система может рассматриваться как химический (сорбционный) сенсор, а при использовании нескольких типов сорбентов - как химический чип. Разработана простая методика получения сорбционных микросистем, их описание и микрофотографии приведены в работе [4]. В качестве сорбентов для изготовления флуоресцентных накопительных сенсоров использовали сильнокислотные сульфокатиониты КУ-2 на основе сополимера стирола и дивинилбензола, слабокислотные карбоксильные катиониты КБ-4 на метилметакрилатной основе, молекулярные сорбенты "Полиопрс" [5], содержащие комплексообразующие оксимные группы, а также сорбент ДЭТАТА, содержащий диэтилен-триаминтетраацетатные группировки [6].

Лабораторный рентгенофлуоресцентный анализатор был описан в работе [4]. Прибор состоит из двух блоков: накопительного и измерительного. В накопительном блоке анализируемый раствор с помощью насоса в течение определенного времени прокачивали через проточную систему, в которой были установлены сорбционный сенсор, обращенный активным слоем к потоку, а также ультразвуковой активатор, отделенный внешним потоком от активного сорбционного слоя. После накопления компонентов в течение заданного времени сенсор промывали деионизованной водой и переносили в измерительный блок, в котором на сорбционный слой воздействовали сфокусированным или квазипараллельным рентгеновским излучением. Вторичное (флуоресцентное) излучение регистрировали с помощью полупроводникового детектора. Кинетические кривые сорбции строили по измерениям площадей резонансных пиков элементов в спектрах флуоресценции, полученных для разных значений времени сорбционного накопления.

## Результаты и их обсуждение

Для выбора рациональных условий использования сорбционных накопительных микросистем необходимо изучить закономерности кинетики массообмена в системах, включающих микрогранулы сорбента в виде иммобилизованного активного слоя, контактирующего с потоком анализируемого раствора, содержащего определяемые компоненты.

Рассмотрим схему одной из множества одинаковых, параллельно расположенных элементарных ячеек химического сенсора [4], представляющей собой перевернутый «микроколодец» с раствором, в котором свободно перемещается гранула сорбента и который закрыт с одной стороны проницаемой для раствора сеткой (рис.1А). Пусть толщина сетки будет  $h$ , а высота ячейки  $H$ .

По сделанным нами ранее [4] оценкам характерных времен отдельных стадий процесса сорбции микрокомпонентов сорбционной микросистемой, лимитирующими

стадиями кинетики массообмена являются внешний массоперенос через сетку и диффузия во внутреннем растворе единичной ячейки.

Для простоты теоретического описания перестроим единичную ячейку как показано на Рис.1Б, с указанными характерными геометрическими размерами. Пусть на продольной координате  $x$ ,  $x = 0$  соответствует границе внешнего потока раствора и сетки, а  $x = x_0$  - границе между внутренним раствором и сорбционным слоем, представляемым в виде цилиндрической таблетки, объем (емкость) которой выбран равным объему первоначальной сферической гранулы. Введем понятие эффективного коэффициента диффузии в жидкой среде (до границы с сорбентом)  $D^*$  как усредненное значение коэффициентов диффузии в сетке и капилляре.

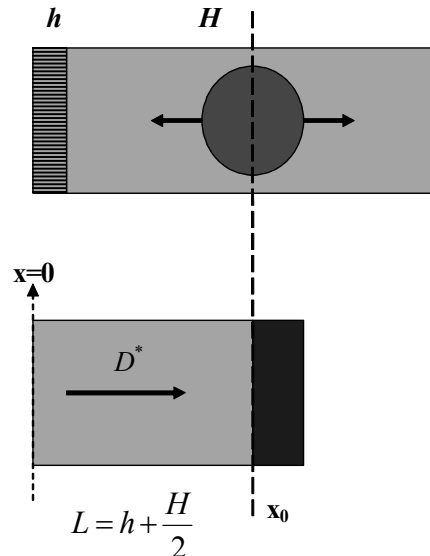


Рис. 1. Схема единичной ячейки сорбционной микросистемы

Для описания кинетики сорбции металлов используем модель, аналогичную модели теплопроводности для конечного стержня с источником тепла (в нашем случае вещества) на одном конце и поглотителем (сорбентом) на другом.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D^* \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \quad (1)$$

Граничные условия могут быть записаны следующим образом:

$$c_i|_{x=0} = c_{i,0} \quad (2)$$

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} \Big|_{x=x_0} = \gamma \frac{\partial c_i}{\partial x} \quad (3)$$

Начальные условия:

$$c_i|_{t=0} = c_{i,0} \delta(x - 0) \quad (4)$$

Здесь

$$\gamma = \frac{D}{r\Gamma} \quad (5)$$

$$\Gamma_i = \frac{\bar{c}_i}{c_{i,\infty}} \quad (6)$$

$$\delta = \begin{cases} c_0 & \text{при } x = 0 \\ 0 & \text{при } x > 0 \end{cases} \quad (7)$$

$c_i$  - концентрация компонента во внутреннем растворе в микроячейке,  $\bar{c}_i$  - усредненная концентрация в сорбенте,  $c_0$  - исходная концентрация во внешнем проточном растворе,  $c_{i,b}$  - концентрация компонента во внутреннем растворе на границе с сорбентом,  $x$  - продольная координата по пространству вдоль микроячейки,  $x_0$  - высота микроячейки до границы с сорбентом,  $t$  - время,  $D^*$  - эффективный коэффициент диффузии в жидкой среде,  $D$  - коэффициент диффузии в жидкости,  $\Gamma_i$  - коэффициент распределения на границе раствор-сорбент,  $r$  - радиус зерна сорбента;  $\gamma$  - коэффициент массопереноса из раствора в сорбент.

На рис.2. представлены типичные экспериментальные результаты, в данном случае, набор кинетических кривых сорбции никеля на сорбенте ДЭТАТА для растворов с различным содержанием целевого компонента. Кривые были получены из анализа спектров рентгеновской флуоресценции и приведены в соответствующих координатах, измеряемых на приборе: число импульсов - время.

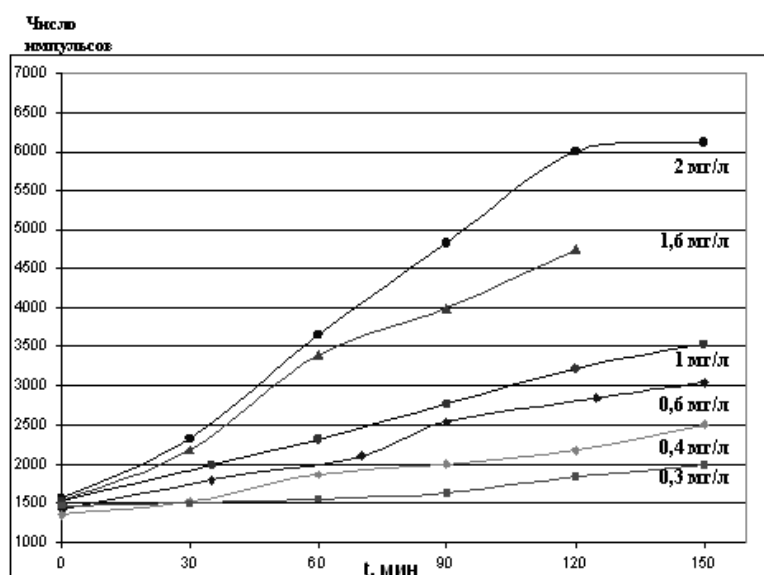


Рис. 2. Зависимость интенсивности флуоресценции от никеля от времени накопления (кинетические кривые сорбции). Сорбент – ДЭТАТА, фон – вода Московского водопровода

В разработанной программе для решения данной задачи в графическом виде отслеживается изменение концентрации микрокомпонента в растворе на границе с сорбентом. На основании полученных ранее оценок характерных времен отдельных стадий процесса сорбции микрокомпонентов считаем, что усреднение концентрации в сорбенте наступает практически мгновенно.

Для сравнения теоретических кривых с экспериментальными необходимо привести их к единому виду, так как в эксперименте определялись не концентрации компонентов в растворе на границе с сорбентом, а интенсивность рентгеновской флуоресценции сорбированных компонентов.

Площадь пика компонента на РФА-спектре может быть выражена следующим образом:

$$I_i(t) = \alpha \Gamma_i c_{i,b} m - A_i, \quad (8)$$

где  $I_i$  - интенсивность рентгеновской флуоресценции, площадь пика в импульсах,  $\alpha$  - коэффициент перевода количества вещества в площадь спектра РФ,  $m$  - масса сорбента,  $A_i$  - предел обнаружения  $i$ -того элемента.

Соответственно, интересующий нас параметр  $c_{i,b}$  находится по следующей формуле:

$$c_{i,b} = \frac{I_i(t) + A_i}{\alpha \Gamma_i m} \quad (9)$$

Параметры модели первого типа, зависящие от природы определяемого компонента: эффективный коэффициент диффузии в жидкой среде ( $D^*$ ), коэффициент диффузии в жидкости ( $D$ ), коэффициент распределения на границе раствор-сорбент ( $\Gamma_i$ ) и предел обнаружения  $i$ -того элемента ( $A$ ). Параметры второго типа, постоянные для прибора и сорбционной микросистемы: высота ячейки ( $x_0$ ), масса сорбента ( $m$ ), радиус зерна сорбента ( $r$ ).

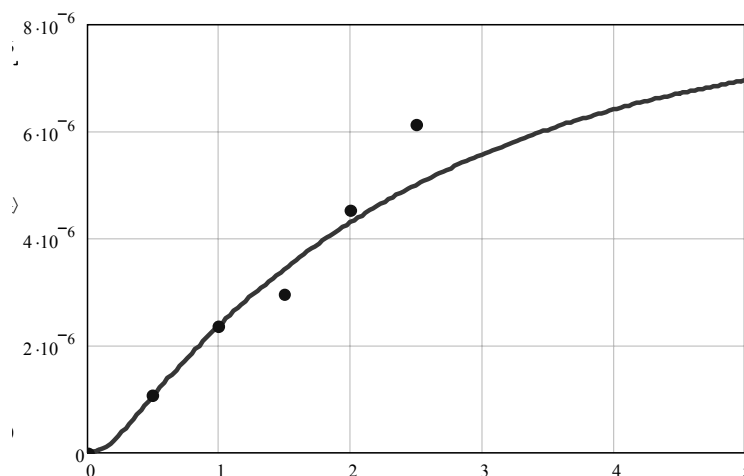
На Рис.3, 4 приведены примеры теоретических и экспериментальных кинетических кривых в новых координатах для определенного набора параметров модели, обеспечивающих наибольшую сходимость. Критерием правильности модели служили:

- возможность описания кинетики при одном и том же наборе параметров первого типа для данного компонента и одном и том же параметре второго типа для всех определяемых элементов;

- физическая достоверность параметров модели, получаемых методом решения обратной задачи, т.е. их близость значений расчетных параметров к значениям, которые могут быть найдены независимыми методами, например  $\Gamma, D$ , или значениям, которые заранее известны, например, постоянные прибора и сорбционной микросистемы.

Первое условие, по сути, означает, что обратная задача может быть решена для части экспериментальных данных, полученных при одних исходных концентрациях микрокомпонентов, а найденные при этом параметры могут быть использованы для прямого теоретического расчета кинетических кривых для других концентраций.

Экспериментальный массив для анализа кинетики сорбции меди и никеля составлял 40 спектров флуоресценции для разных значений времени сорбционного накопления из растворов, содержащих оба целевых компонента. С использованием указанных спектров было построено 16 экспериментальных кинетических кривых, аналогичных приведенным на Рис.2.



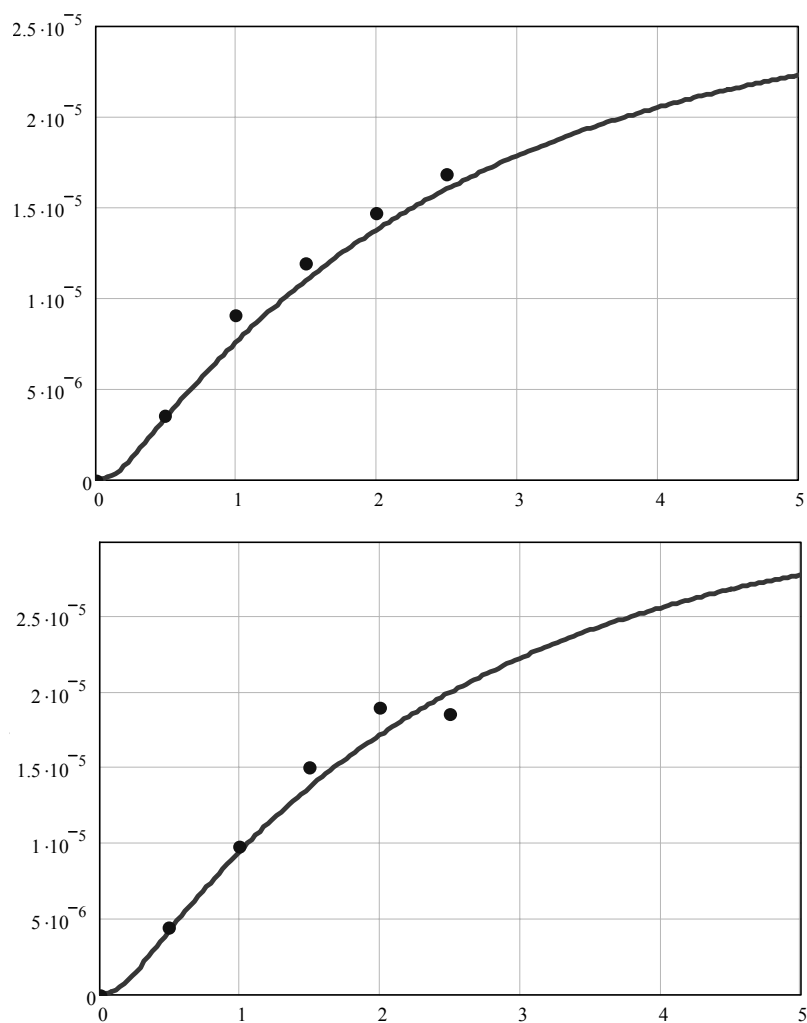
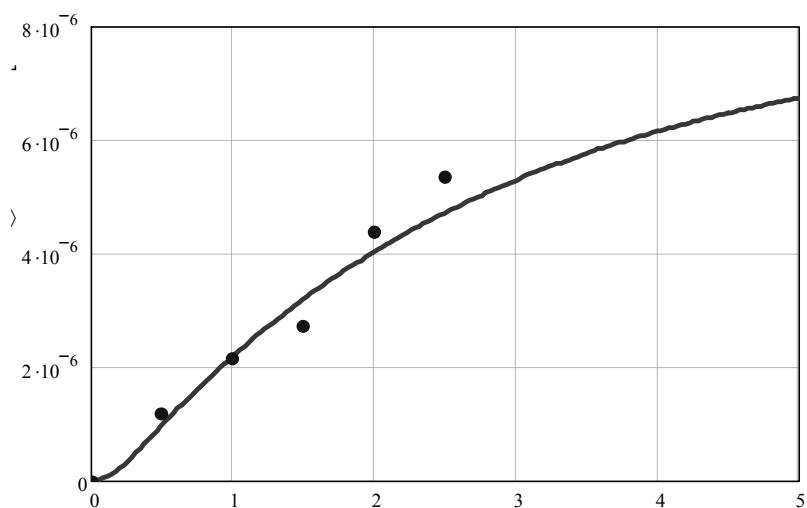


Рис. 3 Теоретические (линии) и экспериментальные (точки) кинетические зависимости для разных концентраций меди в исходном растворе: А - 0,5 мг/л, Б - 1,6 мг/л; В - 2 мг/л



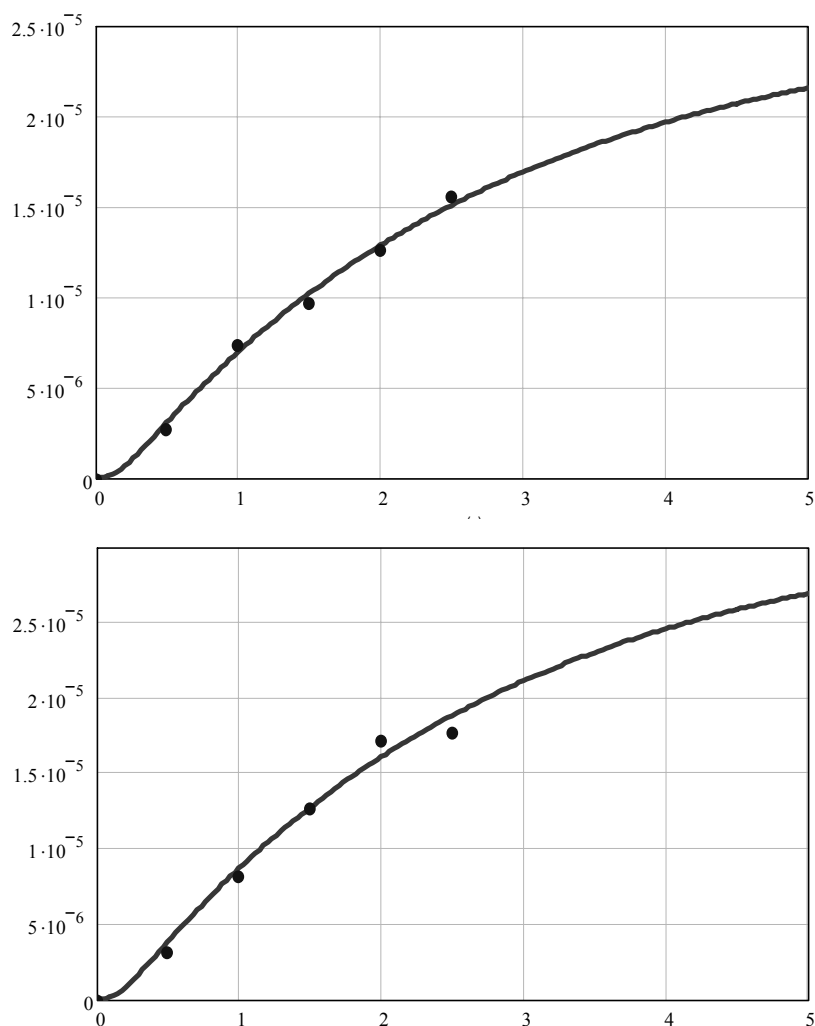


Рис. 4 Теоретические (линии) и экспериментальные (точки) кинетические зависимости для разных концентраций никеля в исходном растворе: А - 0,5 мг/л, Б - 1,6 мг/л; В - 2 мг/л

Параметры модели, найденные методом решения обратной задачи и использованные для дальнейшего расчета кинетических кривых:

Для Си:

$\Gamma = 3,2 \cdot 10^2$  мг/г,  $D = 1,8 \cdot 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с,  $D^* = 3 \cdot 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с,  $A = 52$  импульса; Для Ni:

$\Gamma = 2,7 \cdot 10^2$  мг/г,  $D = 1,6 \cdot 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с,  $D^* = 3 \cdot 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с,  $A = 52$  импульса

Параметры, постоянные для прибора и сорбционной микросистемы:

$m = 1,6 \cdot 10^{-2}$  г,  $\alpha = 0,5 \cdot 10^7$  импульс/моль,  $x_0 = 0,1$  см,  $r = 8 \cdot 10^{-4}$  см.

Описанная модель не связана со специфическими свойствами сорбентов и исходных растворов и поэтому для ее использования при других условиях требуется только корректный выбор соответствующих наборов параметров  $\Gamma$ ,  $D$ ,  $D^*$  и  $A$ .

В связи с возможными экспериментальными погрешностями построения кинетических кривых с использованием спектров РФА (до 20 % при низких концентрациях компонентов), предложенная модель, обобщающая большой массив экспериментальных данных, может быть использована в аналитических методиках определения компонентов методом рентгенофлуоресцентного анализа с использованием сорбционных накопительных сенсоров. В частности, модель полезна для построения калибровочных кривых для различных значений времени накопления (различных сечений кинетических кривых), а также для разработки соответствующих методик, построенных на регрессионном анализе.

## Заключение

1. Предложена простая модель кинетики массопереноса для сорбционной микросистемы, используемой в рентгенофлуоресцентном анализаторе с предварительным концентрированием. Она основана на модификации известной модели для теплопроводности стержня с источником и стоком на разных концах.

2. С использованием модели проведен анализ экспериментальных данных по спектрам рентгеновской флуоресценции, найдены кинетические и равновесные параметры для сорбции меди и никеля на селективном сорбенте ДЭТАТА.

3. Модель может быть использована для создания аналитических методик высокочувствительного РФА-определения компонентов в растворах.

## Список литературы

1. R. Kh. Khamizov, M. A. Kumakhov, S. V. Nikitina, V. A. Mikhin. New low detection limits for EDXRF analyses on the basis of polycapillary optics and chemical sensors. // SPI Proceed. 2005. V. 4953. P. 151 - 159.

2. Патент РФ № 2096353, опублик. 20.11.1997.

3. Патент РФ № 4411330, опублик. 14.08.2003.

4. Хамизов Р.Х., Груздева А.Н., Мясоедова Г.В., Кумахов М.А., Золотарев П.П. Химические сенсоры для анализа растворов на основе ионообменных и сорбционных материалов. // Сорбционные и хроматографические процессы, Воронеж, 2005, т. 5, вып. 4, с. 448 – 460.

5. Myasoedova G.V. POLYORGS as complexing sorbents for preconcentration of trace metals. // Fresenius Z. Anal. Chem. 1991. V. 341. № 10. P.586-591.

6. Золотов Ю.А., Цизин Г.И., Моросанова Е.И., Дмитриенко С.Г. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа. // Успехи химии, 2005, т. 27, №1, с. 41 – 66.





## Сравнительная адсорбция гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола на нанодисперсном аэрогеле $Al_2O_3$

Колотилов П.Н., Полунин К.Е., Полунина И.А., Ларин А.В.

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

### Аннотация

Статическим методом измерены изотермы адсорбции гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола из смеси *n*-гексана и этилацетата на нанодисперсном аэрогеле оксида алюминия. Показано, что полученные изотермы адсорбции хорошо аппроксимируются уравнением Фрейндлиха для модели локализованной адсорбции на энергетически неоднородных центрах. Обнаружено, что адсорбция гидроксипроизводных *транс*-стильбена на оксиде алюминия выше соответствующих гидроксипроизводных бензола

### Введение

Исследование адсорбционного взаимодействия полифенольных соединений с твердой дисперсной фазой проводится преимущественно методами жидкостной хроматографии с обращенными фазами из водно-органических растворов [1-2]. Равновесная адсорбция таких фенольных соединений, как гидроксистильбены, из органических растворителей на оксидах металлов статическими методами ранее практически не исследовалась. Это обусловлено малой доступностью растительных стильбеноидов и нераспространенностью композиционных препаратов на их основе. Однако благодаря открытию уникальных антивирусных, кардиопротекторных и противораковых свойств натуральных полигидроксистильбенов типа резвератрола, пицеатаннола и рапонтигенина, интерес к изучению физико-химических свойств стильбеноидов во всем мире значительно повысился [3-4]. Были разработаны эффективные методы тотального синтеза функциональных производных *транс*-стильбена (стильбеноидов) из дешевого сырья [5]; появились биологически активные добавки и препараты на основе резвератрола; стильбеноиды стали коммерчески доступными. Их применение в таблетированных лекарственных формах или в косметических средствах предполагает использование наполнителей и пигментов, поэтому исследование процессов межфазных взаимодействий в модельных системах является наиболее перспективным подходом, позволяющим не только прогнозировать свойства реальных композитов, но и оптимизировать их состав, физико-химические и эксплуатационные свойства.

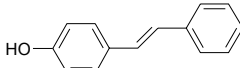
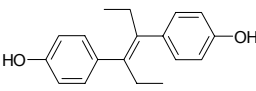
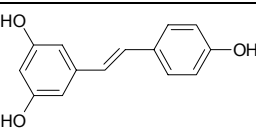
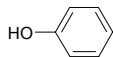
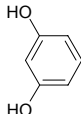
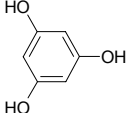
Цель работы – изучение равновесной адсорбции гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола (стильбеноидов и фенолов) из органических растворителей на нанодисперсном аэрогеле оксида алюминия и выявление закономерностей межфазных взаимодействий в данных системах.

## Эксперимент

В качестве адсорбента был выбран аэрогель марки AluC непористого нанодисперсного оксида алюминия фирмы Degussa с размером первичных частиц 12 нм. Этот аэрогель широко используется в производстве медицинской и косметической продукции. Перед использованием в эксперименте адсорбент высушивался 5 ч при температуре 200°C для удаления избытка влаги. Величина удельной поверхности дегидратированного  $Al_2O_3$  рассчитанная по методу БЭТ из изотермы низкотемпературной адсорбции азота, составила 100 м<sup>2</sup>/г.

Структурные формулы адсорбатов – гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола, приведены в табл. 1. Все исследуемые вещества от фирм Acgus (Россия) и Sigma (США) имели 98-99% чистоты. В качестве растворителя использовалась смесь *n*-гексана с этилацетатом в объемном отношении 1:1; оба вещества от фирмы Merck (Германия) имели маркировку «for HPLC».

Таблица 1. Физико-химические свойства стильбеноидов и фенолов

№	Название соединения	Структурная формула	Максимум поглощения, нм
1	<i>транс</i> -4-гидроксистильбен $C_{14}H_{12}O$		319
2	<i>ТРАНС</i> -А,А'-ДИЭТИЛ-4,4'-ДИГИДРОКСИСТИЛЬБЕН (диэтилстильбэстрол) $C_{18}H_{20}O_2$		295
3	<i>транс</i> -3,5,4'-тригидроксистильбен (резвератрол) $C_{14}H_{12}O_3$		326
4	гидроксibenзол (фенол) $C_6H_6O$		272
5	1,3-дигидроксibenзол (резорцин) $C_6H_6O_2$		275
6	1,3,5-тригидроксibenзол (флороглюцин) $C_6H_6O_3$		280

## Обсуждение результатов

Как видно на рис. 1-2, экспериментальные изотермы адсорбции гидроксипроизводных бензола и стильбена представляют собой выпуклые кривые с выходом на плато при равновесных концентрациях 10 – 28 ммоль/л, которые относятся к I типу изотерм адсорбции по классификации [6]. Кривизна изотерм адсорбции и величина адсорбции стильбеноидов увеличиваются с увеличением количества функциональных OH групп, что хорошо видно на рис.2. Емкость монослоев гидроксистильбенов на  $Al_2O_3$ , рассчитанная по уравнению Ленгмюра, изменяется от 0,1 до 0,15 мкмоль/г при адсорбции стильбенов, содержащих от одной до трех OH групп в составе молекулы. Это свидетельствует о важной роли OH групп стильбеноидов в механизме их адсорбционного взаимодействия с гидроксiliрованной поверхностью  $Al_2O_3$ .

При исследовании методом ВЭЖХ хроматографического удерживания стильбеноидов на силикагеле в [7] было предложено моделировать молекулы гидроксисти́льбенов их аналогами из ряда гидроксibenзолов. На рис. 2-3 сопоставлены изотермы адсорбции стильбеноидов и фенолов на  $Al_2O_3$ . Изотермы адсорбции полифенольных соединений, имеющих одинаковое число гидроксильных групп, ведут себя симбатно, и изотермы адсорбции каждой такой пары веществ стильбеноид / фенол довольно близки друг к другу.

Как видно на рис. 1-2, в каждой паре стильбен – фенол с одинаковым количеством ОН групп адсорбция фенола на  $Al_2O_3$  выше адсорбции соответствующего стильбеноида. Величины адсорбции при выходе на плато изменяются от 0,11 и 0,10 ммоль/г для фенола и моногидроксисти́льбена до 0,25 и 0,15 ммоль/г для флороглюцина и резвератрола, соответственно. При этом адсорбция тригидроксипроизводных стильбена и бензола отличается в 2 раза. Таким образом, при адсорбции на амфотерном  $Al_2O_3$  с преобладающими основными свойствами преимущественно обладают полифенолы.

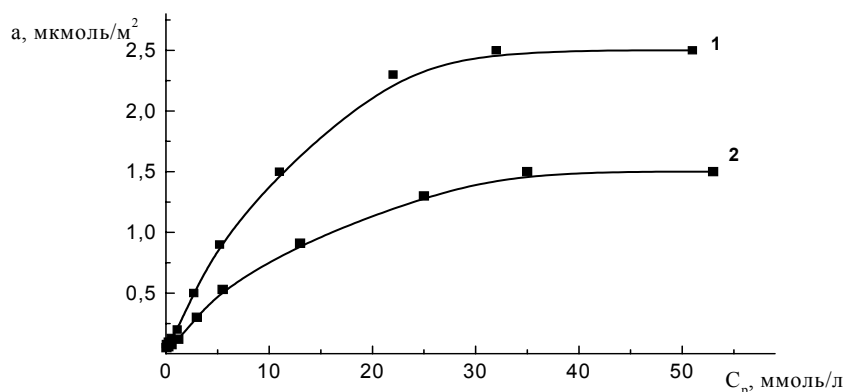


Рис. 1. Изотермы адсорбции флороглюцина (1) и резвератрола (2) из смеси *n*-гексана и этилацетата (1:1) на поверхности  $Al_2O_3$ .

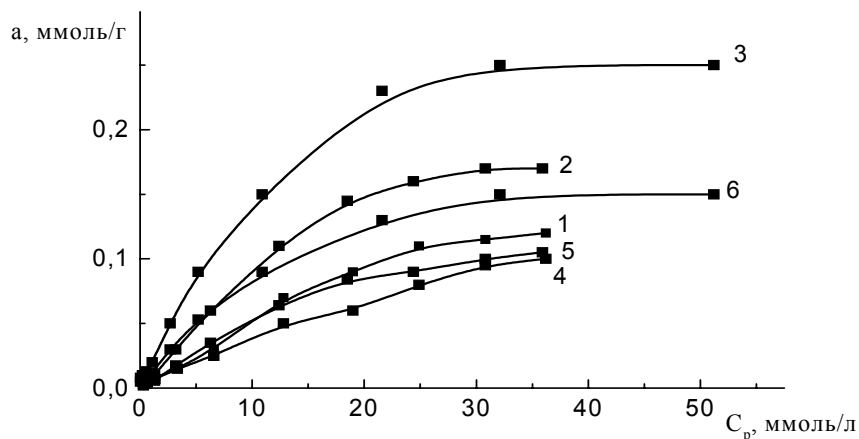


Рис. 2. Изотермы адсорбции фенола (1), резорцина (2), флороглюцина (3), 4-гидроксисти́льбена (4), диэтилсти́льбэстрола (5) и резвератрола (6) из смеси *n*-гексана и этилацетата (1:1) на поверхности  $Al_2O_3$ .

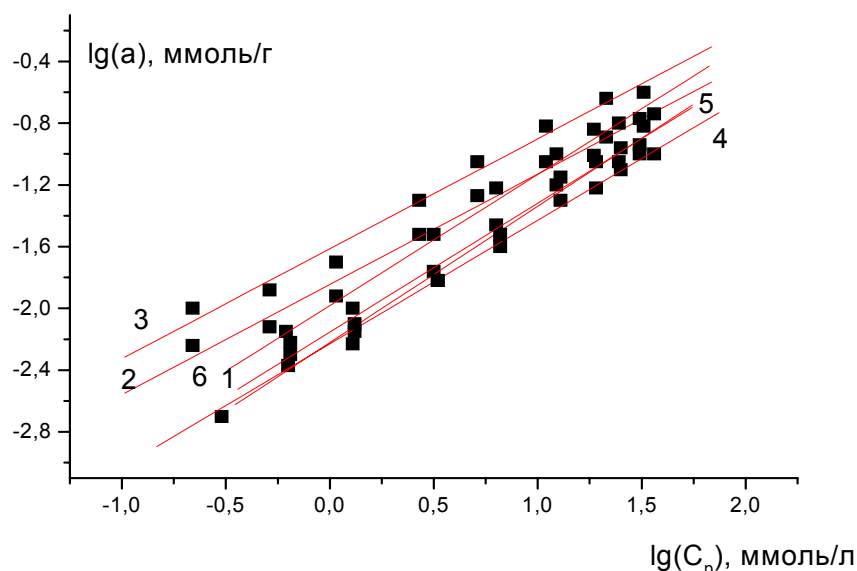


Рис. 3. Изотермы адсорбции в координатах уравнения Фрейндлиха для фенола (1), резорцина(2), флороглуцина (3), 4-гидроксистильбена (4), диэтилстильбэстрола (5) и резвератрола (6) из смеси *n*-гексана и этилацетата (1:1) на поверхности  $Al_2O_3$

Изотермы адсорбции, приведенные на рис. 2, не совсем удовлетворительно аппроксимируются уравнением Ленгмюра для мономолекулярной адсорбции на поверхности с энергетически однородными центрами – коэффициенты корреляции  $r^2$  равны 0,96–0,98. В некоторых случаях величины предельной адсорбции  $a_m$ , рассчитанные по уравнению Ленгмюра, сильно отличаются от величин равновесной адсорбции, которые оценивали по выходу изотерм адсорбции на плато [6].

Более удовлетворительные результаты дает использование модели Фрейндлиха для локализованной адсорбции на поверхности с энергетически неоднородными центрами [6]. На рис. 3 приведены линеаризованные формы изотерм адсорбции гидроксипроизводных стильбена и бензола на оксиде алюминия в координатах уравнения Фрейндлиха  $lg(a_m) = a lg(C_p) - b$ . Здесь изотермы стильбеноидов и фенолов группируются рядом друг с другом в соответствии с одинаковым числом гидроксильных групп в составе молекулы.

Ранее те же закономерности наблюдалась нами для фенолов и стильбеноидов в области весьма малых концентраций, исследованных методом нормально-фазовой жидкостной хроматографии [7-9]. Результаты, полученные в данной работе, позволяют в сотни раз расширить область аппроксимации гидроксистильбенов фенолами с одинаковым количеством функциональных групп.

В табл. 2 приведены коэффициенты уравнения Фрейндлиха, рассчитанные на основании экспериментальных изотерм адсорбции гидроксипроизводных бензола и стильбена из смеси *n*-гексана и этилацетата на  $Al_2O_3$ .

Таблица 2. Коэффициенты уравнения Фрейндлиха, рассчитанные из экспериментальных изотерм адсорбции фенольных соединений на  $Al_2O_3$  из смеси *n*-гексана и этилацетата (1:1)

№	Название	$lg(a_m) = a \cdot lg(C_p) - b,$	
		<i>a</i>	<i>b</i>
1	Гидроксистильбен	0.80	2.93
2	Диэтилстильбэстрол	0.85	2.21
3	Резвератрол	0.68	1.84
4	Фенол	0.84	2.15
5	Резорцин	0.86	2.00
6	Флороглуцин	0.71	1.60

Обнаружено, что во всех случаях коэффициент корреляции  $r^2$  был не ниже 0.99. Такая систематизация и накопление базы данных по адсорбции веществ из смеси растворителей может быть весьма полезна при оптимизации процессов разделения и выделения конечных продуктов из сложных многокомпонентных смесей методами препаративной хроматографии с нормальными фазами.

При сравнении молекул гидроксистильбенов и гидроксibenзолов, приведенных в табл. 1, легко заметить, что при одинаковом количестве ОН групп, их молекулы отличаются количеством бензольных колец и наличием этиленового фрагмента углеводородного радикала. Согласно данным [10-11], олефины, полиены, ароматические соединения способны к специфическому взаимодействию с протонодонорными и электроноакцепторными центрами поверхности оксидов. Например, в [11] методом жидкостной хроматографии было показано, что удерживание ароматических соединений на поверхности силикагеля увеличивается с увеличением количества бензольных колец в молекуле или с увеличением степени ее ароматичности. При исследовании сравнительной адсорбции фенолов и стильбеноидов на силикагеле методом ВЭЖХ нами было установлено, что величина удерживания моногидроксипроизводного стильбена, действительно, несколько больше, чем у фенола при одном и том же значении мольной доли  $X_m$ ; однако ди- и тригидроксистильбены удерживаются слабее ди- и тригидроксibenзолов [8]. Это объясняли разницей в протоноакцепторных свойствах сравниваемых соединений, что существенно при адсорбции на поверхности силикагеля с выраженными кислотными свойствами. При адсорбции на амфотерном оксиде алюминия с выраженными основными свойствами, как было показано выше, адсорбция фенолов во всех случаях превышала адсорбцию стильбеноидов. Для объяснения наблюдаемой закономерности было проведено исследование зависимости величины адсорбции *транс*-стильбена, моделирующего поведение углеводородного радикала стильбеноидов, на оксидах кремния, алюминия и титана в расчете на  $1\text{ м}^2$  их поверхности (рис. 4).

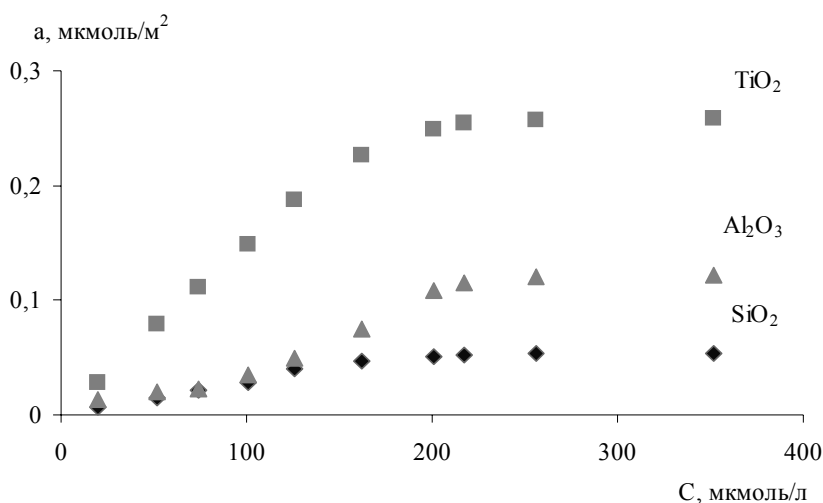


Рис. 4. Изотермы адсорбции *транс*-стильбена из *n*-гексана на оксидах титана, алюминия и кремния

Как видно на рис.4, наиболее сильное адсорбционное взаимодействие наблюдается в системе *транс*-стильбен – TiO<sub>2</sub>, на поверхности которого имеются кислотные и основные ОН группы, а также апротонные центры. Адсорбция *транс*-стильбена на SiO<sub>2</sub> минимальна. Таким образом, углеводородный фрагмент молекул стильбеноидов оказывается очень чувствителен к химии поверхности оксидов и вносит заметный вклад в суммарную энергию взаимодействия молекул с твердой фазой. В частности, адсорбция *транс*-стильбена на Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> вдвое выше его адсорбции на SiO<sub>2</sub> в области монослоя, что можно объяснить наличием основных ОН групп и координационно-ненасыщенных ионов Al<sup>3+</sup> на поверхности Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [12].

Таким образом, адсорбция стильбеноидов чувствительна к наличию ОН групп и электроноакцепторных центров на поверхности оксидов. При сопоставлении молекул фенолов и стильбеноидов можно заметить, что молекулы стильбеноидов имеют значительно большее количество сопряженных двойных связей, чем молекула фенола. Это приводит к обобществлению и рассредоточению  $\pi$ -электронов с образованием подвижной изоэлектронной структуры. Дополнительное сопряжение ароматического ядра со свободной электронной парой кислорода ОН групп усиливает эффект гиперконъюгации в копланарных молекулах и уменьшает величину энергии, необходимой для их электронного возбуждения. Различие в электронной структуре стильбеноидов и фенолов отражается в их электронных спектрах – наблюдается bathochromное смещение максимума полосы УФ поглощения стильбеноидов по сравнению с соответствующими фенолами (табл. 1). В целом, в результате эффекта гиперконъюгации повышаются электронодонорные свойства молекул (основность по Льюису) и их способность к стабилизации фенолят-анионов [13]. Наиболее ярко эти особенности полисопряжения проявляются у стильбеноидов, т.к. для них выше вероятность делокализации отрицательного заряда из-за существования большего количества резонансных структур.

Различие в протонно- и электронодонорных свойствах молекул стильбеноидов и фенолов заметно проявляется при их взаимодействии с компонентами растворителя. в УФ спектрах растворов стильбеноидов в этилацетате значения сдвигов максимума поглощения значительно выше, чем у фенолов (табл. 3). Таким образом, этилацетат, сольватирует молекулы полифенолов, усиливая основность гидроксистиленов в большей степени, чем фенолов.

Повышенная сольватации молекул стиленов полярным этилацетатом способствует снижению величины их адсорбции из этого растворителя, по сравнению с неполярным *n*-гексаном, что хорошо видно на рис. 5.

Таблица 3. Максимумы полос поглощения стильбеноидов и фенолов в *n*-гексане и этилацетате

Соединение	Характерные максимумы полос поглощения в растворителях ( $\lambda$ , нм)	
	<i>n</i> -гексан	Этилацетат
Транс-стильбен	294, 306, 318	298, 311, 325
Транс-4-гидроксистилен	304, 319, 335	306, 321, 336
Диэтилстильбэстрол	286, 295	289, 297
Резвератрол	305, 321, 338	306, 325, 343
Пицеатаннол	305, 326, 345	306, 329, 347
Фенол	272	274
Резорцин	275	277

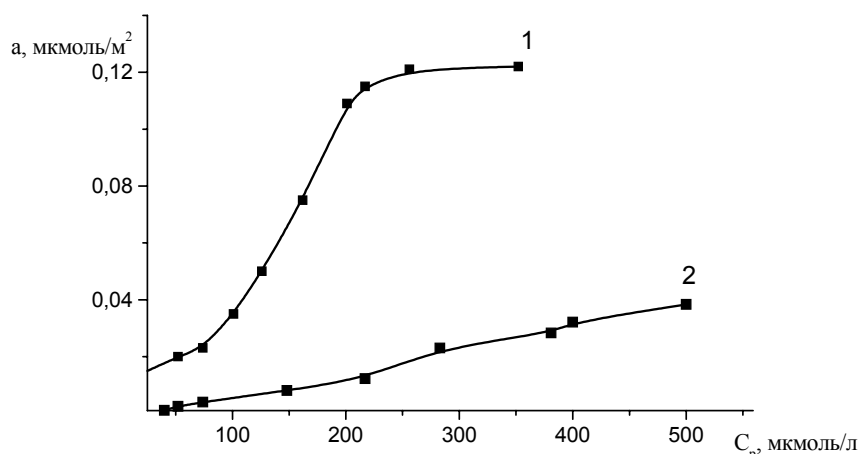


Рис. 5. Изотермы адсорбции *транс*-стильбена из *n*-гексана (1) и этилацетата (2) на поверхности  $Al_2O_3$

Из-за повышенной электронной плотности молекулы стильбеноидов и фенолов склонны к реакциям электрофильного замещения и присоединения, поэтому их взаимодействие с катионами и кислотами Льюиса предпочтительнее, чем взаимодействие с анионами и основаниями Льюиса [10, 13]. Т.е. адсорбция на поверхности  $Al_2O_3$  (и тем более на  $TiO_2$ ) должна быть больше, чем на силикагеле, что и обнаружено экспериментально.

С другой стороны, при сравнении пары гидроксистильбен – фенол легко заметить, что гидроксистильбен – это фенол с ароматическим заместителем в *пара*-положении. Благодаря эффекту гиперконъюгации, наличие ОН группы во втором бензольном кольце стильбена мгновенно отражается на электронной плотности его первого кольца. Как известно, любая группа в ароматическом кольце, действующая как донор электронов, приводит к возрастанию активности молекулы по отношению к действию электрофильных реагентов и снижению ее активности к действию нуклеофильных реагентов [13]. Поэтому фенолы сравнительно лучше адсорбируются на более основном  $Al_2O_3$ , чем на силикагеле. В случае полифенолов и полигидроксистильбенов необходимо учитывать согласованность действия заместителей в бензольном кольце, поскольку это существенно отражается на электронодонорных свойствах молекул [11].

Таким образом, адсорбция стильбеноидов и полифенолов на оксидах металлов зависит от электронодонорных свойств молекул, т.е. от их функционализации и степени ароматичности углеводородных радикалов.

Исследование десорбции стильбеноидов с поверхности оксидов позволило установить, что на  $SiO_2$  гидроксистильбены адсорбируются полностью обратимо и легко удаляются с модифицированной поверхности растворителем [9]. Адсорбция гидроксистильбенов на  $Al_2O_3$  частично необратима. Поскольку сведений о механизме взаимодействия стильбеноидов с  $Al_2O_3$  в литературе не обнаружено, то можно только предположить, что происходит химическое взаимодействие молекул гидроксистильбенов с поверхностными основными ОН группами и координационно-ненасыщенными ионами  $Al^{3+}$  [10, 12]. Подтвердить или опровергнуть это предположение можно будет только после идентификации поверхностных соединений другими методами физико-химических исследований, например, ИК-фурье-спектроскопии и термодесорбционной хромато-масс-спектрометрии.

## Заключение

Статическим методом измерены изотермы адсорбции гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола из смеси *n*-гексана с этилацетатом (1:1) на нанодисперсном непористом аэрогеле оксида алюминия.

Показано, что экспериментальные изотермы адсорбции хорошо аппроксимируются уравнением Фрейндлиха для модели локализованной адсорбции на энергетически неоднородных центрах.

Обнаружено, что величина адсорбции стильбеноидов на  $Al_2O_3$  увеличивается с увеличением количества ОН групп в молекулах ( $n = 1 \div 4$ ) и протекает частично необратимо. Адсорбция стильбеноидов и фенолов с одинаковым количеством ОН групп изменяется практически симбатно.

Проведено сопоставление адсорбции стильбеноидов и фенолов на  $Al_2O_3$ . Показано, что адсорбция гидроксипроизводных бензола на  $Al_2O_3$  выше адсорбции гидроксипроизводных *транс*-стильбена с тем же количеством ОН групп. Предложено объяснение обнаруженных зависимостей на основании анализа кислотно-основных свойств адсорбента и адсорбатов.

*Работа поддержана грантами РФФИ (№ 06-03-33185) и Фонда содействия отечественной науке.*

## Список литературы

1. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии // Успехи химии. 2007. Т.76. № 1. С. 88-101.
2. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии: Пер. с англ. / Под ред. А.Хеншен, К.-П. Хупе, Ф. Лотшпайх и др. М.: Мир, 1988. С.688.
3. Jang M., Cai L., Pezzuto J.M., et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes // Science. 1997. V. 275. P. 218-220.
4. Jang D.S., Kang B.S., Ryu S.Y., et al. Inhibitory effects of resveratrol on oxygen radical production // Biochem. Pharmacology. 1999 V. 57. P. 705-712.
5. Polunin K.E., Schmalz H.-G.  $\eta^6$ -Arene-Tricarbonylchromium Complexes in the Syntheses of *trans*-Resveratrol and Pinostilbene // Mendeleev Communications. 2002. N. 5. P. 178-180.
6. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. М.: Мир, 1984. С.247.
7. Ларин А.В., Полуниин К.Е. Сравнительное удерживание резвератрола и флороглюцина в прямофазной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2003. Т.3. Вып. 3. С. 268-271.
8. Полуниин К.Е., Полунина И.А., Ролдугин В.И. Влияние строения стильбеноидов на их взаимодействие с силикагелем // Сорбционные и хроматографические процессы. 2003. Т.3. Вып. 5. С. 567-577.
9. Полуниин К.Е., Колотилов П.Н., Полунина И.А. Взаимодействие стильбеноидов с поверхностью силикагеля в органических средах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. Вып. 3. С.389-396.
10. Давыдов А.А. ИК-спектроскопия в химии поверхности окислов. Новосибирск: Наука, 1984. С.242
11. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. М.: Химия, 1986. С.272.
12. The Chemical Physics of Solid Surfaces. V.9. Oxide surfaces. / Ed. D.P. Woodruff. Elsevier: Amsterdam, 2001. P.123.
13. Сайкс П. Механизмы реакций в органической химии. М.: Химия, 1977. С.138





## Исследование механизма и кинетики пиролиза карбоксилсодержащих соединений, адсорбированных на поверхности нанодисперсной твердой фазы

Полунин К.Е., Дзарданов Д.В., Буряк А.К., Ульянов А.В., Полунина И.А.

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

### Аннотация

Методами хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии изучен механизм и кинетика пиролиза карбоновых кислот с коротко- и длинноцепочечным алифатическим радикалом, адсорбированных на нанодисперсных порошках оксида титана и алюминия. Полученные результаты сопоставлены с термостойкостью индивидуальных органических соединений. Показано, что иммобилизация высокомолекулярных карбоксилсодержащих соединений на поверхности нанодисперсного алюминия снижает их термостойкость

### Введение

Исследование взаимодействий на границе раздела фаз проводится, как правило, с использованием комплекса различных физико-химических методов [1]. Изучение процессов десорбции и деструкции, пиролиза и катализа органических соединений, адсорбированных на поверхности твердой дисперсной фазы, удобно проводить с помощью методов хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии. Это существенно расширяет возможности идентификации образующихся продуктов, позволяет детально исследовать механизмы и энергетику межмолекулярных взаимодействий на межфазных границах, устанавливать корреляции между квантово-химическими свойствами молекул и наблюдаемыми макроскопическими изменениями, получать информацию о свойствах модифицирующих слоев [2-5].

При использовании термических методов для исследования пиролиза органических соединений, адсорбированных на поверхности металлов и их оксидов, получают данные, характеризующие кинетику и энергетику наблюдаемых процессов десорбции, деструкции, диспропорционирования, окисления, полимеризации и т.п. [3]. Важность этого направления исследований связана с решением не только структурных задач, но и с возможностью исследования механизма реакций, которые играют значительную роль в органической, биоорганической и координационной химии [2]. Однако, как отмечается в [4], полученные термическим методом кинетические параметры характеризуют не элементарную химическую реакцию, а процесс выделения вещества целом, поэтому имеют несколько иной физический смысл, чем тот, который мог бы быть им приписан на основании кинетики гомогенных реакций. В частности, энергия активации десорбции  $E_{A,dec}$  является верхним пределом теплоты адсорбции  $q_{ads}$ , а процесс десорбции требует энергии активации, по меньшей мере, равной теплоте адсорбции. Для расчета кинетических параметров процесса

пиролиза предложено несколько методов, из которых наиболее простым является метод Фримена-Кэррола [6], а наиболее теоретически обоснованным – метод характеристических точек [4-5].

Целью данной работы являлось исследование механизма и кинетики пиролиза карбоксилсодержащих алифатических соединений на поверхности металлов и их оксидов методами термодесорбционной масс-спектрометрии (ТДМС) и хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

## Эксперимент

В качестве объектов исследования были выбраны карбоксилсодержащие соединения с различной длиной алифатического радикала: ледяная уксусная кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , стеариновая кислота  $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{COOH}$  марки х.ч. («Химпром») и дивинильный олигомер ( $M_n = 3000$ ) с двумя концевыми карбоксильными группами марки СКД-КТР, синтезированный методом радикальной полимеризации.

В качестве адсорбентов использовались: аэрогель  $\text{TiO}_2$  марки P-25 (Degussa) с размером первичных частиц до 12 нм, а также нанодисперсный порошок алюминия, синтезированного методом испарения – конденсации [7], с размером первичных частиц до 8 нм. По данным рентгенографии и электронной микроскопии, на воздухе порошок Al в основном содержит агрегаты частиц размером до 45 мкм. Удельная поверхность адсорбентов, определенная по низкотемпературной адсорбции азота (метод БЭТ), составляет 55 и 7  $\text{м}^2/\text{г}$ , соответственно, для  $\text{TiO}_2$  и Al.

Модифицирование порошков карбоксилсодержащими соединениями осуществлялось из 1% растворов в октане в расчете на монослойное покрытие. Модифицированные порошки высушивались на воздухе при 22°C. Спектры ТДМС регистрировались в интервале температур 30 – 800°C на масс-спектрометре Varian MAT-311A с пиролитической ячейкой и на хромато-масс-спектрометре JMS-D 300 (Jeol, Япония) в интервале 30 – 400°C. В обоих случаях энергия ионизирующих электронов составляла 70 эВ, ускоряющее напряжение – 3 эВ, температура ионизационной камеры – 150°C. Образцы массой 1–5 мг помещались в кварцевый пиролизер, непосредственно соединенный с ионным источником масс-спектрометра, и нагревались с постоянной скоростью  $v$ , величина которой варьировалась от 2 до 50 град/мин. Время регистрации спектров составляло от 2 до 10 с в диапазонах массовых чисел 10 – 300  $m/z$  или 40 – 800  $m/z$ , где  $m/z$  ( $M/z$ ) – отношение массы осколочных (молекулярных) ионов к их заряду. Масс-спектры расшифровывали, опираясь на основные закономерности фрагментации органических соединений под электронным ударом [8-9]. Полученные результаты были представлены в виде кривых полного ионного тока, масс-спектров всех продуктов термодесорбции и масс-хроматограмм по отдельным, характерным для исследуемого вещества ионам. Из кривой полного ионного тока были выделены кривые термодесорбции для основных фрагментных ионов различных веществ, присутствующих на поверхности, а также продуктов их взаимодействия и пиролиза.

## Результаты и их обсуждение

Изучению адсорбции карбоксилсодержащих соединений на поверхности дисперсных металлов и оксидов посвящено довольно много исследований [1, 10, 11]. Ранее в [12-13] нами был изучен механизм формирования адсорбционных слоев алифатических карбоновых кислот и изучена кинетика их адсорбции на оксиде титана рутильной модификации. Показано, что модифицирующий слой кислоты неоднороден, состоит из молекул, образующих физические и химические связи с поверхностью оксидов, при этом часть поверхностных карбоксилатов (хемосорбированных молекул кислоты) разрушается при воздействии паров воды и спирта. В настоящее время установлено, что в результате

хемосорбции карбоновых кислот образуются несколько форм поверхностных карбоксилатов – монодентатные, бидентатные и хелатные, которые имеют несколько отличающееся поглощение в ИК-спектре модифицированной поверхности [10, 11].

На рис. 1 приведены некоторые результаты исследования десорбции уксусной кислоты с поверхности  $\text{TiO}_2$ , полученные методом ТДМС. Полный масс-спектр продуктов пиролиза кислоты намного сложнее. Представленные на рисунке масс-термограммы характеризуют зависимость интенсивности выделения ионизированных продуктов десорбции и деструкции от температуры модифицированного образца, нагреваемого с линейной скоростью 10 градусов в минуту.

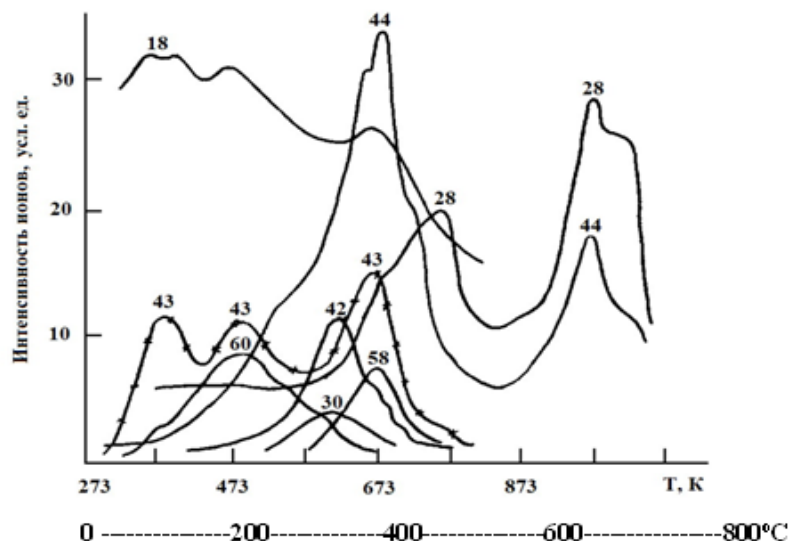


Рис. 1. Масс-термограммы продуктов пиролиза уксусной кислоты на  $\text{TiO}_2$ . Цифры на масс-линиях характеризуют  $M/z$  – отношение массы ионов к их заряду

По данным ТДМС, основным продуктом десорбции с поверхности  $\text{TiO}_2$ , модифицированного уксусной кислотой, в широком интервале температур является вода ( $M/z$  18), на масс-линии которой фиксируется несколько пиков при 100, 200 и 400°C. В области 100 - 200°C наблюдается интенсивное выделение молекул уксусной кислоты (на рис. 1 приведены ее молекулярный и основной осколочный ионы  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$  с  $M/z$  60 и  $\text{CH}_3\text{CO}$  с  $m/z$  43, соответственно). Первый максимум выделения кислоты при 130°C приходится на десорбцию физически адсорбированных молекул, что подтверждается данными ИК-спектроскопии и значением кинетических параметров процесса, рассчитанных по уравнению Фримена-Кэррола [6]: энергии активации десорбции  $E_d = 20$  кДж/моль и порядка реакции  $n = 1$ .

Второй максимум при 200°C на термограмме десорбции уксусной кислоты, по данным ИК-спектроскопии, соответствует состоянию монослоя, когда физически адсорбированные молекулы кислоты практически полностью десорбированы и на поверхности присутствуют только хемосорбированные молекулы [12]. Поскольку при той же температуре наблюдается максимум на масс-термограмме десорбции воды с поверхности  $\text{TiO}_2$ , можно предположить, что имеет место термогидролиз поверхностных ацетатов. Энергия активации десорбции уксусной кислоты в этой области составляет 45 кДж/моль, порядок реакции  $n = 1$ .

Как было установлено в [13], при воздействии воды разрушается до 25% монослоя из хемосорбированных молекул уксусной кислоты. По данным авторов [11], изучавших особенности различных форм поверхностных ацетатов на  $\text{TiO}_2$ , наименее прочная связь с поверхностью у монодентатно связанных форм. По-видимому, именно они подвергаются термогидролизу и десорбируются с поверхности  $\text{TiO}_2$  при 200°C в молекулярной форме.

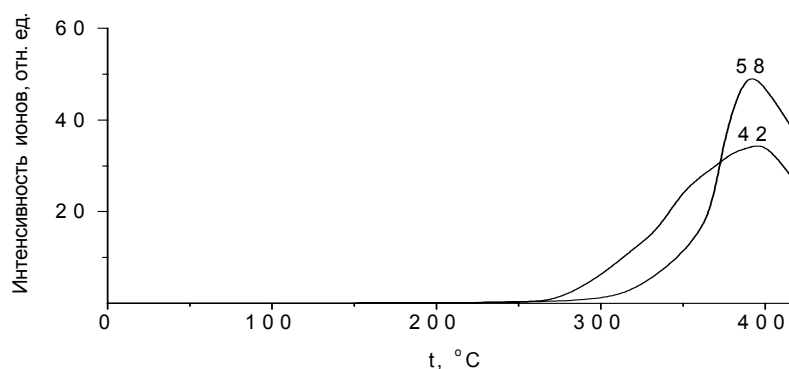
Ацетаты, образующие более прочные связи с поверхностью  $\text{TiO}_2$  – бидентатные и хелатные формы – не подвержены гидролизу [12, 13]. При повышении температуры до 300 -

450°C эти соединения подвергаются деструкции. Методом ТДМС идентифицированы такие продукты пиролиза, как формальдегид  $\text{CH}_2\text{O}$  ( $M/z$  30,  $T_{\text{max}} = 613 \text{ K}$ ,  $E_A = 120 \text{ кДж/моль}$ ,  $n = 2$ ); кетен  $\text{CH}_2\text{CO}$  ( $M/z$  42,  $T_{\text{max}} = 633 \text{ K}$ ,  $E_A = 125 \text{ кДж/моль}$ ,  $n = 2$ ) и ацетон  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$  ( $M/z$  56, осколочный ион  $m/z$  43,  $T_{\text{max}} = 673 \text{ K}$ ,  $E_A = 140 \text{ кДж/моль}$ ,  $n = 2$ ). По-видимому, ацетон образуется при взаимодействии двух соседних поверхностных ацетатов. Высокие значения энергии активации выделения формальдегида, кетена и ацетона (120-140 кДж/моль) свидетельствуют о том, что в этой температурной области происходит деструкция, каталитическое окисление и димеризация поверхностных соединений. Образование кетонов ранее наблюдалось при разложении карбоксилатов переходных металлов [14].

Бидентатные и хелатные формы ацетатов удерживаются на поверхности  $\text{TiO}_2$  вплоть до 450°C, что значительно выше температуры разложения чистой уксусной кислоты [15]. При 500°C каталитические превращения органических соединений практически полностью завершаются. Интенсивное образование  $\text{CO}$  ( $M/z$  26) и  $\text{CO}_2$  ( $M/z$  44) при 700°C связано с окислением остаточной органики кислородом, выделяющимся при разрыве титоксановых связей и термовосстановлении ионов  $\text{Ti}^{4+}$  в  $\text{Ti}^{3+}$  [16].

Известно, что карбоновые кислоты химически взаимодействуют со многими металлами и оксидами, при этом центрами хемосорбции карбоновых кислот могут быть как основные OH группы, так и координационно-ненасыщенные ионы металлов [10, 13, 16]. Оба типа этих центров присутствуют на поверхности Al и его оксида, пассивирующего поверхность металла [17, 18].

а



б

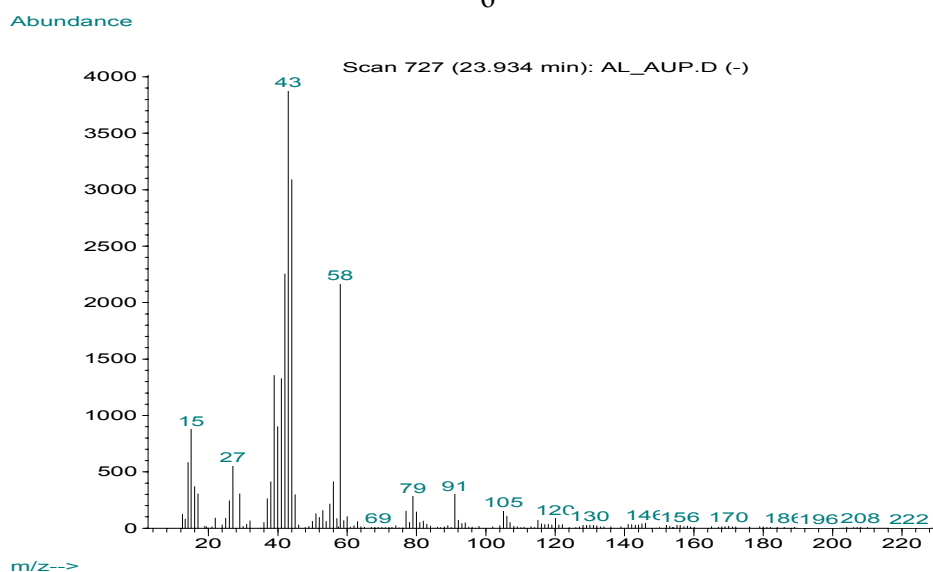


Рис. 2. а – Масс-термограммы продуктов пиролиза уксусной кислоты на поверхности алюминия: ацетона ( $M/z$  58) и кетена ( $M/z$  42); б – Полный масс-спектр продуктов пиролиза уксусной кислоты на поверхности алюминия

На рис. 2 представлены результаты исследования методом ТДМС десорбции уксусной кислоты с поверхности нанодисперсного алюминия, а также анализа методом ГХ-МС продуктов пиролиза хемосорбированной кислоты. В масс-спектре продуктов термодесорбции были обнаружены характерные ионы уксусной кислоты ( $M/z$  60 и  $m/z$  43), а также ионизированные продукты деструкции и катализа – ацетон ( $M/z$  58,  $m/z$  43) и кетен ( $M/z$  42). Полный масс-спектр продуктов пиролиза монослоя уксусной кислоты на Al (рис. 2б) содержит заметное количество ионов с массой, большей 60, что возможно в результате каталитической изомеризации и полимеризации поверхностных соединений [14]. Процесс завершается полным сгоранием органических продуктов при 500-700°C и образованием CO ( $M/z$  28), CO<sub>2</sub> ( $M/z$  44), воды ( $M/z$  18).

Сравнение результатов исследования пиролиза уксусной кислоты на оксиде титана и алюминии показывает, что в обоих случаях наблюдаются практически одинаковые превращения: разрушение монослоя поверхностных ацетатов начинается при температуре выше 100°C и заканчивается при 500°C, сопровождаясь деструкцией поверхностных соединений, их каталитическим окислением, изомеризацией и полимеризацией, но на алюминии заметно интенсивнее процессы полимеризации и образования ионизированных продуктов с большими массами.

Влияние длины углеводородного радикала карбоновых кислот на механизм и кинетику пиролиза их адсорбционных слоев на алюминии исследовалось на примере стеариновой кислоты.

На рис. 3а приведены масс-термограммы некоторых ионизированных продуктов деструкции стеариновой кислоты на нанодисперсном алюминии. Сама кислота практически нелетуча и разлагается при 150°C [15], поэтому молекулярного иона с  $M/z$  298 не обнаружено. Максимальное образование характерных ионов карбоновых кислот с  $m/z$  60 и 73 наблюдается при 100°C, а максимум выделения осколочного иона углеводородного фрагмента с  $m/z$  57 приходится на 150°C. По-видимому, при этой температуре начинается деструкция алифатического радикала C<sub>18</sub>. Масс-спектрометрический анализ показывает, что после удаления с поверхности алюминия физически адсорбированных молекул кислоты максимум выделения продуктов пиролиза поверхностных стеаратов приходится на 390°C (рис. 3б).

Полный масс-спектр продуктов пиролиза стеариновой кислоты при 400°C (рис. 3в) содержит значительное количество молекулярных, осколочных и перегруппировочных ионов различных предельных и непредельных углеводородных соединений. Он намного сложнее масс-спектра продуктов пиролиза уксусной кислоты (рис. 2б) в связи с протеканием каталитических реакций диспропорционирования, дегидрирования, изомеризации, циклизации, полимеризации и т.д., сопровождающих процесс крекинга углеводородов на поверхности алюминия [14].

Увеличение длины алифатического радикала карбоновой кислоты, по данным [19], не сказывается на механизме ее адсорбционного взаимодействия с поверхностью металлов и оксидов, поэтому адсорбция олигомеров и полимеров преимущественно определяется химическим взаимодействием активных функциональных групп макромолекул с адсорбционными центрами поверхности. Но наличие нескольких карбоксильных групп делает адсорбцию кислот многоцентровой и может повлиять на их деструкцию [19, 20]. Поэтому в качестве третьего исследуемого модификатора был выбран дивинильный олигомер с двумя концевыми карбоксильными группами – дикарбоновая кислота с молекулярной массой 3000.

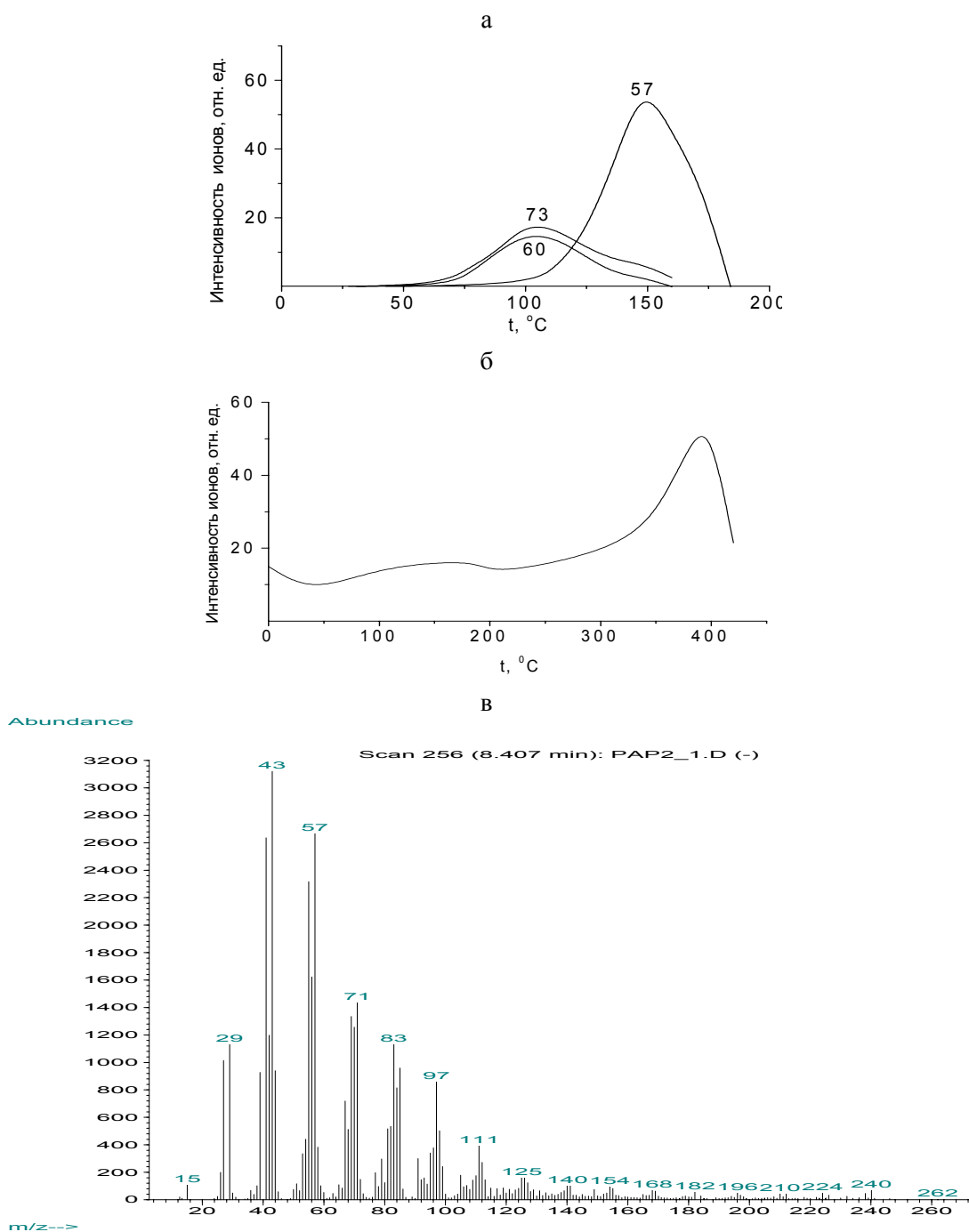


Рис. 3. а – Масс-термограммы продуктов пиролиза стеариновой кислоты на поверхности алюминия: ацетона ( $M/z$  58), кетена ( $M/z$  42), углеводорода ( $M/z$  57).

б – Полный ионный ток, характеризующий интенсивность процесса пиролиза

в – Полный масс-спектр продуктов пиролиза стеариновой кислоты на поверхности алюминия при 400°C

На рис. 4 приведены масс-термограммы продуктов пиролиза чистого карбоксилированного олигомера и его монослоя на поверхности нанодисперсного алюминия.

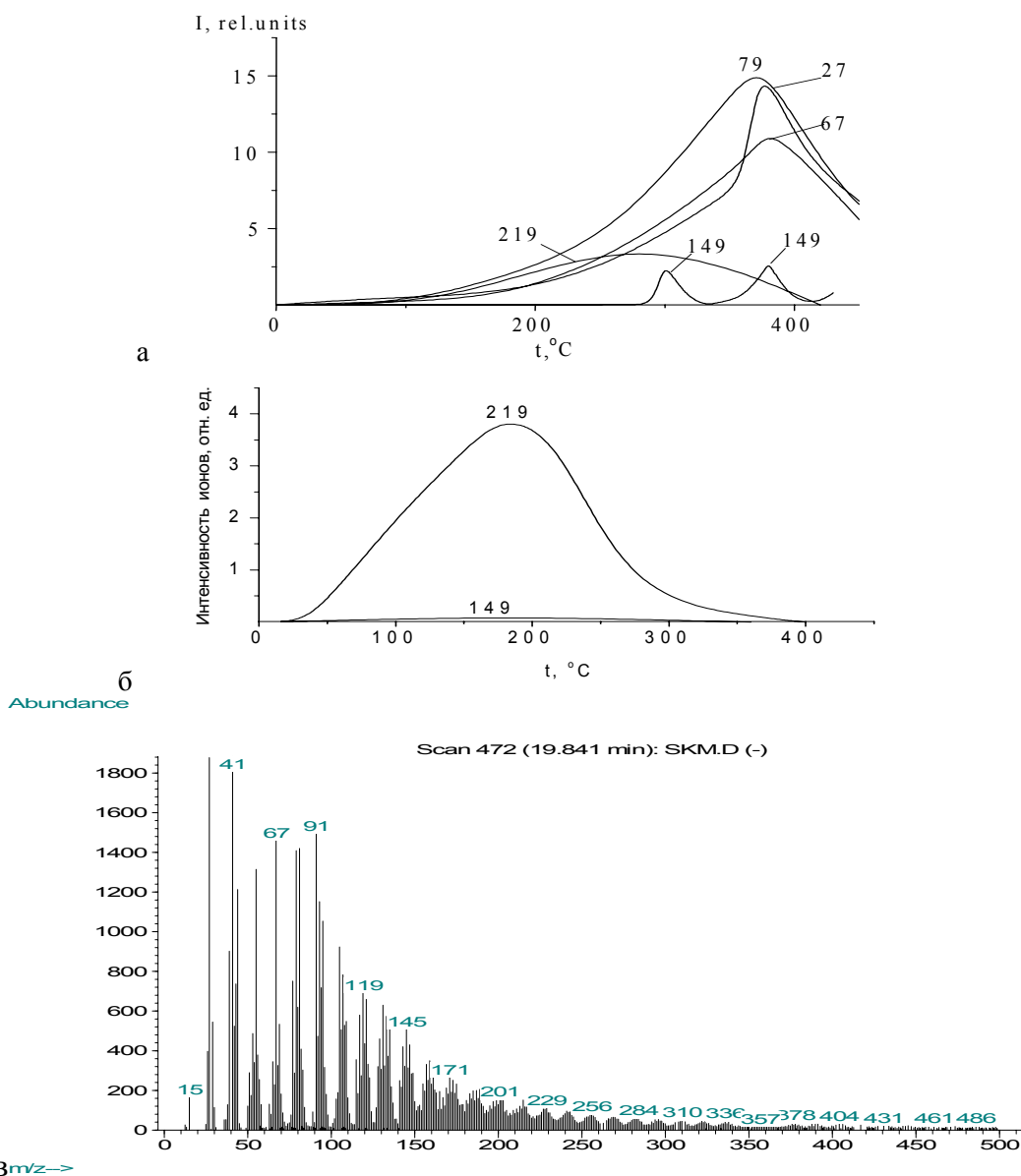


Рис. 4. Масс-термограммы продуктов пиролиза карбоксилированного дивинильного олигомера (б) и его монослоя на поверхности алюминия (а). Полный масс-спектр продуктов пиролиза олигомера на алюминии при 400°C (в).

Пиролиз карбоксилированного олигомера начинается при температурах выше 400°C. На его масс-термограмме (рис. 4б) во всей области исследуемых температур 50 – 400 °C обнаружено выделение лишь небольшого количества стабилизатора – N-фенил- $\alpha$ -нафтиламина (характерный осколочный ион с  $m/z$  219) и следов пластификаторов – ди-*n*-бутил- и ди(этилгексил)-фталатов (характерный ион с  $m/z$  149) [20]. Известно, что химически активные молекулы стабилизаторов и пластификаторов способны к сильному взаимодействию с функциональными группами и дивинильными радикалами, однако воздействие высоких температур приводит к испарению этих летучих соединений – максимум выделения амина и фталатов наблюдается при 180-200 °C (рис. 4б). Удаление стабилизатора снижает термостойкость олигомера.

Адсорбция карбоксилированного дивинильного олигомера на нанодисперсном алюминии приводит к образованию монослоя, состоящего из молекул, образующих физические и химические связи с поверхностью [21]. Деструкция адсорбированного олигомера начинается при более низких температурах, чем чистого олигомера. В частности, появление некоторых продуктов деструкции становится заметным уже при 200°C (рис. 4а).

Интересно отметить, что интенсивность выделения N-фенил- $\alpha$ -нафтиламина ( $m/z$  219) из олигомера, адсорбированного на поверхности, значительно меньше, чем из исходного олигомера (рис. 4 а,б), в отличие от выделения фталатов ( $m/z$  149). Максимум выделения амина и фталатов из адсорбированного олигомера смещен в сторону более высоких температур, причем выделение фталатов описывается масс-термограммой с двумя пиками при температурах 300 и 380°C, относительная интенсивность которых сравнима с интенсивностью пика с  $m/z$  219 в этом интервале температур.

Значительное увеличение температуры выделения N-фенил- $\alpha$ -нафтиламина и ди-*n*-бутил-, ди(этилгексил)-фталатов из адсорбированного карбоксилсодержащего олигомера при одновременном снижении температуры его деструкции позволяет предположить, что молекулы стабилизатора и пластификаторов, выделяясь из дивинильного олигомера, одновременно адсорбируются на поверхности алюминия. Высокие температуры, необходимые для десорбции этих соединений, свидетельствуют об образовании химических связей с поверхностью алюминия. Полный масс-спектр продуктов пиролиза олигомера на алюминии при 400°C (рис. 4в) содержит характерные ионы карбоновых кислот, а также большое количество осколочных и перегруппировочных ионов.

## Заключение

Таким образом, методами хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии изучен механизм и кинетика пиролиза карбоновых кислот с коротко- и длинноцепочечным алифатическим радикалом, адсорбированных на нанодисперсных порошках оксида титана и алюминия. Полученные результаты сопоставлены с термостойкостью индивидуальных органических соединений. Показано, что деструкция уксусной кислоты, хемосорбированной на оксидах титана и алюминии, наблюдается при 300-400°C и сопровождается каталитическим окислением поверхностных ацетатов, их изомеризацией и полимеризацией (энергия активации выделения продуктов  $E_A = 120-140$  кДж/моль,  $n = 2$ ). В отличие от оксида титана, на алюминии заметно интенсивнее протекают процессы полимеризации и образования продуктов с большими массами.

Деструкция стеариновой кислоты на алюминии начинается при 100-150°C, максимум выделения продуктов пиролиза поверхностных стеаратов приходится на 390°C. Полный масс-спектр продуктов пиролиза содержит значительное количество молекулярных, осколочных и перегруппировочных ионов различных предельных и непредельных углеводородных соединений.

Иммобилизация карбоксилсодержащего дивинильного олигомера на поверхности нанодисперсного алюминия снижает термостойкость высокомолекулярного соединения.

*Работа поддержана грантами РФФИ (№ 06-03-33185) и Фонда содействия отечественной науке.*

## Список литературы

1. Флиер Г., Ликлема Я. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел. М.: Мир, 1986. С.184.
2. Складов А.В. Реакции на поверхности катализаторов в условиях программированного нагрева // Успехи химии. 1986. Т.LV. В 3. С. 450-481.
3. Хмельницкий Р.А., Лукашенко И.М., Бродский Е.С.. Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений. М.: Химия. 1980. 280 с.
4. Павлова С.-С.А., Журавлев И.В., Толчинский Ю.И. Термический анализ органических и высокомолекулярных соединений. (Методы аналитической химии.) М.: Химия. 1983. 120 с.



5. 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.
6. Freeman E.C., Carroll B. // J.Phys.Chem. 1958. V.62. P.394-402.
7. Натансон Э.М., Ульберг З.Р. Коллоидные металлы и металлополимеры. Киев: Наукова думка, 1971.
8. Вульфсон Н.С., Заикин В.Г., Микая А.И. Масс-спектрометрия органических соединений М.: Химия. 1986.
9. Каталог сокращенных масс-спектров. / Под ред. А.М.Колчина. Новосибирск: Химия. 1981. С.187.
10. Parfitt G.D. Surface chemistry of metallic oxides // Pure and Appl. Chem. 1976. V.48. P. 415-417.
11. Griffiths D.M., Rochester N.I. Infrared study of adsorption of acetic acid on rutile surface // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1. 1977. V.73. P. 1998-1997.
12. Polunina I. A., Isirikyan A. A., Mikhailova S.S. Polounine K.E. Double chemical modification of the rutile surface // Colloids and Surfaces. A. 1995. V.105. P.159-165/
13. Исирикян А.А., Михайлова С.С., Полунина И.А. и др. Модифицирование поверхности двуокиси титана карбоновыми кислотами и строение адсорбционных слоев // Известия АН СССР. Сер. хим.1981. № 11. С.2452-2456.
14. Гейтс Б., Кетцир Дж., Шуйт Г. Химия каталитических процессов. Пер. с англ./ Под ред. Платэ А.Ф. М.: Мир. 1981.
15. Несмеянов А.Н., Несмеянов Н.А. Начала органической химии. Т.1. М.: Химия, 1974. С.152-153.
16. Diebold U. The surface science of titanium dioxide // Surface Sci. Reports. 2003. V.48. N.5-8. P.53-229.
17. Karlsson F., Palmqvist A., Holmberg K. Surface modification for aluminium pigment inhibition // Adv. Colloid Interface Sci. 2006. V.128-130. N.3. P. 121-134.
18. Липпенс Б.К., Стеггерда Й.Й. Строение и свойства адсорбентов и катализаторов. Пер. с англ./ Под ред. Линсена Б. Г. М.: Мир, 1973. С. 190.
19. Липатов Ю.С., Сергеева Л.М. Адсорбция полимеров. Киев: Наукова Думка, 1972.
20. Брык М.Т. Деструкция наполненных полимеров. М.: Химия, 1989. С. 192.
21. Колесникова Т.П., Полунина И.А., Ролдугин В.И. Адсорбционное модифицирование дисперсного алюминия. Влияние адсорбции ПАВ и полимеров на коллоидные и физико-механические свойства органосуспензий // Коллоид.журн. Т.64. № 3. С.354-362.



## Об особенностях ионного обмена и математическом моделировании и расчете динамических ионообменных процессов на природных клиноптилолитах

Никашина В.А.

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

### Аннотация

Клиноптилолитсодержащие туфы (КЛПТы) как ионообменники играют важную роль при решении различных задач очистки воды. Как известно, кратчайший научно-обоснованный путь определения оптимальных условий реализации любого ионообменного процесса лежит через математическое моделирование стадий сорбции и регенерации. Теория ионообменной динамики разрабатывалась много лет и используется для моделирования и расчета технологических задач, решаемых на ионообменных смолах. Имеется банк решений различных задач ионообменной динамики. Ионный обмен на КЛПТях характеризуется рядом особенностей, поэтому использование известных математических моделей для описания и расчета ионообменных процессов на цеолитах осложнено. На конкретных примерах показана возможность использования существующих математических моделей и решений задач ионообменной динамики для моделирования и расчета отдельных, практически важных динамических ионообменных процессов, реализуемых на КЛПТях, если сорбция целевого компонента описывается линейной или близкой к линейной изотермой

### Введение

Ярко выраженная селективность КЛПТов к целому ряду катионов – щелочных-цезий, щелочноземельных- стронций, ионов переходных металлов, например, медь, цинк, и таких, как ион аммония, весьма высокая для природных сорбентов катионообменная емкость (до 2 мг-экв/г), невысокая стоимость обуславливает целесообразность их использования для решения различных практических задач, что и подтверждается многочисленными исследованиями [ 1-5 ].

В лаборатории сорбционных методов ГЕОХИ РАН, например, разработаны технологические схемы очистки природных питьевых вод от радиоактивных стронция и цезия, подземных питьевых вод от избыточного стабильного стронция и аммония, сточных вод азотнотукового производства от аммония, извлечения (концентрирования) некоторых компонентов морской воды (стронций, рубидий, калий и т.д.) с использованием КЛПТов. Поэтому обоснованный выбор условий и режимов проведения ионообменного процесса на КЛПТях, его оптимизация имеют существенное практическое значение. Как известно, наиболее короткий научно-обоснованный путь поиска оптимальных условий или прогнозирования результатов ионообменного процесса лежит через математическое моделирование каждого из его этапов (сорбции, регенерации). Моделирование позволяет,

исходя из минимального числа экспериментальных данных, рассчитать режимы динамического ионообменного процесса в зависимости от самых разных параметров (длины слоя сорбента, скорости потока, зернения сорбента, степени регенерации и т.д.). Именно поэтому при решении практических задач, в том числе с использованием природных цеолитов, в частности, КЛПТов различных месторождений, математическое моделирование становится важным этапом исследования.

## Теоретическая часть

### Выбор модели и математическое моделирование ионообменных процессов

В лаборатории сорбционных методов ГЕОХИ РАН в развитие более ранних работ [6-7] в течение многих лет разрабатывали теорию динамики ионного обмена с целью последующего моделирования и расчета различных ионообменных процессов. Как известно, динамика ионного обмена может быть описана системой дифференциальных уравнений, которая в общем виде представлена ниже:

$$v \frac{\partial c_i}{\partial x} + \varepsilon \frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{\partial a_i}{\partial t} = 0 \quad \text{уравнение баланса (1)}$$

$$\frac{\partial a_i}{\partial t} = f(c_i, \bar{c}_i, a_i, d, v, D_{part}, D_{film}) \quad \text{уравнение кинетики (2)}$$

$$\bar{a}_i = \varphi_i(\bar{c}_i) \quad \text{уравнение изотермы (3)}$$

Получены решения этой системы уравнений в безразмерных переменных для однокомпонентных и многокомпонентных (до 3-х) задач в зависимости от вида изотермы и характера кинетики для соответствующих начальных и граничных условий [8-10].

Для иллюстрации на рис. 1 приводится решение наиболее простой задачи динамики сорбции для внешнелинейной кинетики и линейной изотермы в виде безразмерных выходных кривых.

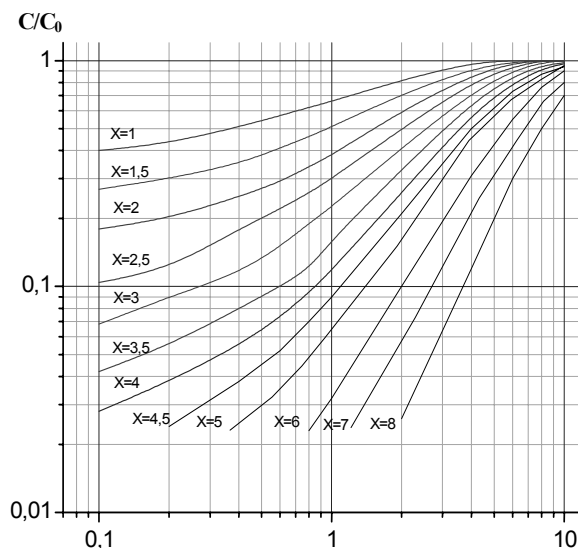


Рис. 1. Безразмерные выходные кривые динамики сорбции, описываемой внешнелинейной кинетикой и линейной изотермой ( $K=1$ )

Имеется банк решений задач динамики сорбции (ионного обмена) для однокомпонентных систем, описываемых внешней, внутренней, смешаннодиффузионной кинетикой и различными типами изотермы, а также для 2-х и 3-х компонентных систем в виде готовых программ. Решения могут быть представлены в виде графиков (семейства

безразмерных выходных кривых, дополненных несколькими простыми формулами, практическое использование которых не может вызвать затруднений).

Необходимые для расчета по этим графикам формулы, связывающие размерные и безразмерные параметры, следующие:

$$\text{Так, для внешнедиффузионной кинетики: } X_{\text{внеш}} = \frac{\beta \cdot L}{\nu} \quad (4); \quad T_{\text{внеш}} = \frac{\beta \cdot t}{\Gamma} \quad (5)$$

$$\text{Для внутридиффузионной кинетики: } X_{\text{внут}} = \frac{\Gamma \cdot D_a \cdot L}{\nu \cdot r^2} \quad (6); \quad T_{\text{внут}} = \frac{D_a \cdot t}{r^2} \quad (7)$$

$$\text{Для смешаннодиффузионных задач: } H = \frac{X_{\text{внеш}}}{X_{\text{внут}}} = \frac{T_{\text{внеш}}}{T_{\text{внут}}} = \frac{\beta \cdot r^2}{D_a \cdot \Gamma} \quad (8),$$

где  $X_{\text{внеш}}$ ,  $X_{\text{внут}}$  - безразмерная длина для случая внешне- и внутридиффузионной кинетики соответственно;  $T_{\text{внеш}}$  и  $T_{\text{внут}}$  - безразмерное время для тех же случаев,  $\beta$  - внешнедиффузионный кинетический коэффициент,  $\text{сек}^{-1}$ ;  $D$  - коэффициент внутренней диффузии,  $\text{см}^2/\text{сек}$ ;  $\Gamma$  - коэффициент распределения, безразмерный,  $t$  - время,  $\text{сек}$ ,  $r$  - радиус зерна сорбента,  $\text{см}$ ,  $\nu$  - линейная скорость течения раствора,  $\text{см}/\text{сек}$ ;  $L$  - длина слоя сорбента в колонке,  $\text{см}$ ;  $C_0$  - исходная концентрация иона в растворе,  $\text{мгэкв}/\text{мл}$ ;  $A$  - равновесная емкость сорбента,  $\text{мгэкв}/\text{г}$ ;  $H$  - параметр, характеризующий относительный вклад внешней и внутренней диффузии в динамический процесс. Если  $H > 100$ , скоростьюопределяющей стадией является внутридиффузионная кинетика, если  $H < 1$  - внешнедиффузионная кинетика, если  $1 > H > 100$  - смешаннодиффузионная кинетика [8-10].

Банк данных позволяет рассчитывать весьма широкий круг практически важных задач. Это могут быть многокомпонентные системы, в которых сорбция целевых удаляемых компонентов описывается линейной изотермой (очистка воды от радионуклидов и пр.) или например, задача глубокой очистки воды, которая, как было показано, может быть сведена к простой однокомпонентной задаче [11]. В связи с этим выбор модели любого динамического ионообменного процесса базируется в первую очередь:

- на оценке компонентности исследуемой системы: реальной и теоретической, вытекающей из характера изотерм сорбируемых компонентов (линейная, изотерма Ленгмюра, прямоугольная и т.д.) и поставленной задачи (глубокая очистка раствора- выбор наименее сорбируемого иона и т.д.)
- определении необходимых для расчета равновесных характеристик целевых компонентов (констант обмена  $-K_{ij}$  или коэффициентов распределения  $-G_{ij}$ )
- кинетических характеристик исследуемых ионов (внешнедиффузионный кинетический коэффициент ( $\beta$ ) и коэффициент внутренней диффузии ( $D$ ). Эти характеристики могут быть получены как из независимого опыта (равновесные - из изотермы обмена, кинетические - методом «тонкого слоя» [12]), так и методом решения обратных задач - из динамических выходных кривых [13]. Величина  $\beta$  для разбавленных растворов может быть рассчитана также с использованием коэффициентов электропроводности обмениваемых ионов по формуле, приведенной в [8].
- оценке относительных вкладов в динамический процесс внешней и внутренней диффузии в зависимости от скорости потока, зернения сорбента и пр. (оценка критерия  $H = \beta r^2 / DG$ ), что определяет физико-химическую сущность модели.

Однако природные клиноптилолиты как ионообменники, характеризуются целым рядом особенностей, которые целесообразно рассмотреть более подробно.

### **Особенности ионного обмена на цеолитах**

Равновесие ионного обмена, как известно, в отличие от ионного обмена, протекающего на органических смолах, ионный обмен на цеолитах характеризуется рядом особенностей.

Полная обменная емкость (ПОЕ) - это одна из главных равновесных характеристик, используемых для сравнительной оценки ионообменных свойств любых ионообменников, в

т.ч. природных цеолитов. Осложнения, которые возникают при определении ПОЕ природных цеолитов связаны, в первую очередь, с их структурными особенностями, обуславливающими медленное протекание ионообменного процесса даже в сравнительно концентрированных растворах, не учитываемое некоторыми исследователями. ГОСТ 10897-64 «Методы определения обменной емкости в статических условиях» для органических ионообменников в силу вышеупомянутых причин для природных цеолитов не пригоден.

Существует специально разработанная отраслевая методика определения ПОЕ природных цеолитов, разработанная Институтом минералогии и петрографии СО РАН, утвержденная Бюро Научного Совета по методам минералогических исследований при ВИМС 17 апреля 1991 года.

#### Изотерма ионного обмена

В зависимости от концентрации и природы обменивающихся ионов изотерма ионообменной сорбции на клиноптилолитовых породах может иметь различный характер [5, 20]. В частности, например, считают, что изотерма обмена меди на Na-форме клиноптилолита имеет S-характер. Однако нами было показано [20], что такая форма изотермы связана с кинетическим фактором. Через 6 мес. контакта раствора с КЛПТом изотерма обмена, как видно из рис 2., изменяет свой вид.

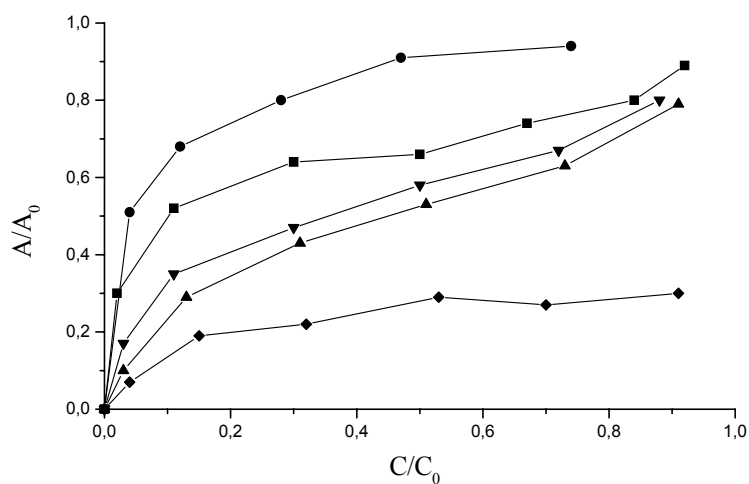


Рис. 2. Изотермы ионного обмена  $\text{Cu}^{2+}$  (■-■),  $\text{Sr}^{2+}$  (▼-▼),  $\text{Zn}^{2+}$  (▲-▲),  $\text{Ni}^{2+}$  (◆-◆) на Na-форме КЛПТта. Исходная концентрация растворов 0,1 N, pH = 5. Время контакта сорбента и раствора 3 недели; ●-●-  $\text{Cu}^{2+}$ , время контакта 6 месяцев

В меньшей степени этот эффект наблюдается и при сорбции стронция из 0,1n раствора и как видно из рис.3, практически не заметен или не имеет места при сорбции аммония.

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод, что время установления равновесия при обмене на различные катионы на КЛПТтах очень различается. В целом ряде случаев за равновесие принимают псевдоравновесие и неправильно трактуют полученные результаты.

- Кинетика ионного обмена на клиноптилолитах. Отличительной особенностью ионного обмена на природных клиноптилолитах, наиболее заметной в разбавленных растворах, является 2-х стадийность кинетики, существование которой было многократно доказано экспериментально [14-17, 23]. На рис.4 показана кинетическая зависимость сорбции стронция из раствора, имитирующего природную питьевую воду, на КЛПТтах различных месторождений. На рис 5 - кинетика сорбции  $\text{Sr}^{2+}$  на КЛПТе в зависимости от его исходной катионной формы (Na- или природная), от состава раствора и размера зерен сорбента. На рис 6 представлена кинетика сорбции  $\text{NH}_4^+$  на КЛПТе различного зёрнения из растворов различного состава.

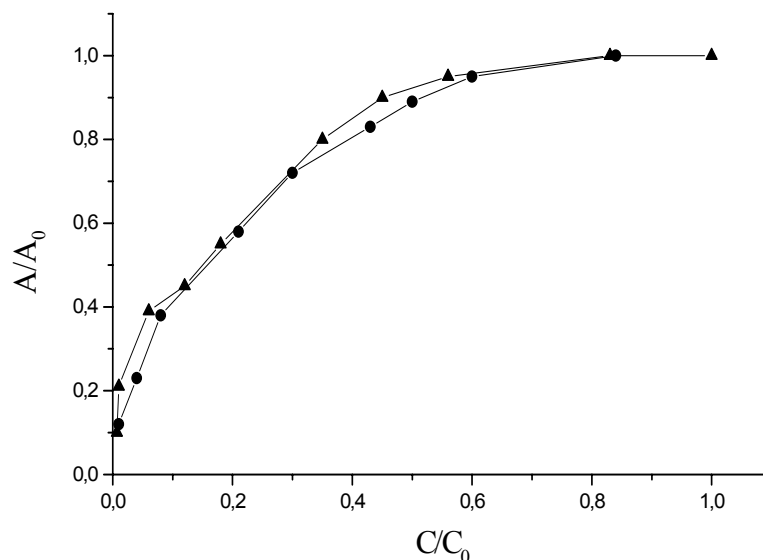


Рис. 3. Изотерма ионного обмена  $\text{NH}_4^+$  на Na-форме КЛПТa Тедзами из растворов различной концентрации. ▲-▲  $\Sigma \text{NH}_4^+ + \text{Na}^+ = 0.1 \text{ N}$ ;  $A_0 = 2.01 \text{ мгэкв/г}$ ; ◆-◆  $\Sigma \text{NH}_4^+ + \text{Na}^+ = 0.04 \text{ N}$ ;  $A_0 = 1.40 \text{ мгэкв/г}$ ; Время контакта 2 недели

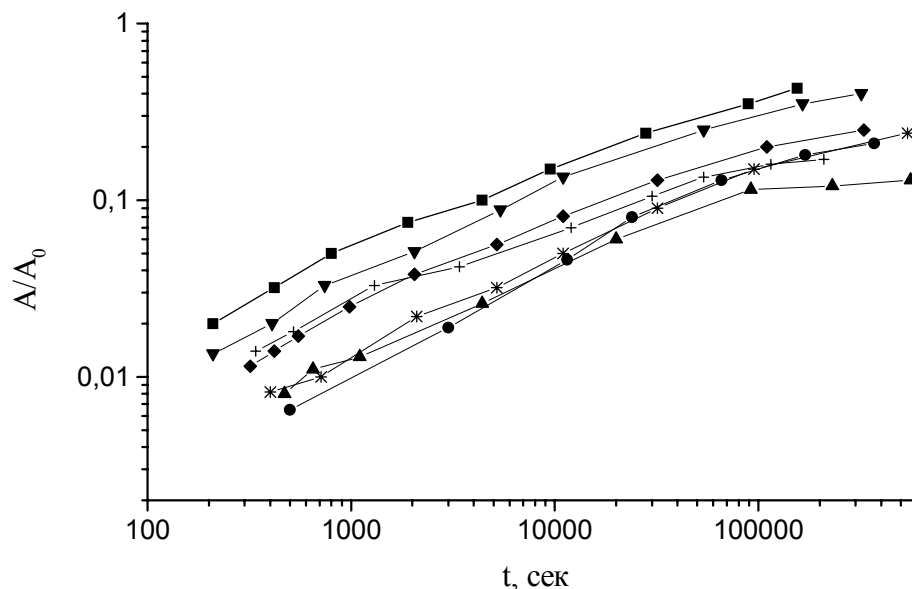


Рис. 4 Сорбция  $\text{Sr}^{2+}$  в зависимости от времени на Na-форме КЛПТов различных месторождений из модельного раствора поверхностной питьевой воды .  
 ■-■ –Белый Пласт (Болгария); ▼-▼- Тедзами (Грузия); ▲-▲- Сокирница (Украина);  
 ◆-◆ - Ай-Даг (Азербайджан); +-+- Ягоднинское (Россия); ×-×- Дзевги (Грузия);  
 ●-●- Невада (США)

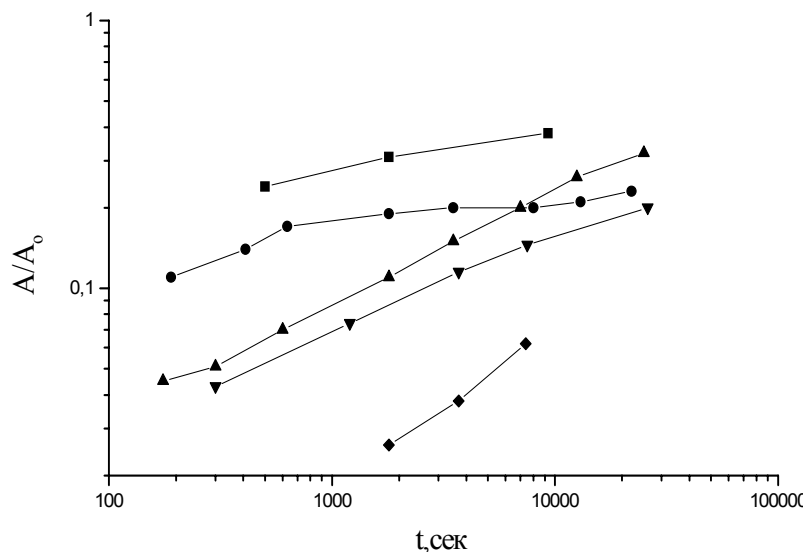


Рис. 5. Кинетика сорбции  $\text{Sr}^{2+}$  на Na- и природной формах КЛПТa в зависимости от состава раствора и размера зерен сорбента. а) 0.01 N  $\text{Sr}(\text{NO}_3)$ ,  $d = -0.07 + 0.04$  см; ■-■ -Na-форма; ●-● - природная форма; б) 10 мг/л  $\text{Sr}^{2+}$  + 0.7 N NaCl;  $d = -0.07 + 0.04$  см; ▲-▲ -Na-форма; ▼-▼ - природная форма; ◆-◆ - природная форма,  $d = 0.2$  см

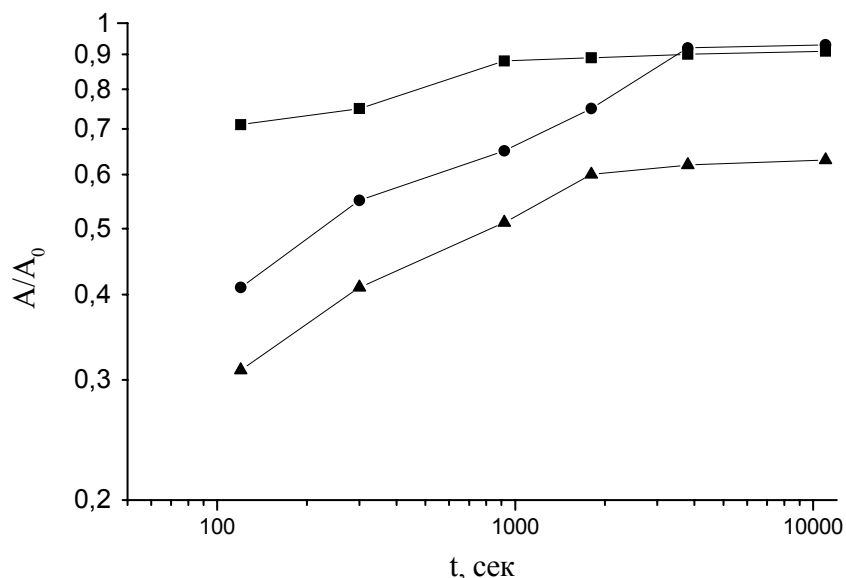


Рис.6. Кинетика сорбции  $\text{NH}_4^+$  на Na-форме КЛПТa различного зернения из растворов различного состава. ■-■-0.1 N  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , размер зерна  $d = 0.03-0.04$  см; ●-● - 0.1 N  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; ▲-▲ -200 мг/л  $\text{NH}_4^+$  + 1.6 г/л NaCl, размер зерна  $d = 0.05-0.07$  см

Из рис.4 и 5 видно, как резко замедляется процесс сорбции  $\text{Sr}^{2+}$  на некоторых КЛПТaх в области  $A/A_0 = 0,1-0,2$ . Причем, в зависимости от концентрации исследуемого раствора и природы иона эта особенность проявляется в различной степени. Например, при сорбции иона аммония из 0,1 н раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  на клиноптилолите Тедзами в Na-форме (см. рис.6) равновесие достигается за 60-80 минут. 1-ая кинетическая стадия из-за большой скорости ее протекания практически не может быть зафиксирована. При сорбции на том же КЛПТe из модельного раствора сточной воды азотно-тукового производства, где содержание иона аммония на порядок ниже (200 мг/л = 0,01 н), замедление процесса наблюдается в области  $A/A_0 = 0,5-0,6$ . Не все природные КЛПТ ведут себя одинаково. Так например, сорбция стронция на клиноптилолите Белый Пласт (Болгария),рис.4, в области  $A/A_0 = 0,1-0,2$  не замедляется (или замедляется не так резко). Исследователи считают, что 1-

ая кинетическая стадия связана с диффузией ионов в макропоры цеолита, 2 ая - с внутрикристаллической диффузией [15-16, 23]. Особенности кинетики проявляются и при регенерации цеолитов. Существование 2-х кинетических стадий, характерных для ионного обмена на КЛПТтах, требует и соответствующих математических моделей для их описания. В литературе рассмотрена возможность описания кинетики сорбции на КЛПТтах с использованием модели бидисперсного сорбента. Получено приближенное решение задачи динамики сорбции на бидисперсном сорбенте для внутридиффузионной кинетики и линейной изотермы [18,19], однако его использование на практике вызывает затруднения.

Нами была проведена оценка возможности использования простейших моделей и имеющихся решений задач динамики ионообменной сорбции для описания некоторых практически важных динамических процессов, реализуемых на природных КЛПТтах.

### Математическое моделирование и расчет динамики ионного обмена на КЛПТтах

Анализ многих задач очистки различных природных и сточных вод от радиоактивных примесей, тяжелых металлов, ионов аммония и др. свидетельствует о том, что большинство из них, несмотря на многокомпонентность и сложность раствора, можно свести к однокомпонентным задачам, так как, изотермы сорбции (обмена) радиоактивных и других загрязнений в силу их малой весовой концентрации, как правило, линейны. Это в значительной степени облегчает задачу математического моделирования процессов очистки и позволяет для их расчета воспользоваться готовыми вышеупомянутыми решениями и подходами.

Для моделирования динамических ионообменных процессов на КЛПТтах, мы получали необходимые для расчета исходные равновесные и кинетические характеристики как из независимых опытов (изотерма обмена, кинетика в «тонком слое»), так и из динамических выходных кривых (методом решения обратных задач).

Из этих характеристик был определен критерий  $N = \beta r^2 / DG$ , который позволяет конкретизировать физико-химическую модель, оценить вклад в динамический процесс внешней и внутренней диффузии, выбрать соответствующую математическую модель. Продемонстрируем это на конкретных примерах.

**Пример 1.** Математическое моделирование и расчет процесса очистки поверхностной питьевой воды от радиоактивных  $Sr^{2+}$  и  $Cs^+$  КЛПТом месторождения Тедзами (Грузия). Состав исходной воды, мгэкв/л:  $Na^+$  -0.28;  $K^+$  -0.10;  $Mg^{2+}$  -0.82;  $Ca^{2+}$  -2.10;  $Cl^-$  - 0.13;  $SO_4^{2-}$  - 0.60;  $HCO_3^-$  - 2.57;  $Sr^{2+}$  -  $5 \cdot 10^{-3}$ ;  $Cs^+$  -  $1 \cdot 10^{-3}$ ;

Были получены изотермы сорбции стронция и цезия из указанного раствора (см. рис. 7,8), определены их коэффициенты диффузии «методом тонкого слоя» и методом динамических выходных кривых. Полученные равновесные и кинетические характеристики приведены в табл. 1.

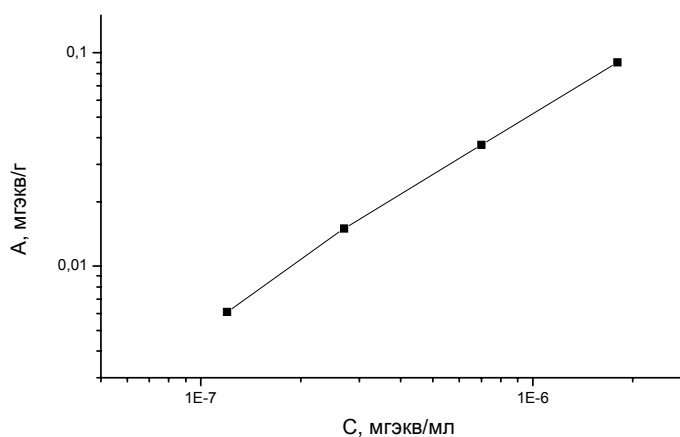


Рис. 7. Изотерма ионного обмена  $Cs^+$  на КЛПТте месторождения Тедзами из модельного раствора поверхностной питьевой воды



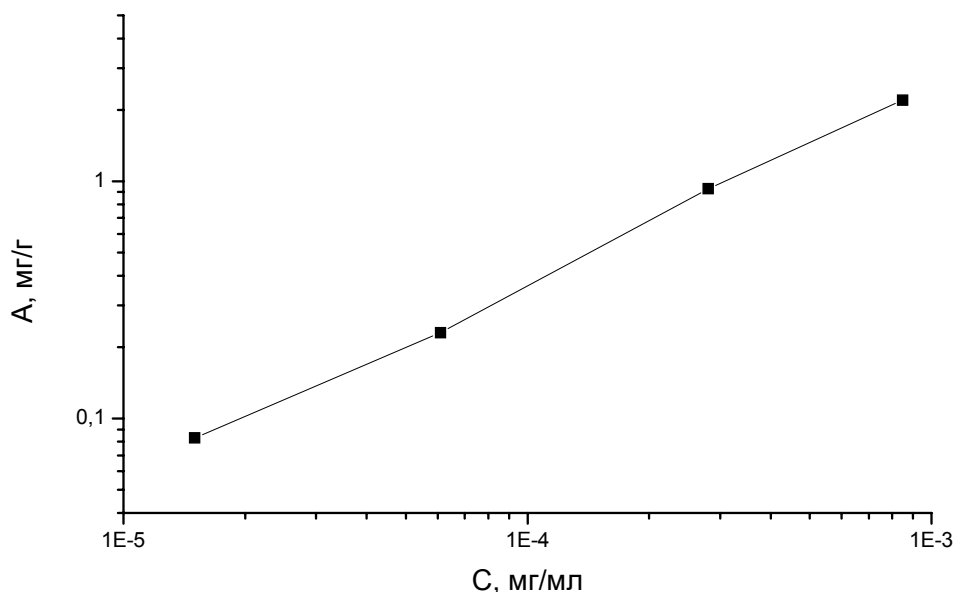


Рис. 8. Изотерма ионного обмена  $\text{Sr}^{2+}$  на КЛПТе месторождения Тедзами из модельного раствора поверхностной питьевой воды

Таблица 1. Равновесные и кинетические коэффициенты сорбции  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Cs}^+$  на КЛПТе из поверхностной питьевой воды\*)

Ион	G [мл/г]	D [см <sup>2</sup> /с]	$\beta[\text{с}^{-1}]_{\text{calculated}}$	$\beta[\text{с}^{-1}]_{\text{exper}}$
$\text{Sr}^{2+}$	$2.8 \times 10^3$	$1.5 \times 10^{-10}$	0.12	0.16
$\text{Cs}^+$	$5.5 \times 10^4$	$2 \times 10^{-9}$	0.57	0.51

\*) скорость фильтрования раствора в динамическом эксперименте 0.17 см/сек, размер зерна сорбента 0.05 см.

Как видно из таблицы 1, коэффициент распределения цезия в 20 раз превышает коэффициент распределения стронция, т.е. стронций является наименее сорбируемым ионом в исследуемой паре, поэтому все последующие расчеты, в частности, расчет времени защитного действия слоя КЛПТа в процессе очистки воды в динамических условиях от выше названных радионуклидов должен быть ориентирован на наименее сорбируемый ион, т.е. ион стронция. Полученные равновесные и кинетические характеристики позволили рассчитать критерий Н, по величине которого может быть выбрана соответствующая модель динамики сорбции. Результаты расчета представлены в таблице 2.

Таблица 2. Критерий Н при сорбции  $\text{Sr}^{2+}$  на КЛПТе в зависимости от скорости фильтрования (V, см/с) и размера зерна сорбента (d, см)

V, см/с	d, см	0.030	0.065	0.095
0.05		-	57	-
0.085		52	75	-
0.15		69	105	-
0.37		108	150	184

Как видно из табл.1 и 2, имеет место удовлетворительное соответствие равновесных и кинетических характеристик, полученных разными методами. Данные свидетельствуют о смешаннодиффузионном кинетическом механизме сорбции (Н изменяется в интервале от 50 до 200) и линейной изотерме (рис. 8), описывающей рассматриваемый процесс в заданном интервале концентраций. Используя смешаннодиффузионную модель динамики сорбции для линейной изотермы, мы рассчитали выходную кривую стронция как наименее сорбируемого иона из раствора указанного состава. Как видно из рис. 9, расчетные и экспериментальные выходные кривые стронция хорошо согласуются между собой.

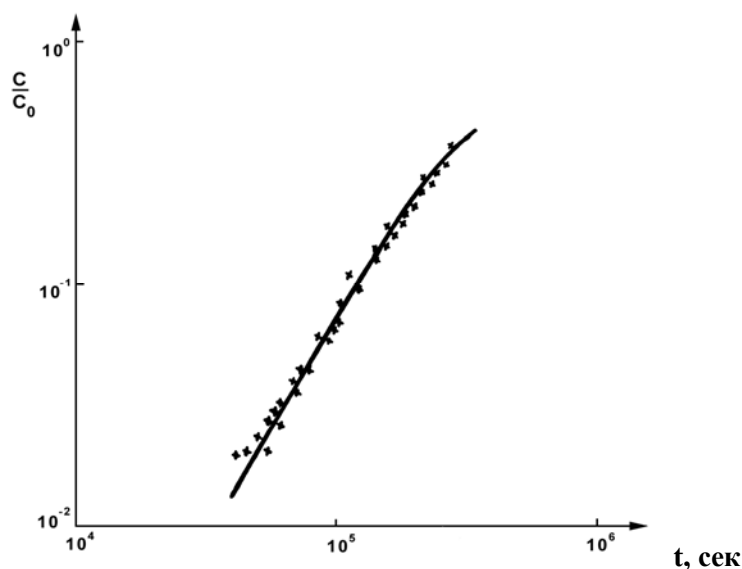


Рис. 9 Расчетная (сплошная линия) и экспериментальная (x-x) выходные кривые  $\text{Sr}^{2+}$  на КЛПТе месторождения Тедзами (2 г) из модельного раствора поверхностной питьевой воды состава, мгэв/л :  $\text{Sr}^{2+}$  -  $7.10^{-3}$ ;  $\text{Ca}^{2+}$  - 3.0; скорость фильтрования  $V = 0.4$  мл/мин; размер зерен сорбента  $d = -0.5 + 0.36$  мм; [22]

**Пример 2** . Сорбция цезия и стронция из сточных вод спецрачечных АЭС, г. Козлодуй, Болгария.

В сточной воде после обработки белья содержатся в растворенном состоянии следующие катионы, гэкв/л:  $\text{Na}^+$  - 0.02;  $\text{K}^+$  - 0.002;  $\text{Sr}^{2+}$  -  $1.10^{-5}$ ;  $\text{Cs}^+$  -  $1.10^{-5}$ ; pH = 8-10.

Кроме того, в воде после обработки находится некоторое количество ионов кальция, магния, железа, марганца и др. Но их содержание незначительно и периодически меняется, поэтому не учитывалось при составлении модельных растворов.

Были получены равновесные и кинетические характеристики сорбции  $\text{Sr}^{90}$  и  $\text{Cs}^{137}$  из независимых опытов на клиноптилолите Белый Пласт [14, 21] и из полученных характеристик рассчитан критерий Н. В таблице 3 представлены данные, характеризующие зависимость критерия Н от скорости фильтрования и размера зерна сорбента для случая сорбции цезия.

Таблица 3. Критерий Н при сорбции  $\text{Cs}^+$  на КЛПТе Белый Пласт (Болгария) в зависимости от скорости фильтрования ( $V$ , см/с) и размера зерна сорбента ( $d$ , см)

$V = 0.087$ см/с				$V = 0.2$ см/с			
Размер зерна сорбента, см				Размер зерна сорбента, см			
0.025	0.05	0.10	0.20	0.025	0.05	0.10	0.20
30	56	64	100	48	65	81	120

Из таблицы видно, что величина Н изменяется в представленных экспериментах от 30 до 120, что свидетельствует о том, что сорбция цезия из сточных вод спецрачечных АЭС описывается смешаннодиффузионной моделью динамики сорбции. На основе выбранной модели был сделан расчет выходных кривых сорбции цезия для различных скоростей фильтрования. На рис. 10 представлены экспериментальные и расчетные выходные кривые иона цезия на клиноптилолитовом туфе Белый Пласт из сточной воды спецрачечных АЭС для различных скоростей течения раствора

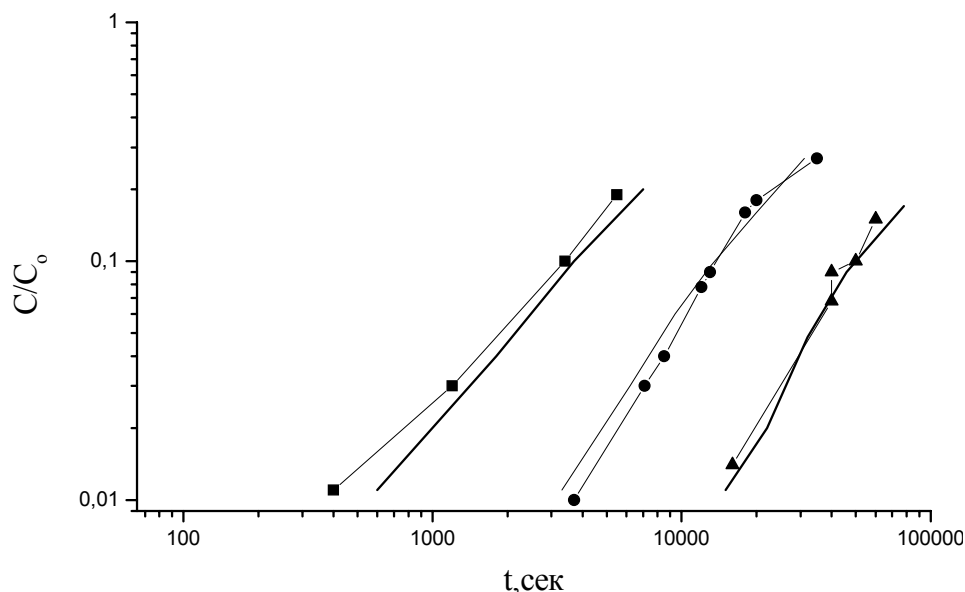


Рис 10. Расчетные и экспериментальные выходные кривые  $^{137}\text{Cs}^+$  на КЛПТе Белый Пласт из сточных вод спецпрачечных АЭС «Козлодуй», Болгария. Условия эксперимента: высота слоя сорбента  $L = 17\text{ см}$ , сечение колонны  $S = 45.5\text{ см}^2$ , размер зерен сорбента  $d = 0.08\text{ см}$ ; ■-■-  $V=200\text{ мл/мин}$ ; ●-●-  $V=100\text{ мл/мин}$ ; ▲-▲-  $V=50\text{ мл/мин}$

Как видно из рис.10, расчетные и экспериментальные выходные кривые удовлетворительно согласуются между собой. Это доказывает правомочность использования выбранной модели и решений динамики сорбции для расчета выходных кривых цезия на КЛПТе Белый Пласт.

**Пример 3.** Сорбция стабильного стронция клиноптилолитом из подземной питьевой воды [24-25].

Состав исходной артезианской воды, мг/л:  $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - 0,65-101,2$ ;  $\text{Mg}^{2+} - 6,6 - 40,0$ ;  $\text{Ca}^{2+} - 26 - 107,2$ ;  $\text{Sr}^{2+} - 0,3-35,0$ ;  $\text{Fe}^{2+} - 1,0-50,0$ ; В рассматриваемом случае концентрация стронция достаточно высока (до 35 мг/л) и изотерма обмена стронция на КЛПТе Тедзами отличается от линейной. Исходные равновесные (коэффициенты распределения, характеризующие линейный участок изотермы) и кинетические характеристики ионообменного процесса (коэффициенты диффузии), полученные из независимых опытов, не дали удовлетворительной корреляции расчетных и экспериментальных выходных кривых. Можно предположить, что причиной этого является неучтенная 2-х стадийность кинетики, которая проявляется при сорбции стронция на КЛПТе из более концентрированных растворов (более 10 мг/л). Поскольку решение для модели динамики сорбции, учитывающей 2-х стадийность кинетики, на практике использовать затруднительно, нами был использован 2-ой путь моделирования – приближенный – по эффективным равновесным и кинетическим характеристикам, полученным из динамического опыта.

Методика расчета эффективных равновесных и кинетических характеристик ионообменного процесса заключается, как уже упоминалось выше, в графическом сопоставлении экспериментальных выходных кривых с теоретическими для различных моделей динамики сорбции, выборе тех моделей, которые дают наибольшее соответствие по форме выходных кривых, последующем расчете величин  $G$  и  $D$  по соответствующим формулам (см. с.3), или более корректно - методом решения обратных задач [13].

При выборе модели динамики рассматривали лишь линейный случай. Постоянство рассчитанных таким способом величин  $D_{\text{эф}}$  и  $G_{\text{эф}}$  в заданном интервале скоростей и зернений считали критерием адекватности исследуемого процесса выбранной

приближенной модели. Показано, что внутридиффузионная модель для линейной изотермы наиболее близко описывает экспериментальные выходные кривые. Рассчитанные из экспериментальных выходных кривых величины  $G_{эфф.}$  и  $D_{эфф.}$  приведены в табл. 4. Как видно из табл.4, величины эффективных коэффициентов распределения и коэффициентов диффузии свидетельствуют об их относительном постоянстве в исследованном интервале скоростей ( $V=0,05 - 0,2$  см/сек) и зернений ( $0,25 - 3,0$  мм):  $G_{эф.}=500 - 600$ ;  $D_{эф.}=1,5 \cdot 10^{-8}$  см<sup>2</sup>/сек, поэтому могут быть использованы для расчета промышленных колонн.

Таблица 4. Эффективные коэффициенты распределения и коэффициенты диффузии  $Sr^{2+}$  на КЛПТе месторождения Тедзами из подземной питьевой воды в зависимости от высоты слоя сорбента ( $L$ , см), скорости фильтрования ( $V$ , см/с) и размера зерна сорбента ( $d$ , мм)

Объем сорбента, мл	$L$ , см	$d$ , мм	$V$ , см/с	$G_{эфф.}$	$D_{эфф.}$ , см <sup>2</sup> /с
5,0	7,0	0,25-0,50	0,14	470	$1,40 \cdot 10^{-8}$
5,0	7,0	0,25-0,50	0,22	450	$1,45 \cdot 10^{-8}$
3,0	4,0	0,50 - 1,0	0,06	600	$1,50 \cdot 10^{-8}$
3,0	4,0	0,50 - 1,0	0,13	600	$1,52 \cdot 10^{-8}$
3,0	4,0	0,50 - 1,0	0,22	550	$1,60 \cdot 10^{-8}$
5,0	7,0	1,0 - 3,0	0,14	500	$1,55 \cdot 10^{-8}$
10,0	14,0	1,0 - 3,0	0,14	520	$1,70 \cdot 10^{-8}$

В табл. 5 приводятся также для сравнения величины  $G_{эфф.}$  и  $D_{эфф.}$ , характеризующие сорбцию стронция из подземной питьевой воды на КЛПТе Чугуевского месторождения, полученные методом решения обратных задач.

Таблица 5. Равновесные и кинетические характеристики сорбции стронция на КЛПТе Чугуевского месторождения

Месторождение	Радиус зерна, см	$V$ , см/сек	$G_{эфф.}$ , б/р	$D_{эфф.}$ , см <sup>2</sup> /сек
Чугуевское	0,043	0,47	509	$1,8 \cdot 10^{-8}$
		0,74	416	$2,1 \cdot 10^{-8}$
		1,01	411	$3,1 \cdot 10^{-8}$
		1,43	390	$3,7 \cdot 10^{-8}$
	0,026	0,48	512	$1,6 \cdot 10^{-8}$
		0,74	355	$2,3 \cdot 10^{-8}$
		1,00	304	$2,8 \cdot 10^{-8}$
		1,36	291	$3,5 \cdot 10^{-8}$
	0,012	0,47	470	$6,5 \cdot 10^{-7}$
		0,74	391	$8,7 \cdot 10^{-7}$
		0,99	355	$1,2 \cdot 10^{-8}$
		1,36	361	$1,5 \cdot 10^{-8}$

Как видно из табл 4 и 5, эффективные равновесные и кинетические характеристики изученных клиноптилолитов по стронцию из подземной питьевой воды достаточно близки между собой.

Для подтверждения выводов о возможности расчета выходных кривых на КЛПТах с использованием решения задачи динамики сорбции для одностадийной кинетики на рис.11 приведены расчетные и экспериментальные выходные кривые сорбции стронция при очистке питьевой подземной воды ( $t=8^{\circ}C$ ) на укрупненной установке в реальных условиях.

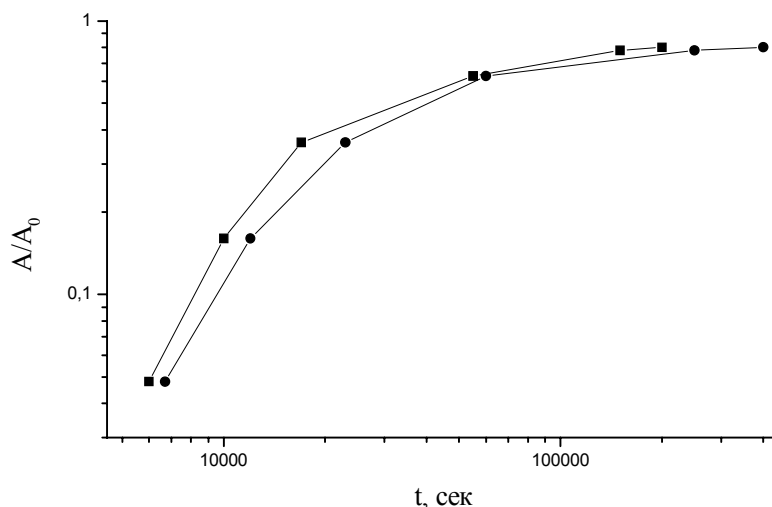


Рис. 11. Расчетные (●-●) и экспериментальные (■-■) выходные кривые  $\text{Sr}^{2+}$  из реальной подземной питьевой воды на Na-форме КЛПТа (Тедзами, Грузия). Условия эксперимента: высота слоя сорбента  $L=113$  см, сечение колонны  $S=113$  см<sup>2</sup>, скорость фильтрации  $V = 2$  л/мин, размер зерен сорбента  $d = 3-5$  мм,  $t=8^\circ\text{C}$

Как видно из представленных на рис. 11 данных, имеет место вполне удовлетворительное соответствие расчета и эксперимента.

Таблица 6. Время защитного действия слоя КЛПТа месторождения Тедзами при очистке природной питьевой воды от радионуклидов  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Cs}^+$  в зависимости от скорости фильтрации и  $C/C_0$  (расчет сделан по наименее сорбируемому иону-стронцию)

Высота слоя, см	d, см	C/C <sub>0</sub>	V=1 м/сутки		V=2 м/сутки		V=5 м/сутки		V=10 м/сутки	
			сутки	годы	сутки	годы	сутки	годы	сутки	годы
			200	0,05	10 <sup>-3</sup>	4167	11,4	2025	5,5	555
		10 <sup>-2</sup>	4398	12,1	2037	5,6	613	1,7	393	1,1
		5x10 <sup>-2</sup>	4513	12,4	2060	5,7	729	1,9	463	1,3

На основе приведенного примера можно сделать вывод, что использование приближенных моделей расширяет возможности расчета и позволяет по величинам эффективных коэффициентов распределения и диффузии рассчитать соответствующие выходные кривые на слое клиноптилолитового туфа любой высоты и зернения, и по этим данным (например, по величинам времен защитного действия) осуществить обоснованную сравнительную оценку технологических свойств клиноптилолитов различных месторождений, а также, в случае необходимости, рассчитать режимы работы промышленного фильтра. Так например, используя соответствующие равновесные и кинетические характеристики цезия и стронция на клиноптилолитах, были рассчитаны и спроектированы карты дезактивации для ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Некоторые из полученных результатов приведены в таблице 6.

## Заключение

На конкретных примерах показана возможность и целесообразность математического моделирования и расчета ионообменных процессов на КЛПТх для случаев, описываемых линейной изотермой или изотермой, близкой к линейной, используя решения ионообменной динамики для одностадийной кинетики.

Для решения конкретной практической задачи на основе полученных равновесных и кинетических характеристик исследуемого ионообменного процесса может быть рассчитано время защитного действия слоя КЛПТх различной длины, для сорбента любого зернения и любой скорости фильтрования.

Использование решений динамики сорбции для приближенного расчета ионообменных процессов, описываемых нелинейной изотермой, расширяет возможности моделирования и позволяет осуществлять сравнительную оценку технологических свойств КЛПТх различных месторождений, а также рассчитывать условия работы промышленных фильтров.

## Список литературы

1. Natural Zeolites '93: Occurrence, Properties, Use. Eds. D.W.Ming, F.A.Mumpton. Inter. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, 1995.
2. Natural Zeolites for the Third Millennium. Eds. C.Colella, F.A.Mumpton. De Frede- Editire. 2000.
3. Zeolite' 02, 6th Inter. Conference on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites. Book of Abstracts. Ed. P.Misaelides, Thessaloniki 2002.
4. Zeolite' 6, 7th Inter. Conference on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites. Book of Abstracts. Eds. R.S.Bowman and S.E. Delap. Soccoro. New Mexico USA. 16-21 July 2006.
5. Челищев Н.Ф., Володин В.Ф., Крюков В.Л. // Ионообменные свойства природных высококремнистых цеолитов. М.: Наука, 1988. с.68-69.
6. Жуховицкий А.А., Забежинский Я.Л., Тихонов А.Н. Поглощение газа из тока воздуха слоем зернистого материала // Журн. физ. химии. 1945. Т. 19. № 6. С. 253 -261.
7. Мясников И.А., Гольберт К.А. Внутридиффузионная динамика сорбции в линейной области // Журн. физ. химии. 1953. Т. 26. № 9. С. 1311 -1328.
8. Сенявин М.М., Рубинштейн Р.Н., Веницианов Е.В., Галкина Н.К., Комарова И.В., Никашина В.А. // Основы расчета и оптимизации ионообменных процессов. М.: Наука, 1972. 175 стр.
9. Никашина В.А., Галкина Н.К., Сенявин М.М. // Расчет сорбции ионов металлов ионообменными фильтрами / Деп. № 3668 – 77 от 19.04.76г. 44 с.
10. Веницианов Е.В., Рубинштейн Р.Н. // Динамика сорбции из жидких сред. М.: Наука, 1983 г. 238 с.
11. Галкина Н.К., Сенявин М.М. О некоторых закономерностях динамики обмена смесей ионов // Журн. физ. химии. 1969. Т. 43. Вып. 7. С. 1783 -1789.
12. Boyd G.E., Adamson A.W. and Meyers L.S. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by zeolites. 2. Kinetics // Journal of American Chemical Society. 1947. V. 69. N 10-11. 2836-2848.
13. Nikashina V.A., Galkina N.K., Komarova I.V., Anfilov B.G., Argin M.A. Evaluation of clinoptilolite-rich tuffs as ion-exchangers, in: Natural Zeolites '93: Occurrence, Properties, Use. D.W. Ming and F.A. Mumpton (Eds.) 1995. Inter. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, P. 289-293.
14. Senyavin M.M, Nikashina V.A., Novikova V.A., Gradev G.D., Stefanova I.G.; Avramova A.G. Comparative study of ion-exchange properties in natural clinoptilolites of the USSR and Bulgaria with the aim of purifying liquid sewage from atomic power stations. Part 2. Kinetics

of strontium sorption by clinoptilolites of different cationic forms. // J. of Radioanal. and Nucl. Chem., Articles. 1989. V.130, N 2. P. 293-298.

15. Brown L.M., Sherry H.S., Krambek F.J. Mechanism and kinetics of Isotopic Exchange in Zeolites. Theory // J. Phys. Chem. 1971. V.75, N 25 . P.3846-3855.

16. Thompson P.W., Tassopoulos M.A. Phenomena logical interpretation of two-step uptake behaviour by zeolites. // Zeolites. 1986. V.6. N 1. P.12-20.

17. Беркович С.Е., Никашина В.А. Особенности ионного обмена стронция на различных катионных формах природного клиноптилолита // Неорганические материалы. 1990. Т. 25. В.5. С.1035-1037.

18. Веницианов Е.В. Метод лимитирующей стадии в динамике сорбционных процессов. Сообщение 3. Динамика сорбции при внутридиффузионной кинетике в сорбенте с бидисперсной структурой // Изв. АН СССР. сер. хим. 1980. №9. С. 1981-1984.

19. Хамизов Р.Х. Физико-химические основы комплексной переработки минеральных ресурсов океана. Докторская диссертация. Институт геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского, Москва, 1998. 332 стр.

20. Nikashina V.A., Tyurina V.A., Mironova L.I. Sorption of copper(2) ions on the sodium and the calcium forms of zeolites // J. Chromatog. 1980. V. 201. P.107-112.

21. Nikashina V.A., Tyurina V.A., Senyavin M.M., Stefanov G.I., Gradev G.D., Stefanova I.G., Avramova A.I. Comparative study of ion-exchange properties in natural clinoptilolites of the USSR and Bulgaria for the purpose of purification of liquid wastes from nuclear power plants. Part. 1. Study of the equilibrium sorption of Cs and Sr ions from solutions of different composition. // J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters. 1986. V.105. №3. 175-184.

22. Никашина В.А., Заборская Е. Ю., Махалов Е. М., Рубинштейн Р.Н. Изучение избирательной сорбции стронция природным клиноптилолитом из водных растворов // Радиохимия. 1974. №6. С. 753 -756.

23. Толмачев А.М., Никашина В.А., Челищев Н.Ф. Ионнообменные свойства и применение синтетических и природных цеолитов. // Ионный обмен. М.: Наука, 1981. С.45-63.

24. Senyavin M. M., Nikashina V. A., Zaitseva E. V. Technological process of fresh water treatment to remove excess strontium of underground sources. // Zeolites'91, Proceeding of 3rd Inter. Conf. on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites, April, 9-12, Havana, Cuba. 1991. 262-268.

25. Nikashina, V. A. and Zaitseva, E. V. Modeling and calculating of the ion-exchange processes of excess strontium removal by Tedzami clinoptilolite from underground drinking water. // Program and Abstracts, Zeolites'91, 3rd Inter. Conf. on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites, Havana, Cuba, 1991, 169-170.



## Новый способ определения доннановского потенциала в электромембранных системах

Агупова М.В., Паршина А.В., Бобрешова О.В., Кулинцов П.И.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

В данной работе предложен новый метод измерения доннановского потенциала в электромембранных системах (ЭМС) с растворами электролитов. С помощью разработанной ячейки были исследованы системы с растворами лизина, моногидрохлорида лизина, хлорида натрия и ионообменными мембранами МФ-4СК, МК-40, МА-40, МА-41. Обнаружено, что для всех исследуемых мембран значения доннановского потенциала в системах с растворами Lys и LysHCl почти в два раза меньше, чем в системах с растворами NaCl. Это обусловлено разной селективностью ионообменных мембран к данным ионам

### Введение

Лизин относится к триаде самых важных незаменимых аминокислот. Он участвует в образовании коллагена, выработке антител, гормонов и ферментов в организме человека [1]. В связи с этим актуальными проблемами являются, во-первых, получение чистого лизина в различных формах; во-вторых, разработка методов его качественного и количественного контроля в растворах. Особый интерес представляет использование ионоселективных мембран для разработки электроаналитических методов контроля, как наиболее эффективных и экологически безопасных.

В данной работе предложен новый метод определения доннановского потенциала и исследована возможность его применения для анализа ЭМС с растворами лизина.

Разработанный и запатентованный ранее метод [2] отличается от других попыток оценить доннановский потенциал тем, что измерение разности потенциала производится с использованием трех измерительных электродов (два из которых расположены в растворах по обе стороны от исследуемой мембраны, а один – в концентрированном растворе) не «поперек», а «вдоль» исследуемой мембраны. При этом один конец мембраны погружается в раствор, концентрация которого близка к концентрации фиксированных групп в мембране, а другой разделяет растворы одинаковой концентрации, что позволяет пренебречь диффузией через мембрану. Величина потока концентрированного раствора вдоль мембраны, длина которой намного превышает ее толщину (в 1000 раз) является пренебрежимо малой. В связи с этим влиянием диффузионных потенциалов в фазе мембраны и примембранных диффузионных слоях можно пренебречь. В этих условиях измеряемые с помощью электрода, помещенного в концентрированный раствор, и поочередно электродов по обе стороны мембраны значения разности потенциалов на обеих её поверхностях преимущественно определяются скачком потенциала на границе мембрана/исследуемый раствор, который представляет собой доннановскую разность потенциалов. Электроды контактируют с исследуемым и концентрированным растворами



напрямую или посредством солевых мостиков в зависимости от качественного и количественного состава данных растворов [3]. Аналитические возможности данного метода продемонстрированы в работе [4] на примере систем с гомогенными катионообменными мембранами МФ-4СК и растворами NaCl, KCl и глицина.

Схема новой ячейки для измерения доннановской разности потенциалов представлена на рис. 1. Ячейка состоит из двух стаканчиков объемом 10 см<sup>3</sup>, заполненных соответственно исследуемым и концентрированным растворами электролита. Длина мембраны составляет 8 см. Исследуемая мембрана находится в полиэтиленовой пленке, предохраняющей ее от пересыхания. Для измерения используют хлорсеребряные электроды, которые включаются в цепь с вольтметром В7-23. Электроды А и В контактируют с исследуемым и концентрированным растворами напрямую или посредством солевых мостиков в зависимости от качественного и количественного состава данных растворов.

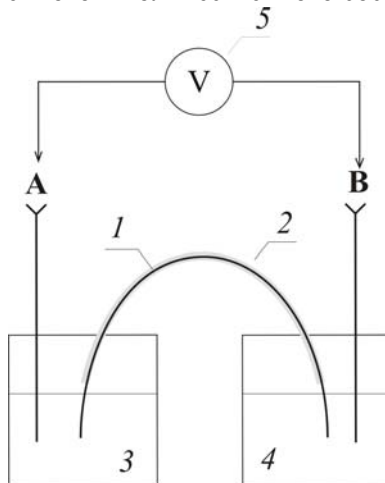
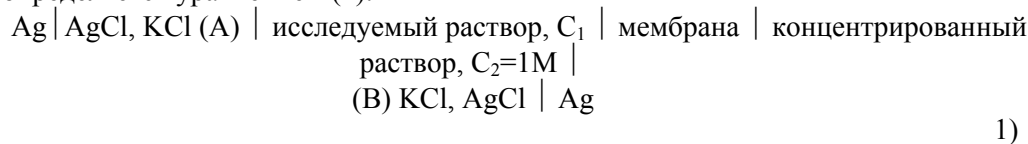


Рис. 1. Схема новой ячейки для оценки доннановской разности потенциалов на границе раствор / мембрана: 1 – мембрана; 2 – защитный ПЭ кожух; 3 – исследуемый раствор; 4 – концентрированный раствор электролита; А, В – хлорсеребряные электроды; 5 – высокоомный вольтметр.

В новом методе один конец мембраны, изначально приведенной в равновесие с исследуемым раствором, опущен в этот раствор, другой помещен в раствор, концентрация которого близка к концентрации фиксированных групп в мембране. При этом в новой схеме используются не три, а два измерительных электрода, а конец исследуемой мембраны уподобляется датчику в ионоселективном электроде.

Электрохимическая цепь предлагаемой ячейки аналогична цепи запатентованной ячейки и определяется уравнением (1).



Общая ЭДС цепи складывается из скачков потенциала на каждой межфазной границе:

$$\Delta\varphi = \Delta\varphi_A^0 + \Delta\varphi_{C_1}^{\text{KCl}} + \Delta\varphi_M^{C_1} + \Delta\varphi_{\text{diff}} + \Delta\varphi_{C_2}^M + \Delta\varphi_{\text{KCl}}^{C_2} - \Delta\varphi_B^0 \quad (2)$$

где  $\Delta\varphi_{A(B)}^0$  – стандартный потенциал хлорсеребряного электрода А (В);  $\Delta\varphi_{C_1}^{\text{KCl}}$  – разность потенциалов на границе насыщенный раствор KCl / раствор  $C_1$ ;  $\Delta\varphi_M^{C_1}$  – разность потенциалов на границе раствор  $C_1$  / мембрана;  $\Delta\varphi_{\text{diff}}$  – диффузионный потенциал в фазе мембраны;  $\Delta\varphi_{C_2}^M$  – разность потенциалов на границе мембрана / раствор  $C_2$ ;  $\Delta\varphi_{\text{KCl}}^{C_2}$  – разность потенциалов на границе раствор  $C_2$  / насыщенный раствор KCl.

Рассмотрим подробнее вклады скачков потенциала на отдельных границах в общую ЭДС цепи (1).

1) Хлорсеребряные электроды, используемые для измерения, имеют равные стандартные потенциалы, поэтому считаем, что в исследуемой цепи (1) разность потенциалов, возникающая на их границах, компенсируется полностью, т.е.  $\Delta\varphi_{см1}^A \approx \Delta\varphi_B^{см2}$  и  $(\Delta\varphi_{см1}^A - \Delta\varphi_B^{см2}) \rightarrow 0$ .

2) Предполагаем, что в области исследованных концентраций соотношение Доннана остается справедливым, т.е. селективность ионообменной мембраны близка к идеальной и исключает проникновение коионов в фазу мембраны. На основании этого, считаем, что вклад в общую разность потенциалов диффузионного потенциала  $\Delta\varphi_{diff}$ , возникающего в фазе мембраны, минимальный.

3) Рассмотрим равновесие на границе ионообменная мембрана / 1М раствор электролита.

Известно, что в области высоких концентраций свойства внешнего и внутреннего (в фазе ионообменника) растворов сближаются, коэффициенты активности ионов в фазе ионообменника приблизительно равны коэффициентам активности этих ионов во внешнем растворе. С учетом этого, вклад разности потенциалов на границе мембрана-1М раствор будет стремиться к минимуму, т.е.  $\Delta\varphi_{C_2}^M \approx 0$ .

Предполагаем так же, что диффузия концентрированного раствора вдоль мембраны (длина которой превышает ее толщину более чем в 1000 раз) является пренебрежимо малой.

4) Потенциалы на границах насыщенный раствор КСl / исследуемый раствор, 1 М раствор / насыщенный раствор КСl являются потенциалами жидкостного соединения. Оценка скачков потенциалов по уравнению Гендерсона показала, что их вклад в общую ЭДС цепи незначителен.

То есть электрохимическая цепь представляемого метода оценки потенциала Доннана построена таким образом, что вклады скачков потенциала в общую ЭДС цепи (1) на всех границах, кроме доннановского потенциала на границе исследуемый раствор / мембрана, либо пренебрежимо малы, либо компенсируют друг друга.

## Эксперимент

Для тестирования новой ячейки были исследованы системы с мембранами МФ-4СК разной обменной емкости и водными растворами хлорида калия. Концентрация хлорида калия варьировалась от 0,001 до 0,050 моль/л. На рис. 2 представлены значения доннановского потенциала в данных системах, полученные запатентованным и новым методом.

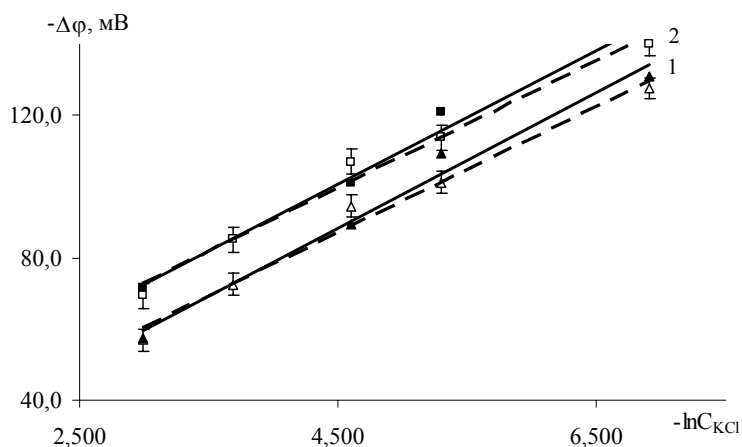


Рис 2. Доннановский потенциал в системах с водными растворами КСl и мембранами МФ-4СК с обменной емкостью  $\Omega$ , ммоль/г: 1-0,91; 2-1,10; зависимости, полученные

запатентованным и новым методом, изображены пунктирной и сплошной линией соответственно

Логарифмический вид зависимостей доннановского потенциала от концентрации противоиона в растворе, полученных новым методом соблюдается с достоверностью аппроксимации 0,98. Расхождение результатов полученных на новой и запатентованной ячейках составило 3,7 %.

***Доннановская разность потенциалов в системах с мембранами МФ-4СК, МК-40, МА-41 и растворами лизина, моногидрохлорида лизина, хлорида натрия***

В табл. 1 представлены значения доннановской разности потенциалов полученные на новой ячейке для систем, включающих гетерогенные мембраны МА-40, МА-41, МК-40, гомогенную мембрану МФ-4СК, а так же растворы LysHCl, Lys и NaCl с концентрацией 0,01 М.

Таблица 1. Доннановская разность потенциалов в системах ионообменная мембрана-раствор электролита,  $\Delta\varphi$ , мВ

Раствор электролита	Мембрана			
	МА-41	МА-40	МК-40	МФ-4СК
NaCl	115,1±1,2	110,5±0,6	111,5±0,6	105,3±2,3
Lys	78,3±3,5	99,1±5,7	-	-
LysHCl	60,4±2,7	65,1±5,7	45,5±6,7	56,9±2,1

Значения доннановской разности потенциалов для ЭМС с растворами LysHCl и Lys почти в два раза меньше, чем для ЭМС с растворами NaCl, что можно объяснить не только большими размерами и меньшей подвижностью органического иона, по сравнению с неорганическим, но и различной селективностью ионообменных мембран к катионам натрия, катионам и анионам лизина. Значения доннановского потенциала для ЭМС с растворами Lys больше, чем для ЭМС с растворами LysHCl. В работе [6] показано, что анион лизина  $\text{Lys}^-$  сильнее гидратирован нежели катион  $\text{Lys}^+$ . При переходе иона лизина из фазы раствора в фазу мембраны происходит перестройка гидратной оболочки. При этом для более гидратированных анионов лизина характерна более глубокая перестройка гидратной оболочки по сравнению с менее гидратированными катионами, вследствие чего энергия активации их обмена повышается, а, следовательно, повышается и величина межфазной разности потенциалов. Интересно заметить, что данная тенденция наблюдается для всех рассмотренных мембран.

Значения доннановского потенциала для ЭМС с анионообменными мембранами и растворами Lys больше, чем для ЭМС с растворами LysHCl. Значения pH растворов Lys соответствуют щелочной области шкалы pH ( $\approx 10$ ), тогда как pH растворов LysHCl является нейтральным ( $\text{pH} \approx 5,5$ ). Мы предполагаем, что гидроксил ионы участвуют в образовании доннановского потенциала, в результате чего в ЭМС с растворами Lys возможно установление смешанного межфазного потенциала. В системах же с растворами LysHCl концентрация ионов водорода незначительна, по сравнению с концентрацией ионов лизина, а гидроксил ионы, фактически отсутствуют, поэтому разность потенциалов на межфазной границе преимущественно определяется ионами лизина и принимает более низкие значения.

## **Заключение**

В данной работе мы представляем новый метод измерения доннановской разности потенциалов в ЭМС с растворами электролитов. Особенностью предлагаемого метода

является то, что мембрана погружена одним концом в исследуемый, а другим в концентрированный раствор. Таким образом, электрохимическая цепь замыкается продольно, а конец мембраны, опущенной в исследуемый раствор, уподобляется датчику в ионселективном электроде. Конструкция новой ячейки позволяет использовать только два измерительных электрода. Полученная электрохимическая цепь аналогична таковой для ячейки [2].

Исследование ЭМС с мембранами МА-40, МА-41, МК-40, МФ-4СК и растворами Lys, LysHCl и NaCl показало, что значения доннановского потенциала для ЭМС с растворами LysHCl и Lys почти в два раза меньше, чем для ЭМС для растворов NaCl, что справедливо для всех рассмотренных мембран. Причем значения доннановского потенциала для систем с анионитовыми мембранами и растворами Lys превышают таковые для систем с анионитовыми мембранами и растворами LysHCl, что можно может быть связано не только с различной гидратацией катиона и аниона лизина, но и селективностью мембран к катионам и анионам лизина.

### Список литературы

1. Лизин - одна из важнейших незаменимых аминокислот в обеспечении полноценного питания / О.В. Бобрешова и [др.]; под общ. ред. А.С. Фаустова. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2003. - 80 с.
2. Способ определения доннановского потенциала: пат. № 2250456 / Бобрешова О.В., Кулинцов П.И., Новикова Л.А.; заявл. № 2003125467 от 18.08.2003; опубл. 20.04.2005.
3. Дьячкова Н.Г. Метод оценки межфазной разности потенциалов в электромембранной системе с анионообменной мембраной МА-41 и щелочными растворами глицина / Н.Г. Дьячкова и [др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. Т. 6. – В. 1. – С. 130-138.
4. Паршина А.В. Возможности метода доннановского потенциала для анализа ЭМС с растворами KCl, NaCl и глицина / А.В. Паршина, О.В. Бобрешова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. Т. 7. – В.4. – С. 668-675.
5. Бобрешова О.В., Кулинцов П.И., Новикова Л.А. Межфазная разность потенциалов в ЭМС с растворами аминокислот / О.В. Бобрешова, П.И. Кулинцов, Л.А. Новикова // Сорбционные и хроматографические процессы. 2003. Т.3. Вып. 3. С. 310-319.
6. Зяблов А.Н. Гидратация аминокислот на поверхности графита / А.Н. Зяблов и [др.] // Труды VI региональной конференции «Проблемы химии и химической технологии». Воронеж: 1998. Т.2. С.115-119.



## Исследование четвертичной структуры липазы из *rhizopus niveus*

Беленова А.С., Ковалева Т.А., Артюхов В.Г.,  
Трофимова О.Д., Багно О.П.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

При помощи методов гель-хроматографии, электрофореза и ИК-спектрофотометрии исследована четвертичная структура липазы из *Rhizopus niveus*. Показано, что фермент состоит из двух субъединиц с молекулярной массой 48 кДа, обладающих каталитической активностью. Установлено, что ионы кальция являются необходимыми в гидролизе и предположительно входят в состав Са-связывающего домена, поддерживая каталитически активную конформацию фермента

### Введение

В последние годы при усовершенствовании многих технологических процессов широко используются гидролитические ферменты микроорганизмов.

Исследование физико-химических свойств, кинетико-термодинамических параметров, особенностей фермент-субстратных взаимодействий при осуществлении акта катализа гидролитическими ферментами способствуют существенному изменению и усовершенствованию многих известных технологий и созданию новых.[1,2,3].

Возрастающие масштабы использования липаз в биотехнологии вызывают необходимость получения знаний о регуляции биологических свойств данного фермента. Для этого требуется детальное исследование не только физико-химических и термодинамических свойств липазы, но и особенностей ее структуры.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования служил коммерческий препарат липазы. Определение каталитической активности липазы проводили спектрофотометрическим методом Андерсона – Маккарти. За единицу активности принимали количество жирных кислот, выделенных в единице объема за единицу времени.

Определение количества белка в препарате липазы осуществляли методом Лоури [4], гомогенность ферментных препаратов контролировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле по Дэвису [5].

Регистрацию инфракрасных спектров поглощения липазы проводили на ИК-спектрофотометре Specord M-80 в диапазоне 4000-400 см<sup>-1</sup>.

## Эксперимент

При исследовании олигомерных ферментов достоверную информацию дает метод гель-хроматографии. Сочетание этого метода и подбора определенных условий позволяет достичь разделения белковых субъединиц. В связи с этим была проведена гель-хроматография образца липазы после инкубации с  $2,7 \cdot 10^{-4}$  моль/л раствором додецилсульфата натрия, разрушающего четвертичную структуру. На колонку наносили 1 мл раствора липазы, прошедшего обработку детергентом в течение 30 мин. при  $37^\circ\text{C}$ . Элюцию осуществляли фосфатно-цитратным буфером (рН 7,0). Результаты хроматографии представлены на рис. 1.

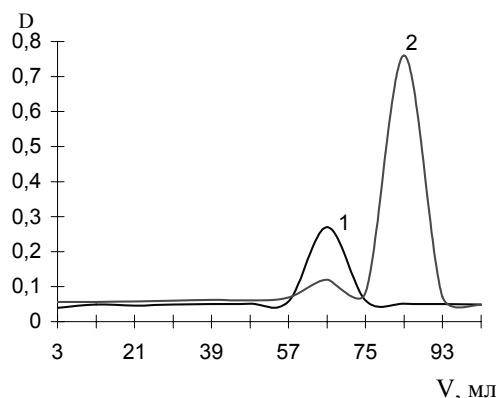


Рис. 1. Профиль элюции липазы до и после инкубации с ДСН  
Обозначения: 1 – нативная липаза; 2 – липаза после инкубации с ДСН

При гель-хроматографии на колонке с Toyopearl HW 55 субъединицы выходили в одном объёме, что позволяет сделать предположение о симметричности их строения.

Для подтверждения и дополнения данных хроматографического анализа был использован метод электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии ДСН (рис. 2).

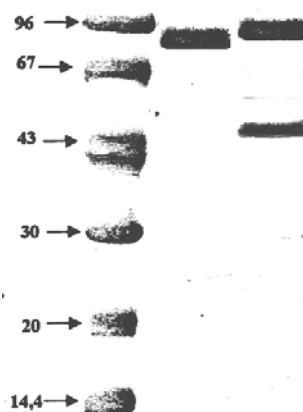


Рис. 2. Электрофореграмма липазы и ее субъединиц

Согласно полученным результатам молекула липазы состоит двух субъединиц с молекулярной массой  $48 \pm 2$  кДа, каталитическая активность которых составляет  $8,0 \pm 0,2$  ед/мг.

Для более детального исследования особенностей вторичной структуры субъединиц липазы были зарегистрированы ИК-спектры нативной липазы и её протомеров (рис. 3, 4).

Для нативной формы липазы характерны полосы поглощения: амид I ( $1630 - 1690 \text{ см}^{-1}$ ), амид II ( $1520 - 1560 \text{ см}^{-1}$ ), полоса валентных колебаний  $\text{NH}_2$  – группы ( $3200 - 3400 \text{ см}^{-1}$ ).

Имеющаяся полоса поглощения  $3200-3450 \text{ см}^{-1}$  отвечает колебательным переходам в результате растяжения  $\text{NH}$ -связи; Поглощение при  $2920 \text{ см}^{-1}$  соответствует симметричным

колебаниям метильных групп. Ряд пиков в области  $1739 - 1970 \text{ см}^{-1}$  обусловлен колебаниями карбонильных групп в концевых ассоциированных  $\text{COOH}$ -группах.

Для ИК-спектра субъединиц липазы с молекулярной массой 48 кДа наблюдается незначительное смещение полос амид I и амид II в области с более низкой энергией и уменьшение интенсивности их колебаний, что может указывать на уменьшение числа водородных связей, участвующих в стабилизации вторичной структуры липазы. Наблюдаемое уменьшение уровня колебаний в области  $3320-3493 \text{ см}^{-1}$ , очевидно, свидетельствует об увеличении количества нерегулярных участков, появляющихся при разрушении четвертичной структуры. Кроме того в данной области наблюдается более четкое разделение пиков поглощения, обусловленных наличием в молекуле  $\alpha$ -спиралей,  $\beta$ -структур и нерегулярных участков. В области  $2860 \text{ см}^{-1}$  имеет место изменение интенсивности полос, что может быть обусловлено изменением конформации по сравнению с нативной молекулой и появлением гидрофобных аминокислот на поверхности субъединиц.

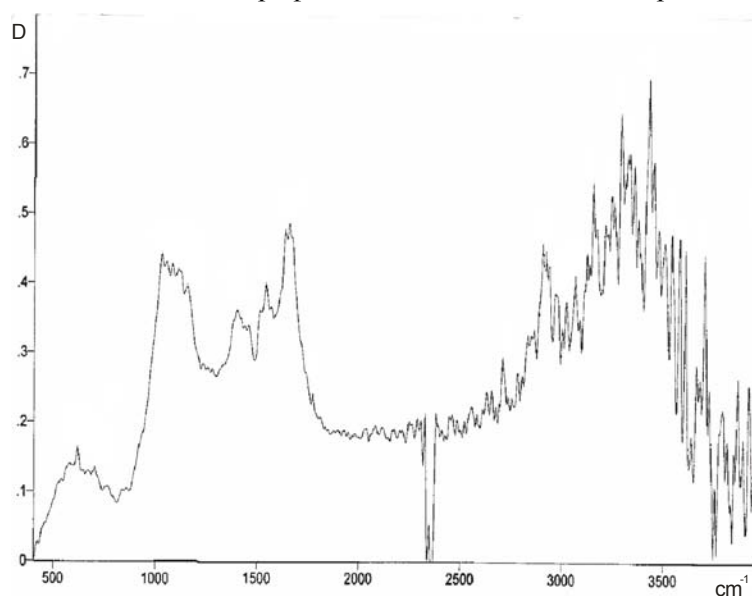


Рис. 3. ИК-спектр нативной липазы

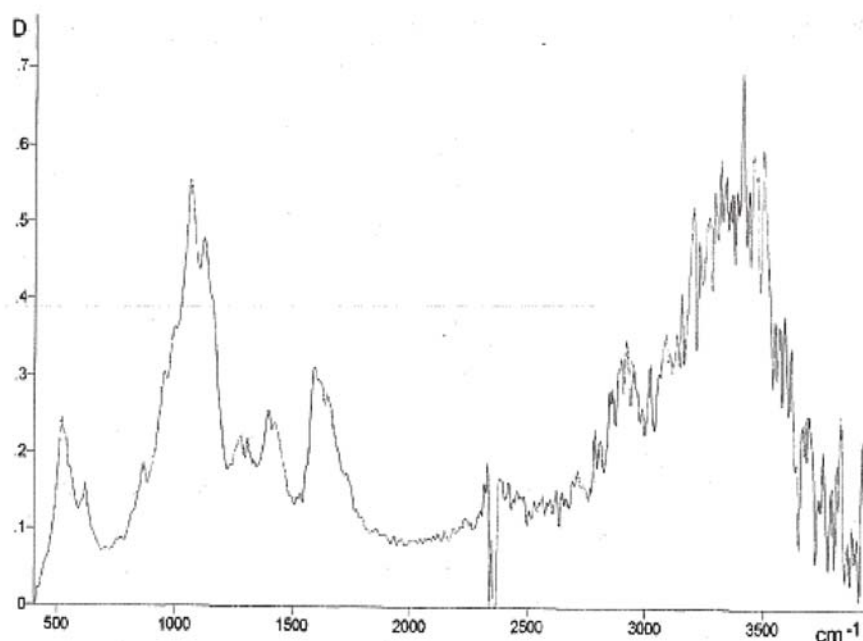


Рис. 4. ИК-спектр субъединиц липазы

Были рассчитаны параметры нормальных колебаний для  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ - структур и соответствующие экспериментальным данным (табл. 1).

Таблица 1. Содержание типов вторичной структуры в липазе и её протомерах

конформация	Липаза			субъединицы		
	$\nu$ , $\text{см}^{-1}$	D	%	$\nu$ , $\text{см}^{-1}$	D	%
$\alpha$ -спирали	1656	0,47	22	1654	0,25	19
$\beta$ -структуры	1691	0,45	45	1623	0,28	37
неупорядоченные формы	1627	0,46	33	1648	0,27	44

Выявлено, что во вторичной структуре субъединиц липазы наблюдается уменьшение количества  $\alpha$ -спиралей на 15 %, уменьшение количества  $\beta$ - структур на 18 % и увеличение количества неупорядоченных участков на 25 % по сравнению с нативной формой липазы.

Результаты экспериментов по ИК – спектроскопии отдельных субъединиц липазы позволяют сделать заключение о том, что четвертичная структура липазы поддерживается гидрофобными «силами сцепления», что способствует увеличению мобильности фермента в процессе образования фермент – субстратного комплекса. Четвертичная структура фермента принимает участие в регуляции каталитической активности за счет взаимодействия субъединиц [7].

Для проведения наиболее полного анализа четвертичной структуры было изучено влияние ионов кальция на каталитическую активность липазы. В этом отношении особый интерес представляет отделение металла от апофермента, сопровождающееся исчезновением или снижением ферментативной активности, а также последующая реактивация фермента путем добавления металла.

В связи с этим было изучено влияние этилендиамидтетраацетата [ЭДТА], связывающего ионы двухвалентных металлов, на каталитическую активность липазы и ее субъединиц.

Инкубацию фермента модификатором осуществляли в течение 20 мин. при температуре  $37^\circ\text{C}$ , затем вносили субстрат и осуществляли реакцию гидролиза с последующим определением каталитической активности. Результаты эксперимента представлены на рис.6.

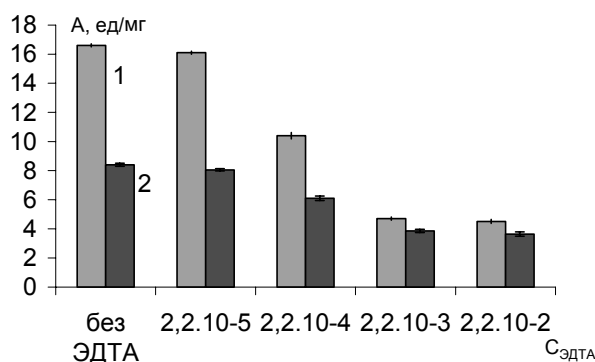


Рис. 6. Влияние ЭДТА на каталитическую активность липазы и её субъединиц: 1 – нативная липаза; 2 – протомеры липазы

Снижение каталитической активности липазы и ее субъединиц наблюдается при воздействии ЭДТА в концентрации  $2,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Показано, что максимальный ингибирующий эффект ЭДТА имеет место при концентрации  $2,2 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

Далее нами было исследовано влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$  (раствор  $\text{CaCl}_2$  в концентрации  $10^{-3}$  моль/л) на процесс реактивации активности липазы после угнетения ЭДТА ( $10^{-3}$  моль/л). Для этой цели фермент после инкубации с реагентом пропускали через хроматографическую колонку, упакованную сефадексом G-25, для удаления ЭДТА из



реакционной смеси. Затем ферментный раствор инкубировали в течение 60 минут при температуре 37°C с раствором CaCl<sub>2</sub> и определяли каталитическую активность в стандартных условиях. Результаты экспериментов показаны на рис. 7.

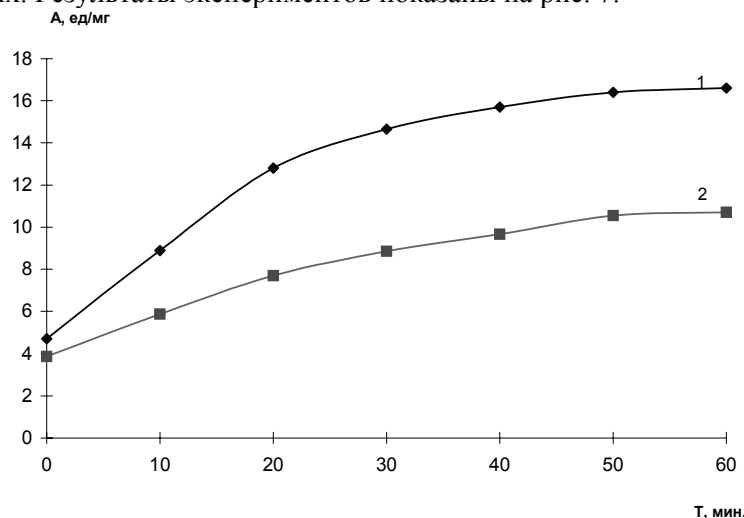


Рис. 7. Влияние ионов Ca<sup>2+</sup> на каталитическую активность липазы и её субъединиц: 1 – нативная липаза; 2 – протомеры липазы

Показано, что гидролитическая активность, как нативного фермента, так и его протомеров полностью восстанавливалась, чему способствовало, по-видимому, возвращение ионов металла в состав Ca-связывающего домена молекулы фермента [9, 10, 11].

Для подтверждения полученных данных нами была проведена ИК-спектроскопия субъединиц липазы после их инкубации с ионами Ca<sup>2+</sup> (рис. 8).

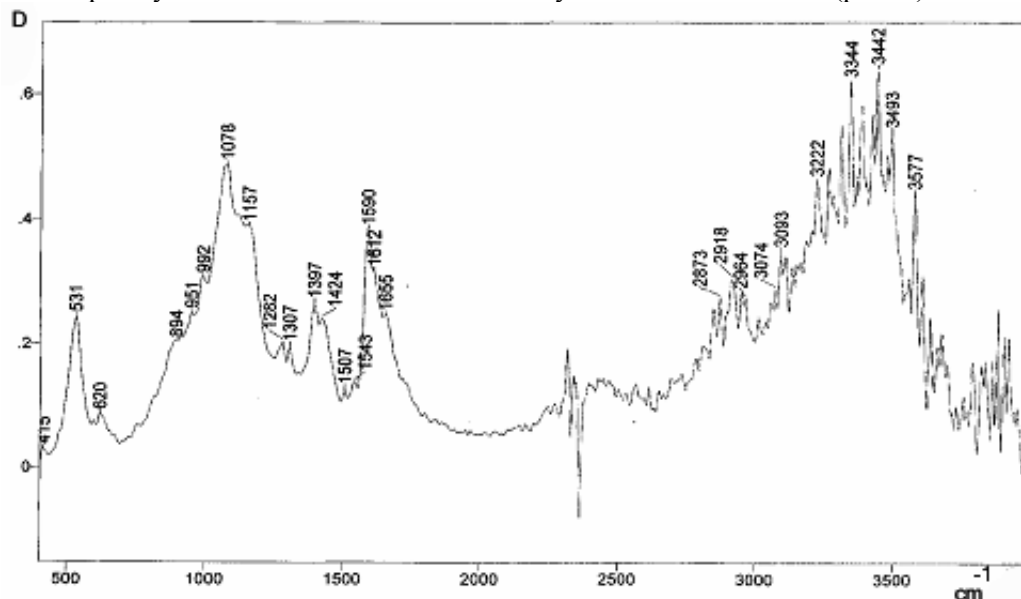


Рис. 8. ИК-спектр субъединиц липазы после инкубации с ионами Ca<sup>2+</sup>

Для субъединиц, после взаимодействия с ионами Ca<sup>2+</sup> (по сравнению с ИК-спектром субъединиц) ИК-спектр не претерпевал значительных изменений. Незначительное увеличение интенсивности колебаний полос амид I и амид II, по-видимому, свидетельствует об увеличении числа водородных связей, участвующих в стабилизации вторичной структуры липазы.

Анализ экспериментальных данных по изучению четвертичной структуры липазы методами гель-хроматографии, электрофореза, а так же ИК-спектроскопии нативного

фермента и его протомеров позволяет сделать заключение о том, что молекула липазы представляет собой сложный олигомерный белок, состоящий из двух идентичных субъединиц, обладающих каталитической активностью. Данный фермент *in vivo* может функционировать как в состоянии димера, так и в виде отдельных протомеров. Ионы кальция являются необходимыми в гидролизе триглицеридов и предположительно входят в состав Са-связывающего домена липазы, поддерживая каталитически активную конформацию фермента.

### Список литературы

1. Полторак О.М. Физико-химические основы ферментативного катализа / О.М. Полторак, Е.С. Чухрай. – М.: Высшая школа, 1971. – 311 с.
2. Можаяев В.В. Иммобилизация ферментов как новый подход к решению фундаментальных проблем энзимологии / В.В. Можаяев // Успехи биологической химии. – 1983. – Т.24. – С.99-134.
3. Варфоломеев С.Д. Кинетические методы в биохимических исследованиях / С.Д. Варфоломеев, С.В. Зайцев. – М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1982. – 343 с.
4. Клинов Д.В., Мартынкина Л.П., Юрченко В.Ю., Демин В.В., Стрельцов С.А., Герасимов Ю.А., Венгеров Ю.Ю. // Биоорганическая химия, 2003. Т. 29. № 4. С. 397-402.
5. Любарев А.Е., Курганов Б.И. // Биохимия, 1998. Т. 63. № 4. С. 516-523.
6. Суханов Т.Е., Вылегжанина М.Э., Копейкин В.В., Баклагина Ю.Г., Хрипунов А.К., Нилова В.К., Ткаченко А.А. // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2006. № 6. С. 132-138.
7. Noble M. E. M. Analysis of the structure of *Pseudomonas glumae* lipase/ M. E. M. Noble, A. Cleasby, L. N. Johnson, M. R. Egmond, L. G. J. Frenken// Protein Engineering. – 1994. - Vol.7, №4. – P.559-562.
8. Ковалева Т.А. Физико-химические и кинетико-термодинамические аспекты катализа свободной и иммобилизованной амилаз / Т.А. Ковалева - Воронеж: ВГУ, 1998. – 421с.
9. Amada K. Ca<sup>(2+)</sup>-induced folding of a family 1.3 lipase with repetitive Ca<sup>(2+)</sup>-binding motifs at the C-terminus / K. Amada // FEBS Lett. – 2001. – V.509, №1. – P. 17-21.
10. Tanaka A. Differential scanning calorimetry of the effects of Ca<sup>(2+)</sup> on the thermal unfolding of *Ps. cepacia* lipase / A. Tanaka // Biosci Biotechnol Biochem. – 2003. – V.67, №1. – P. 207-210.
11. Suzuki M. Purification and General Properties of a Metal-Insensitive Lipase from *Rhizopus japonicus* NR 400 / M. Suzuki, H. Yamamoto, M. Mizugaki // J. Biochem. – 1986. – V.100, №5. – P. 1207-1213.



## Неполная диссоциация и неизоселективность ионита в смешанной многоионной форме

Кузьминых В.А., Селеменев В.Ф.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Разработана модель не полностью диссоциирующего ионообменника (ионита) в смешанной многоионной форме, основанная на строгом термодинамическом анализе равновесного химического состава его фазы в условиях образования противоионами с фиксированным ионом ионных пар различной устойчивости. Выведено уравнение, обобщающее закон разбавления Оствальда в брутто-многоионном виде и выражающее зависимость между степенью диссоциации ионита и его составом при произвольном числе компонентов. Установлена взаимосвязь между усредненными по противоионному составу брутто-характеристиками не полностью диссоциирующего ионита (селективности, диссоциации и устойчивости, образованных с фиксированным ионом ионных пар), а также их зависимость от состава равновесного многокомпонентного раствора сильного электролита. Выявлены условия неизоселективности ионита при его неполной диссоциации с зависимостью брутто-коэффициентов бионных разделений от наличия конкурирующих противоионов и их термодинамических характеристик

### Введение

Одной из наименее разработанных проблем теоретической химии ионного обмена является управление селективностью ионита, как правило, зависящей от ионного состава взаимодействующих фаз и определяющей тем самым конечные результаты ионообменного разделения [1-12]. Показано, что, даже при идеальном обмене двух равнозарядных ионов, проблема неизоселективности ионита становится актуальной, как только ограничения на полную диссоциацию ионита снимаются [13-15]. На это указывают и представленные в литературе экспериментальные данные [16-17], согласно которым наблюдаемая степень диссоциации, даже у сульфокатионообменников, не превышает 30-70%, а коэффициенты их селективности не постоянны с тенденцией к уменьшению, по мере превращения ионита в конечную ионную форму, и обращением селективности, в ряде случаев [2-3, 6-11]. Проявляемое, таким образом, свойство неизоселективности не полностью диссоциирующего ионита, значительно осложняет прогнозирование его ионного состава по составу равновесного раствора электролита, даже в простейшем случае идеального обмена двух однозарядных ионов [13-17] и требует выявления физико-химической взаимосвязи между коэффициентом селективности и степенью диссоциации ионита, а также их зависимости от равновесных составов взаимодействующих фаз [13-15].

## Модель не полностью диссоциирующего ионита

Предлагаемая неструктурированная модель, представляет расширение рассмотренной ранее [13-15] для случая бинарного обмена на более общий случай произвольного числа конкурирующих противоионов в равновесном с ионитом растворе сильного электролита.

### Физико-химические предпосылки и положения

Исходные представления основаны на строгом термодинамическом анализе равновесного химического состава ионита гелевого типа, рассматриваемого как не полностью диссоциирующий полиэлектролит с равномерно распределенными фиксированными ионами R – при эквивалентном межфазном обмене противоионов A его исходной формы на равнозарядные сорбируемые противоионы  $B_i$  :

$$\bar{C}_{B_i} / \bar{C}_A = K_{A,B_i} C_{B_i} / C_A \quad (i = 1, \dots, m) \quad (1)$$

из смеси сильных электролитов I-X ( $I=A, B_1, \dots, B_m$ ) с одним общим коионом (X):

$$\overline{R-A} + \sum_{i=1}^m \bar{B}_i - X \Leftrightarrow \sum_{i=1}^m R-B_i + A-X \quad (i = 1, \dots, m). \quad (2)$$

При этом, учитывается сопутствующая возможность образования противоионами I ( $I=A, B_i: i=1, \dots, m$ ) ионных пар различной устойчивости с фиксированным ионом R внутри фазы ионита и их частичной диссоциации:

$$\bar{R} + \bar{I} \Leftrightarrow \bar{RI} \quad (3)$$

$$\bar{C}_{RI} = K_{RI} \bar{C}_I \bar{C}_R \quad (I=A, B_i: i=1, \dots, m) \quad (4)$$

в условиях электронейтральности в каждой из фаз:

$$\sum_{A, B_i} C_I = C_X \equiv const, \quad \sum_{A, B_i} \bar{C}_I = \bar{C}_R \quad (I=A, B_i: i=1, \dots, m) \quad (5)$$

и постоянства суммарного количества противоионов в диссоциированном и недиссоциированном состояниях в ионите:

$$\sum_{A, B_i} \bar{C}_I + \bar{C}_{RI} = a \equiv const \quad (I=A, B_i: i=1, \dots, m). \quad (6)$$

Обозначения: а – общая концентрация полиэлектролита в ионите, равная его удельной обменной емкости в условиях полной диссоциации;  $\bar{C}_R$  ( $\bar{C}_{RI}$ ) – концентрация ионизированных (неионизированных с противоионом I) неионизированных функциональных групп R (RI) в ионите;  $K_{RI}$  – константы устойчивости функциональных групп RI с противоионом  $I=A, B_i$  ( $i=1, \dots, m$ );  $C_I$  – концентрации противоионов в равновесном с ионитом проточном (или неограниченного объема) растворе из смеси сильных электролитов I-X ( $I=A, B_i: i=1, \dots, m$ ) с одним общим коионом концентрации  $C_X$ .

### Бинарные разделения противоионов в многоионной системе

В соответствии с (4), каждая из термодинамических констант  $K_{RI}$  является индивидуальной характеристикой устойчивости неионизированных функциональных групп

RI с противоионом I смешанной многоионной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$  – формы ионита ( $I=A, B_i: i=1, \dots, m$ ), а также определяет коэффициенты распределения этого противоиона:

$$\bar{F}_I = \bar{C}_{RI} / \bar{C}_I = K_{RI} \bar{C}_R \quad (I = A, B_i: i=1, \dots, m) \quad (7)$$

и его разделения с десорбируемым ионом A:

$$\bar{K}_{A, B_i} = \bar{F}_{B_i} / \bar{F}_A = \bar{K}_{R B_i} / \bar{K}_{R A} = (\bar{C}_{R B_i} / \bar{C}_{B_i}) / (\bar{C}_{R A} / \bar{C}_A) \quad (i=1, \dots, m) \quad (8)$$

внутри фазы ионита между его неионизированной составляющей (состоящей из ионных пар RI) и полностью диссоциированным полиэлектролитом, сформированными в результате частичной диссоциации ионита в смешанной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$  – форме.

Таким образом, наряду с межфазным бинарным разделением десорбируемого иона с каждым из сорбируемых ионов (1) имеют место их бинарные разделения внутри фазы ионита между ее диссоциированной и недиссоциированной составляющими:

$$\frac{\bar{C}_{RB_i}}{\bar{C}_{RA}} = \bar{K}_{A,B_i} \frac{\bar{C}_{B_i}}{\bar{C}_A}, \quad \bar{K}_{A,B_i} = K_{RB_i} / K_{RA} \quad (i=1, \dots, m), \quad (9)$$

а также – между недиссоциированной составляющей фазы ионита и внешним раствором сильного электролита:

$$\frac{\bar{C}_{RB_i}}{\bar{C}_{RA}} = K_{RA, RB_i} \frac{C_{B_i}}{C_A}, \quad K_{RA, RB_i} = K_{A, B_i} \bar{K}_{A, B_i} \quad (i=1, \dots, m). \quad (10)$$

При этом каждое из разделений сорбируемого и десорбируемого ионов характеризуется, своим индивидуальным коэффициентом бинарного разделения и лишь, в частном случае – равноустойчивости ионных пар, образуемых фиксированным ионом R с десорбируемым (RA) и сорбируемым (RB<sub>i</sub>) ионами:  $K_{RA} = K_{RB_i}$ , диссоциированная и недиссоциированная электролитические составляющие фазы ионита проявляют одинаковую избирательность (селективность) к сорбируемому иону B<sub>i</sub> из раствора по сравнению с десорбируемым ионом A исходной формы ионита:

$$K_{A, B_i} = K_{RA, RB_i} \Leftrightarrow \bar{K}_{A, B_i} = K_{RB_i} / K_{RA} = 1. \quad (11)$$

При наиболее вероятной – различной устойчивости неионизированных функциональных групп с десорбируемым (RA) и сорбированным (RB<sub>i</sub>) противоионом ( $K_{RA} \neq K_{RB_i}$ ) коэффициенты разделения этих противоионов между внешним раствором электролита и полярными по степени диссоциации электролитическими составляющими фазы ионита также различны:

$$K_{A, B_i} \neq K_{RA, RB_i} \Leftrightarrow \bar{K}_{A, B_i} = K_{RB_i} / K_{RA} \neq 1. \quad (12)$$

Поэтому, брутто-селективность ионита к сорбируемому иону B<sub>i</sub> (с различными по селективности диссоциированной и недиссоциированной электролитическими составляющими) представляется усредненно по всему объему его фазы и выражается соответствующим брутто-коэффициентом бинарного разделения

$$\langle K_{A, B_i} \rangle = \frac{\bar{C}_{B_i} + \bar{C}_{RB_i}}{\bar{C}_A + \bar{C}_{RA}} \frac{C_{B_i}}{C_A} = K_{A, B_i} \frac{1 + \bar{\Gamma}_{B_i}}{1 + \bar{\Gamma}_A} = K_{A, B_i} \frac{1 + K_{RB_i} \bar{C}_R}{1 + K_{RA} \bar{C}_R} = K_{A, B_i} \frac{1 + K_{RB_i} a \alpha_R}{1 + K_{RA} a \alpha_R}, \quad (13)$$

который характеризует разделение сорбируемого и десорбируемого ионов (B<sub>i</sub>–A) между внешним раствором сильного электролита и ионитом в целом – для каждой пары противоионов (B<sub>i</sub>–A:  $i=1, \dots, m$ ), а его значение зависит от степени диссоциации ионита

$$\alpha_R = \sum_{A, B_i} \bar{C}_I / a = \bar{C}_R / a, \quad (I = A, B_i: i=1, \dots, m) \quad (14)$$

– как доли ионизированных функциональных групп ионита в смешанной многоионной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$  – форме.

Выявленная однопараметрическая зависимость от степени диссоциации ионита брутто-коэффициентов бинарных разделений десорбируемого и сорбируемых ионов A–B<sub>i</sub> (13), приводит к задаче нахождения степени диссоциации ионита  $\alpha_R$  по составу его фазы и равновесного с ним многокомпонентного раствора сильного электролита – при заданных

термодинамических характеристиках ионита  $\{K_{RA}; K_{RBi}, K_{A, Bi}; i=1, \dots, m\}$  в смешанной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$ -форме.

#### Диссоциация ионита в смешанной многоионной форме

Для ионита, находящегося в любой из моноформ ( $I=A, Bi; i=1, \dots, m$ ), степень его диссоциации определяется из соответствующего уравнения образования (диссоциации) ионных пар RI (4), поскольку в этом случае

$$\bar{C}_I = \bar{C}_R = \alpha_I a, \quad \bar{C}_{RI} = a - \bar{C}_R = (1 - \alpha_I) a, \quad (I=A, Bi; i=1, \dots, m) \quad (15)$$

и, по аналогии с законом разбавления Освальда для бинарного электролита [19],

$$1 - \alpha_I = K_{RI} a \alpha_I^2 \Leftrightarrow a \alpha_I^2 = K_I (1 - \alpha_I) \quad (I=A, Bi; i=1, \dots, m). \quad (16)$$

Таким образом, степень диссоциации ионита в форме иона I однозначно определяется константой устойчивости KRI неионизированных функциональных групп с этим ионом (RI, I=A, Bi) или константой их диссоциации KI (I=A, Bi; i=1, \dots, m).

Для смешанной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$ -формы ионита суммирование уравнения (4) по каждому из противоионов I=A, Bi (i=1, \dots, m), с учетом (5-6), приводит к многокомпонентному брутто-ионному обобщению закона Освальда [19] и ранее полученных результатов [15] для бионной формы ионита:

$$1 - \alpha_R = \langle K_{RI} \rangle a \alpha_R^2 \Leftrightarrow a \alpha_R^2 = \langle K_R \rangle (1 - \alpha_R), \quad (17)$$

где

$$\langle K_{RI} \rangle = \sum_{I=A, Bi} K_{RI} \bar{C}_I / \bar{C}_R, \quad (\langle K_R \rangle = \sum_{A, Bi} K_I \bar{C}_{RI} / (a - \bar{C}_R)) \quad (18)$$

–”брутто-константы” устойчивости (ионизации) функциональных групп ионита RI с противоионами I его смешанной многоионной  $A + \sum_{i=1}^m B_i$ -формы данного равновесного состава, являющиеся статистическим усреднением термодинамических констант устойчивости KRI (диссоциации – KI) функциональных групп RI ионита по составу диссоциированной (недиссоциированной) составляющей его фазы (I=A, Bi; i=1, \dots, m).

Полученное обобщение (17-18) позволяет выразить, в явном виде, зависимость степени диссоциации ионита ( $\alpha_R$ ) от брутто-ионных характеристик устойчивости (диссоциации) неионизированных функциональных групп RI (I=A, Bi; i=1, \dots, m) его смешанной многоионной формы (18):

$$1 / \alpha_R = 1 / 2 + [1 / 4 + \langle K_{RI} \rangle a]^{1/2} = 1 / 2 + [1 / 4 + a / \langle K_R \rangle]^{1/2}, \quad (19)$$

а также от состава равновесного с ионитом многокомпонентного раствора сильного электролита – через концентрационные зависимости этих усредненных характеристик:

$$\langle K_{RI} \rangle = \sum_{I=A, Bi} C_I K_{A, I} K_{RI} / \sum_{I=A, Bi} C_I K_{A, I} \quad (K_{A, A}=1), \quad (20)$$

$$\langle K_R \rangle = \sum_{A, Bi} C_I \bar{K}_{A, I} K_{A, I} K_I / \sum_{A, Bi} C_I \bar{K}_{A, I} K_{A, I}, \quad (21)$$

вытекающие из соотношений (1, 4-6), (9-10), (18).

Достигнутое брутто-ионное описание диссоциации ионита в смешанной многоионной форме (17-21) позволяет интерпретировать ионит по аналогии с описанием

диссоциации моноформы ионита (15-16) с единых количественных позиций – не зависимо от его ионного состава и числа составляющих ионит электролитов в их смеси ( $RA + \sum_{i=1}^m RB_i$ ).

Взаимосвязь между брутто-степенью диссоциации ионита и его брутто-ионным составом в смешанной многоионной форме выражается в неявном виде

$$\alpha_R = \sum_{I=A, B_i} \bar{C}_I / a = \sum_{I=A, B_i} N_{I+RI} [\bar{C}_I / (\bar{C}_I + \bar{C}_{RI})] = \sum_{I=A, B_i} N_{I+RI} / (1 + K_{RI} a \alpha_R), \quad (22)$$

где

$$N_{I+RI} = (\bar{C}_I + \bar{C}_{RI}) / a \quad (I = A, B_i : i = 1, \dots, m) \quad (23)$$

– брутто-степень превращения ионита в форму иона I (I=A, B<sub>i</sub>; i=1, ..., m).

В простейшем случае – моноформы ионита (m=0: I=A, N<sub>I+RI</sub>=1) уравнение его диссоциации (22) эквивалентно (15-16), а для бинарной ионообменной системы (m=1: I=A, B) – сводится к кубическому уравнению

$$\alpha_R \prod_{A,B} (1 + K_{RI} a \alpha_R) = 1 + \alpha_R \sum_{A,B} (1 - N_{I+RI}) K_{RI} a \quad (\sum_{A,B} N_{I+RI} = 1),$$

допускающему аналитическое решение в виде явной зависимости брутто-степени диссоциации ионита в смешанной бионной форме от его брутто-ионного состава [15].

В общем случае многокомпонентной ионообменной системы (m>1: I=A, B<sub>1</sub>, ..., B<sub>m</sub>) зависимость брутто-степени диссоциации ионита  $\alpha_R$  от его брутто-многоионного состава  $\{N_{A+RA}, N_{B_1+RB_1}, \dots, N_{B_m+RB_m}\}$  находится из компьютерного решения (22-23) средствами MS Excel/Подбор параметра [20] – при любом числе обменивающихся компонентов.

## Обсуждение результатов

Полученные уравнения диссоциации ионита в смешанной многоионной форме в зависимости от его брутто-ионного состава (22-23) и состава внешнего раствора сильного электролита (17-21) позволяют, для каждой из взаимосвязанных с  $\alpha_R$  брутто-характеристик смешанной многоионной формы не полностью диссоциирующего ионита, установить их прямую зависимость от ионного состава любой из взаимодействующих равновесных фаз рассматриваемой гетерогенной ионообменной системы (1-6). При этом, для брутто-коэффициентов селективности – используется представление (13), для усредненных термодинамических характеристик устойчивости и ионизации функциональных групп – (17-18).

Анализ зависимости степени ионизации функциональных групп ионита в смешанной форме от его брутто-ионного состава  $\{N_{A+RA}, N_{B_1+RB_1}, \dots, N_{B_m+RB_m}\}$ , в соответствии с полученным уравнением (22), показывает, что  $\alpha_R$ , как брутто-характеристика диссоциации ионита, не зависит от его ионного состава только в двух случаях. В случае, когда функциональные группы ионита не устойчивы в паре ни с одним из противоионов ( $K_{RI} = 0$ , I=A, B<sub>i</sub> : i=1, ..., m) и ионит полностью диссоциирован в любой из начальной, конечной и переходных смешанных форм со степенью диссоциации  $\alpha_R \equiv 1$ . В том случае, когда устойчивость функциональных групп в ионной паре RB<sub>i</sub> не зависит от вида противоиона в этой паре ( $K_{RB_i} = K_{RA}$ ; i=1, ..., m), степень диссоциации ионита также постоянна, хотя и меньше единицы ( $\alpha_R \equiv const < 1$ ). В этих, и только в этих случаях, ионит изоселективен по отношению к каждому из противоионов и характеризуется постоянным индивидуальным брутто-коэффициентом селективности ( $\langle K_{A,B_i} \rangle \equiv const$ ), определяемым только селективностью диссоциированной электролитической составляющей фазы ионита к этому

противоиону:  $\langle K_{A,B_i} \rangle \equiv K_{A,B_i}$  и не зависящим от селективности, проявляемой ионом к любому другому – конкурирующему иону:  $\langle K_{A,B_j} \rangle \equiv K_{A,B_j}$  ( $j \neq i$ ).

В наиболее вероятном случае – различной устойчивости неионизированных функциональных групп с десорбируемым ионом по сравнению, хотя бы с одним, из конкурирующих сорбируемых противоионов ( $K_{RA} \neq K_{RB_i}$ ) степень диссоциации ионита зависит от его брутто- ионного состава, в соответствии с (22-23), в результате чего ионит неизоселективен к каждому из таких противоионов ( $K_{RA} \neq K_{RB_j}$ ) согласно (13). При этом, брутто-коэффициенты бинарного межфазного разделения конкурирующих сорбируемых противоионов ( $B_j$  и  $B_i$ ) с ионом А между собой взаимосвязаны:

$$K_{RA} a \alpha_R = \frac{\langle K_{A,B_j} \rangle - K_{A,B_j}}{K_{RA, RB_j} - \langle K_{A,B_j} \rangle} = \frac{\langle K_{A,B_i} \rangle - K_{A,B_i}}{K_{RA, RB_i} - \langle K_{A,B_i} \rangle} \quad (i \neq j = 1, \dots, m), \quad (24)$$

так, что для каждой такой пары противоионов А– $B_j$  ( $j=1, \dots, m$ ), брутто-коэффициент их бинарного разделения выражается через брутто-коэффициент разделения другой пары ионов А– $B_i$ :

$$\langle K_{A,B_j} \rangle / K_{A,B_j} = \frac{\bar{K}_{A,B_j} - 1}{\bar{K}_{A,B_i} - 1} \langle K_{A,B_i} \rangle / K_{A,B_i} + \frac{\bar{K}_{A,B_i} - \bar{K}_{A,B_j}}{\bar{K}_{A,B_i} - 1}, \quad (25)$$

где  $\bar{K}_{A,B_i} = K_{RB_i} / K_{RA}$  – коэффициенты бинарного разделения противоионов А– $B_i$  внутри фазы ионита между его диссоциированной и недиссоциированной электролитическими составляющими:  $K_{RA, RB_i} = \bar{K}_{A,B_i} K_{A,B_i}$ .

Таким образом, бинарное разделение каждой пары противоионов А– $B_i$  на реальных – не полностью диссоциирующих ионитах, в общем случае, зависит от наличия конкурирующих сорбируемых противоионов ( $m > 1$ ) и осуществляется в определенной взаимосвязи между их бинарными брутто-коэффициентами разделения с десорбируемым ионом – в отличие от проявления независимости бинарных равновесий от количества и содержания конкурирующих компонентов при сорбции полностью диссоциирующими ионообменниками [1], [7-8].

## Заключение

Представленный физико-химический строгий подход позволяет прогнозировать изотермы многокомпонентной ионообменной сорбции (2-3) не полностью диссоциирующими неизоселективными ионообменниками (13), (22) по данным бионных равновесий [14] – при минимуме исходной информации, в отличие от брутто-ионного описания с применением формального регрессионного анализа [10-12], [21], требующего большого объема экспериментальных данных и которое не контролирует установленные физико-химические взаимозависимости между брутто-коэффициентами бинарных разделений десорбируемого иона с конкурирующими сорбируемыми противоионами (как функциями ионных составов взаимодействующих фаз) и, тем самым, не позволяет управлять разделением ионов на не полностью диссоциирующих ионитах, как наиболее реальных.

Дальнейшее развитие выбранного направления на основе представлений о неполной диссоциации ионообменника с проведением более детального, чем брутто-ионный, количественного анализа состава его фазы, принимая во внимание как диссоциированные так и недиссоциированные электролитические составляющие каждого из включенных в ионит электролитов ( $RI+R+I: I=A, B_i; i=1, \dots, m$ ), открывает возможности построения теории управляемого диффузионного транспорта в ионообменниках, как не полностью



диссоциирующих ионопроводящих структурах, с учетом двух состояний и конкурирующих механизмов переноса ионов внутри его фазы [22-25], а также условий взаимозависимого неизоселективного обмена ионов (24-25) из их многокомпонентной смеси во внешнем растворе электролита.

### Список литературы

1. Физическая химия. Теоретическое и практическое руководство. Учеб. пособие для вузов / Под ред. Б.П. Никольского. – Л.: Химия, 1987. – 880 с.
2. Гельферих Ф. Иониты. Основы ионного обмена / Ф. Гельферих – М.: Ин. лит., 1962. – 490 с.
3. Ионный обмен / Под ред. Я. Маринского. – М.: Мир, 1968. – 565 с.
4. Вулих А.И. Ионообменный синтез / А.И. Вулих – М.: Химия, 1973. – 231 с.
5. Самсонов Г.В., Тростянская Е.Б., Елькин Г.Э. Ионный обмен. Сорбция органических веществ / Г.В Самсонов., Е.Б., Тростянская, Г.Э. Елькин – Л.: Наука, 1969. – 336 с.
6. Иониты в химической технологии / Под ред. Б.П. Никольского и П.Г. Романкова. – Л.: Химия, 1982. – 416 с.
7. Кокотов Ю.А., Пасечник В.А. Равновесие и кинетика ионного обмена / Ю.А. Кокотов, В.А. Пасечник – Л.: Химия, 1970. – 336 с.
8. Кокотов Ю.А., Золотарев П.П., Елькин Г.Э. Теоретические основы ионного обмена: Сложные системы. - Л.: Химия, 1986. – 280 с.
9. Знаменский Ю.П. Связь между параметрами массопереноса и основными физико-химическими свойствами ионитов: Дис... докт. хим. наук. – М.: МГУ, 1993. – 476 с.
10. Солдатов В.С. Простые ионообменные равновесия / В.С. Солдатов – Минск: Наука и техника, 1972. – 218 с.
11. Солдатов В.С., Бычкова В.А. Ионообменные равновесия в многокомпонентных системах / В.С. Солдатов, В.А. Бычкова – Минск: Наука и техника, 1988. – 360 с.
12. Кузьминых В.А., Чикин Г.А., Фрелих П. Равновесие и кинетика сорбции нитрат - селективными анионообменниками / В.А. Кузьминых, Г.А. Чикин, П. Фрелих // Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1998. – Вып. 23. – С. 57–80.
13. Кузьминых В.А., Селеменев В.Ф. Степень диссоциации и селективность ионита при ионном обмене / В.А. Кузьминых, В.Ф. Селеменев // Проблемы химии и химической технологии: Труды VIII Региональной научно-технической конференции /21-22 сентября 2000 г./ – Воронеж: Воронежский госуниверситет, 2000. – С. 343–347.
14. Кузьминых В.А., Селеменев В.Ф. Изменение и обращение селективности не полностью диссоциирующего ионита при ионном обмене / В.А. Кузьминых, В.Ф. Селеменев // Теория и практика сорбционных процессов. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2000. – Вып.26. – С.195–212.
15. Кузьминых В.А., Селеменев В.Ф. Уравнение электролитической диссоциации ионита в смешанной биионной форме / В.А. Кузьминых, В.Ф. Селеменев // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2006. – № 2. – С. 77–83.
16. Знаменский Ю.П., Бычков Н.В. Кинетика ионообменных процессов / Ю.П. Знаменский, Н.В. Бычков – Обнинск: Принтер, 2000. – 204 с.
17. Заболоцкий В.И., Никоненко В.В. Перенос ионов в мембранах / В.И. Заболоцкий, В.В. Никоненко – М.: Наука, 1996. – 392с.
18. Кузьминых В.А., Карпов С.И., Селеменев В.Ф. Особенности кинетики селективного многоионного обмена / В.А. Кузьминых, С.И. Карпов, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2001. – Т. 1. – Вып. 4. – С. 650–657.
19. Цитович И.К. Аналитическая химия / И.К. Цитович – М.: Колос, 1982. – 320 с.
20. Гельман В.Я. Решение математических задач средствами Excel: Практикум/ В.Я. Гельман – СПб.: Питер, 2003. – 240 с.
21. Васильев В.П. Термодинамические свойства растворов электролитов: Учебное пособие/ В.П. Васильев – М.: Высш. Школа, 1982. – 320 с.

- 
22. Горшков В.И. Панченков Г.М. К вопросу о механизме ионного обмена / В.И. Горшков, Г.М. Панченков // Докл АН СССР. – 1957. – Т. 114. – № 3. – С.575–578.
23. Николаев Н.И. Диффузия в мембранах / Н.И. Николаев – М.: Химия, 1980. – 232 с.
24. Знаменский Ю.П., Касперович А.И. О возможных механизмах переноса ионов в ионитах / Ю.П. Знаменский, А.И. Касперович //Журн. физ. химии. – 1972. – Т. 46. – № 2. – С.489–490.
25. Калинин А.И., Колотинская Е.В. Моделирование кинетики внутридиффузионного бинарного обмена разновалентных ионов в нелинейных селективных системах / А.И. Калинин, Е.В. Колотинская // Журн. физ. химии. – 2000. – Т. 74. – № 3. – С. 473–487.



## Микроскопический анализ морфологии поверхности ионообменных мембран

Васильева В.И., Битюцкая Л.А., Зайченко Н.А., Гречкина М.В.,  
Ботова Т.С., Агапов Б.Л.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Методами сканирующей электронной микроскопии и атомной силовой микроскопии исследована морфология поверхности ионообменных мембран. Установлены различия в структуре поверхности гомогенных и гетерогенных мембран, исходных коммерческих и образцов после химического кондиционирования, а также подвергшихся эксплуатации при высокоинтенсивных токовых режимах. Определены микропрофили, размер и доля проводящих участков поверхности гетерогенных мембран

### Введение

В настоящее время транспортные и равновесные свойства ионообменных мембран рассматривают с учётом их структурной неоднородности [1]. М.В. Певницкая, В.К. Варенцов и др. [2-4] показали, что гетерогенные ионообменные мембраны имеют неоднородную поверхность, влияющую на их физико-химические и электрохимические характеристики. Влияние геометрической неоднородности поверхности (шероховатости) на электрохимические свойства гомогенных и гетерогенных мембран было обнаружено О.В. Бобрешовой, П.И. Кулинцовым и др. [5], установившими, что форма вольтамперных характеристик и предельная плотность тока выше для гомогенных мембран, чем для гетерогенных. В работах Н.Я. Пивоварова [6,7] была предпринята попытка учесть неоднородность поверхности мембран, зависящую от инертного полимера и мелкодисперсного ионообменного вещества, и установлено, что отличие в вольтамперных характеристиках гомогенных и гетерогенных мембран связано с сокращением проводящей поверхности последних. В работах Н.Д. Письменской [8,9] впервые экспериментально доказано, что структурные, физические и химические свойства поверхности ионообменных мембран имеют решающее значение в определении их электрохимического поведения и развитии механизмов приращения переноса ионов на межфазных границах при сверхпредельных токовых режимах.

Чередование в определённом порядке проводящих и непроводящих участков поверхности ионообменных мембран способствует интенсификации массопереноса за счёт развития вторичных конвективных течений [10]. Теоретически определены оптимальные размеры проводящих и непроводящих участков, которые могут способствовать развитию электроконвекции [11]. Для понимания закономерностей возникновения и развития конвективной неустойчивости в примембранном слое электролита при сверхпредельных токовых режимах необходима экспериментальная информация о морфологии поверхности

мембран, так как реальная картина возникновения вторичных конвективных потоков зависит от структурной неоднородности мембран.

Представление о степени и масштабе неоднородности поверхности ионообменных материалов дают прямые эксперименты по визуализации поверхности, полученные с использованием микроскопических методов [12-19]. Задача данной работы – микроскопический анализ поверхности исходных коммерческих, кондиционированных и подвергшихся температурно–токовому воздействию образцов ионообменных мембран различной природы.

## Эксперимент

**Объекты исследования.** Объектами исследования были выбраны выпускаемые ОАО «Щекиноазот» (г. Щекино) в промышленном масштабе гетерогенные мембраны: катионообменная мембрана МК-40, основу которой составляет сильнокислотный ионит КУ-2, и анионообменная мембрана МА-40 на основе полифункционального смешанной основности анионита ЭДЭ-10П. Так же в работе использовались гетерогенные мембраны, выпускаемые в виде опытно-промышленных партий: анионообменная мембрана МА-41И, активным компонентом которой является изополимерный сильноосновный анионит АВ-17И, и катионообменная мембрана МК-41, содержащая слабокислотный фосфорнокислый катионообменник КФ-1. Технология изготовления гетерогенных мембран на основе углеводородных матриц состоит в том, что из полученных смесей порошков мелкоизмельченного ионообменника (2/3) с размером частиц  $(5-60) \cdot 10^{-6}$  м и полиэтилена низкого давления (1/3) сначала вальцовкой получают листы толщиной около  $(3-4) \cdot 10^{-4}$  м, а затем их армируют при повышенной температуре (150-170) °С капроновой тканью толщиной  $9 \cdot 10^{-5}$  м сначала в течение 50 мин при давлении 5 атм, а затем в течение минуты при давлении около 290 атм [20-22]. Отечественный аналог гомогенной мембраны Нафийон (Nafion) на основе перфторированной матрицы, выпускаемый ОНПО Пластполимер (Санкт-Петербург), имеет марку МФ-4СК. Данный тип химически стойких ионообменных мембран получают на фторуглеродной основе сополимеризацией тетрафторэтилена и перфторвинилового эфира.

Микроскопический анализ морфологии поверхности проводился для коммерческих, кондиционированных и образцов мембран после токо–температурных воздействий. Кондиционирование мембран осуществляли по общепринятой методике [22].

**Методы исследования.** Микроскопические исследования проводили двумя методами:

1) методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), микроскоп модели JSM-6380 LV (Япония) с напылением золотом на сухих образцах;

2) методом атомно–силовой микроскопии (АСМ) с помощью сканирующего зондового микроскопа корпорации NT-MDT модели Solver P47 Pro (Россия, Зеленоград) в полуконтактном режиме на сухих образцах. Сканирование осуществляли кантилевером типа NSG20. Эксперименты проводили на воздухе при температуре  $25 \pm 1$  °С.

Сканирующий электронный микроскоп, работающий только в вакууме, позволяет разрешить детали нанометрового масштаба. С его помощью можно проводить наблюдения с гораздо большей глубиной резкости, чем при работе со световым микроскопом, и получать объемные микрофотографии поверхностей с весьма развитым рельефом. Метод СЭМ требует особой предварительной подготовки исследуемых неэлектропроводных объектов: высушивание влажных образцов (капиллярные силы могут привести к повреждению или изменению структуры полимера) и напыление электропроводящего слоя. Покрытие поверхности мембран слоем золота улучшало качество изображения за счет исключения накопления статистического потенциала на поверхности образца и резкой дифференциации электронного пучка на составляющие по скорости и энергии. Напыление производилось на установке Fin Coat 1100 при вакууме  $10^{-1}$  мм рт.ст. методом ионной бомбардировки в диодной системе при постоянном напряжении, толщина покрытия  $1-2 \cdot 10^{-7}$  м.

Образцы мембран для исследований представляли собой прямоугольные пластины размером  $(4 \times 5) \cdot 10^{-3}$  м. Перед микрофотографированием мембраны выдерживали в термостате при температуре 35°C в течение 24 - 48 часов для удаления влаги. Следует отметить, что электронно-микроскопический метод не позволяет исследовать мембранный материал в реальных условиях эксплуатации (набухшее в воде состояние).

В отличие от сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), атомная силовая микроскопия (АСМ), позволяющая выявить особенности геометрии поверхности с точностью до 0,1 нм [23,24], не требует вакуумной сушки образцов и напыления электропроводящего слоя, благодаря чему можно избежать искажений структуры, связанных с жесткими условиями подготовки объекта исследования. Механические повреждения полимера жесткой иглой при полуконтактном АСМ-методе съемки минимальны.

Результаты измерений, полученные с помощью зондового микроскопа, представляли собой геометрические образы (режим «топографии») в виде двумерных и трёхмерных цифровых изображений поверхности [24]. На АСМ изображениях проводили различные сечения, вдоль которых строился профиль поверхности. Обработка полученных микропрофилей заключалась в анализе следующих стандартных среднестатистических параметров поверхности:  $R_y$  – размах высот (максимальный перепад высот между самой верхней и нижней точками поверхности профиля),  $R_a$  – средняя арифметическая шероховатость,  $R_q$  – средняя квадратичная шероховатость,  $R_z$  – шероховатость поверхности по выбранным пяти максимальным высотам и впадинам (среднее абсолютное значение пяти наивысочайших пиков и пяти самых глубоких впадин).

Кроме того, методом отображения фазы («фазовый контраст») была зарегистрирована неоднородность свойств поверхности (химическая гетерогенность).

**Методика оценки долей проводящей и непроводящей поверхностей гетерогенных мембран.** Определение доли проводящей и непроводящей поверхности гетерогенных мембран на основании результатов, полученных с помощью электронной микроскопии, было проведено по методике, предложенной Н.Д. Письменской и др. [8,9, 25].

Расчет площади и доли поверхности сухой мембраны, доли проводящей поверхности набухшей мембраны  $\bar{S}_{wc}$ , занимаемой ионитом и полиэтиленом проводили по формулам (1-3).

$$S_d = b d a_d = S_{dn} + S_{dc}, \quad (1)$$

где  $S_d$  – площадь поверхности сухой мембраны,  $b_d$  и  $a_d$  – длина и ширина сухой мембраны;  $S_{dn}$ ,  $S_{dc}$  – площадь поверхности сухой мембраны, занимаемая полиэтиленом и ионообменником соответственно. Доли поверхности мембран, занимаемые ионообменным материалом  $\bar{S}_{dc}$  и полиэтиленом  $\bar{S}_{dn}$ , равны:

$$\bar{S}_{dc} = S_{dc} / S_d, \quad (2)$$

$$\bar{S}_{dn} = S_{dn} / S_d \quad (3)$$

Формула (4) для расчета доли проводящей поверхности набухшей мембраны  $\bar{S}_{wc}$  – выведена в предположении, что увеличение линейных размеров мембран в процессе набухания происходит, в основном, за счет увеличения размеров ионообменного материала, а площадь непроводящей поверхности (полиэтилена) практически не изменяется [9,25,26].

$$\bar{S}_{wc} = \frac{S_w - S_{wn}}{S_w} = \frac{S_w - S_d \cdot \bar{S}_{dn}}{S_w} \quad (4)$$

где  $S_w$  – площадь набухшей мембраны, определённая из расчёта, что линейные размеры мембраны при набухании увеличились на  $(8\pm 2)\%$  для мембран МК-40, МА-40 и АМ-41И и на  $(7\pm 2)\%$  для мембраны МК-41 [20].

Оценка площади непроводящей ( $S_{dn}$ ) и проводящей ( $S_{dc}$ ) поверхностей сухого образца мембраны поведилась по электронномикроскопическим снимкам с предварительным контрастированием изображения. В [8, 9, 26] фотографии обрабатывали с применением графического редактора Corel PHOTO-PAINT (TM) версия 7.467. В данной работе контрастирование изображения было проведено с помощью компьютерной программы Adobe Photoshop CS2 версия 9,0: проводящие участки поверхности мембран были окрашены в белый цвет, а участки, соответствующие полиэтилену, – в чёрный (рис.1).

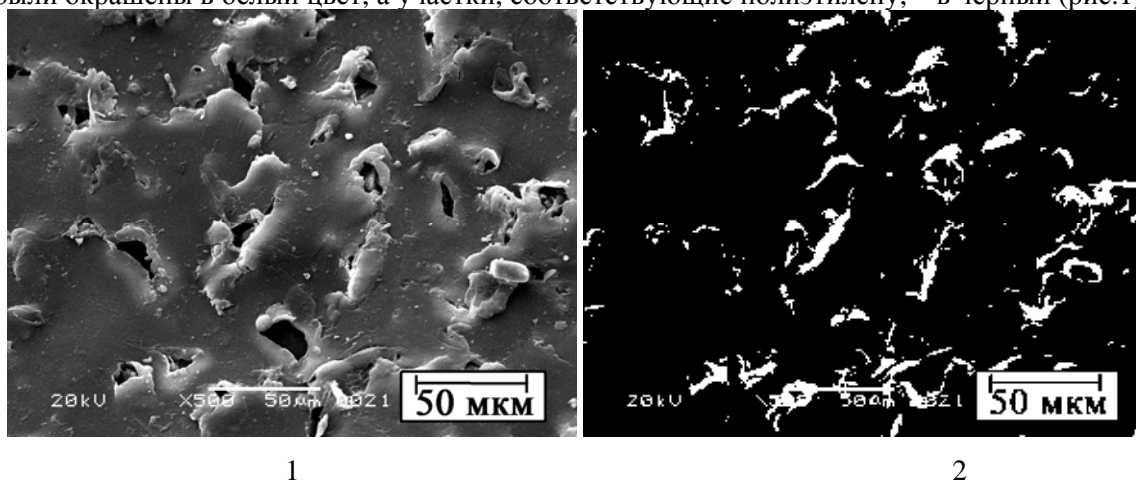


Рис.1. Электронные микрофотографии поверхности мембраны МК-41 при увеличении 500 : фото (1) и контрастированное изображение (2)

Использование встроенной функции «Гистограмма» для графического редактора позволило провести определение процентного соотношения цветов, которое соответствовало соотношению площадей проводящей и непроводящей поверхностей мембраны в воздушно-сухом состоянии. Для определения размера проводящих участков поверхности на микрофотографиях измеряли их диаметр в различных направлениях и вычисляли среднее значение.

Для оценки погрешности определения проводящих и непроводящих участков анализировали 4-5 микрофотографий, полученных для различных участков поверхности исследуемой мембраны. Процедуру обработки каждой микрофотографии повторяли 8-10 раз. Статистическая обработка результатов показала, что относительное стандартное отклонение находилось в интервале 0,02-0,10.

## Обсуждение результатов

Полученные электронные микрофотографии исходных образцов гетерогенной мембраны МК-40 и гомогенной мембраны МФ-4СК представлены на рис.2. Видно, что геометрия поверхности гетерогенной мембраны МК-40 даже отдаленно не напоминает плоскость. Большая часть поверхности экранирована связующим – полиэтиленом, а зерна ионообменника занимают малую долю. Результаты по определению доли проводящей поверхности показали, что она составляет всего лишь  $0,05\pm 0,01$ . Данный эффект авторы [9, 15] объяснили выдавливанием более пластичного полиэтилена из объема гетерогенных мембран в процессе их прессования и последующей прокатки (эффект капсулирования), что требует изменений в существующей технологии производства гетерогенных ионообменных мембран.

Микрофотография исходной гомогенной мембраны МФ-4СК демонстрирует достаточную однородность образца (рис.2.2). Однако на поверхности визуализируются выпуклости и впадины ионообменного материала. Из работы [27] известно о негомогенности поверхности подобных мембран на наноуровне, которая сохраняется после насыщения образца водой в равновесных условиях.

Анализ микроструктуры поверхности мембран подтвердил результаты электронной микроскопии и элементного анализа, представленные в работах Н.Д. Письменской, Г.Ю.Лопатковой и соавторов [9,25,26] показавших, что участки выхода ионообменных зёрен достаточно равномерно распределены по поверхности гетерогенных мембран и их размеры составляют  $(10-30) \cdot 10^{-6}$  м, а размеры неоднородностей поверхности гомогенных мембран имеют порядок  $10^{-6}$  м.

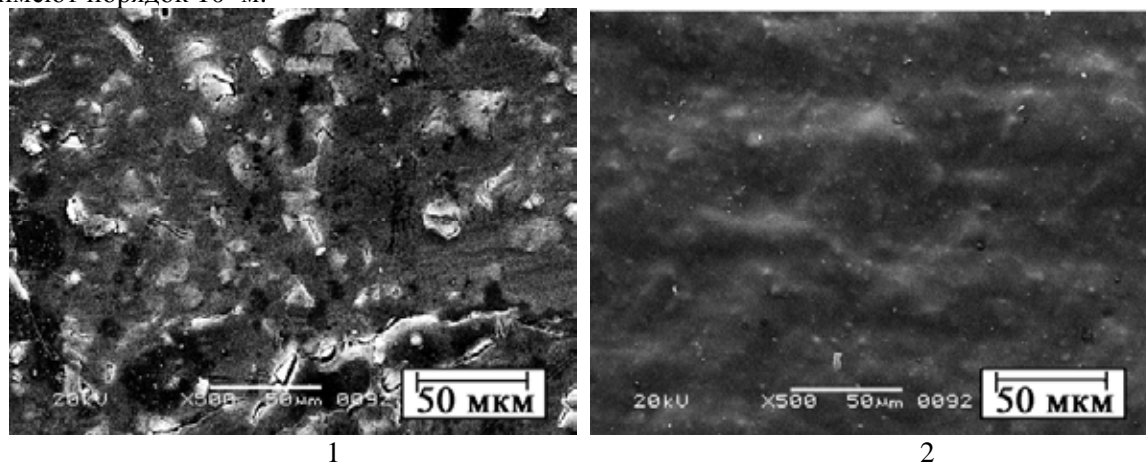


Рис.2. Микрофотографии поверхности мембран МК-40 (1) и МФ-4СК(2), полученные методом электронной микроскопии при увеличении 500

Химическое кондиционирование позволило удалить с поверхности нежелательные включения, примеси, остатки мономеров и стабилизировать структуру полимерного каркаса. После кондиционирования на микрофотографиях образцов гетерогенных мембран более четко визуализировались фазы ионообменника, полиэтилена и армирующей ткани (рис. 3).

После кондиционирования заметно увеличилась доля проводящих участков поверхности мембран и их размеры. Например, для мембраны МА-41И, характеризующейся наибольшим значением незкранированной полиэтиленом поверхности, ее величина возросла почти в два раза и в набухшем состоянии составляла  $0,30 \pm 0,01$ . Сравнение результатов по определению доли проводящей и непроводящей поверхности гетерогенных мембран представлено в табл.1.

Таблица 1. Доля проводящей поверхности сухих и набухших образцов ионообменных мембран

Тип мембраны	Образцы мембран				
	Исходные	После кондиционирования		После токо-температурного воздействия	
		Сухие	Сухие	Набухшие	Сухие
МК-40	$0,05 \pm 0,01$	$0,107 \pm 0,009$	$0,234 \pm 0,008$	$0,14 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$
МК-41	$0,070 \pm 0,008$	$0,09 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,02$
МА-40	$0,063 \pm 0,006$	$0,10 \pm 0,02$	$0,231 \pm 0,008$	$0,19 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,02$
МА-41 И	$0,087 \pm 0,008$	$0,18 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,02$

Полученные данные количественно согласуются с результатами [9,26], установившими, что доля полиэтилена на поверхности мембран МК-40, МА-40 и МА-41 составляет 72-83% при его объемной доле внутри мембраны 30-40%.

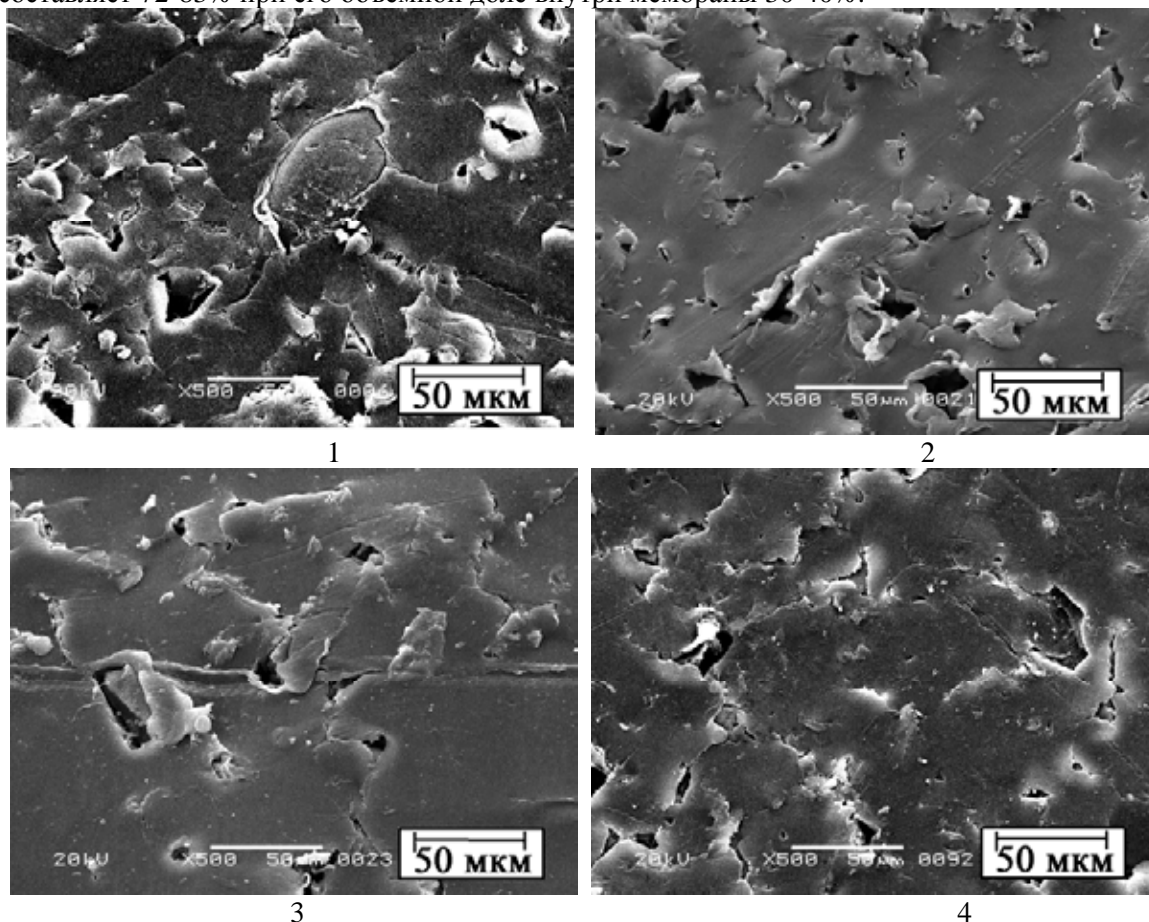


Рис.3. Микрофотографии поверхности кондиционированных мембран МК-40 (1), МК-41 (2), МА-41 (3) и МА-40 (4), полученные методом электронной микроскопии при увеличении 500

На рис.4 представлено сравнение АСМ - изображений исходных (1, 3, 5) и после кондиционирования (2, 4, 6) образцов мембраны МК-40. Для образцов мембран после кондиционирования установлен сильно выраженный рельеф поверхности, обусловленный расширением щелей, пор, микротрещин в процессе набухания, а также формой и геометрией зёрен ионообменника, в местах выхода которых на поверхность пленка полиэтилена разорвана. В табл. 2 представлены результаты измерений стандартных параметров шероховатости при различной площади сканирования исследуемых образцов мембран. Количественные показатели характеризуют шероховатость всей площади исследуемого участка («интегральные измерения»).

Влияние токо-температурного воздействия на электрохимические и структурные изменения в мембранах отмечалось Н.П. Березиной и др. [28], связавших расслоение полимерной композиции и увеличение доли порового пространства мембраны МК-40 с перестройкой полимерного каркаса из-за деструкции вследствие перегрева. В.А. Макарова, М.В. Певницкая и др. [29, с.122] потерю селективности ионообменных мембран МК-40 и МА-40 при нагревании в воде при 80°C объясняли изменениями в структуре мембран, вызванными расширением пор и появлением сквозных каналов.



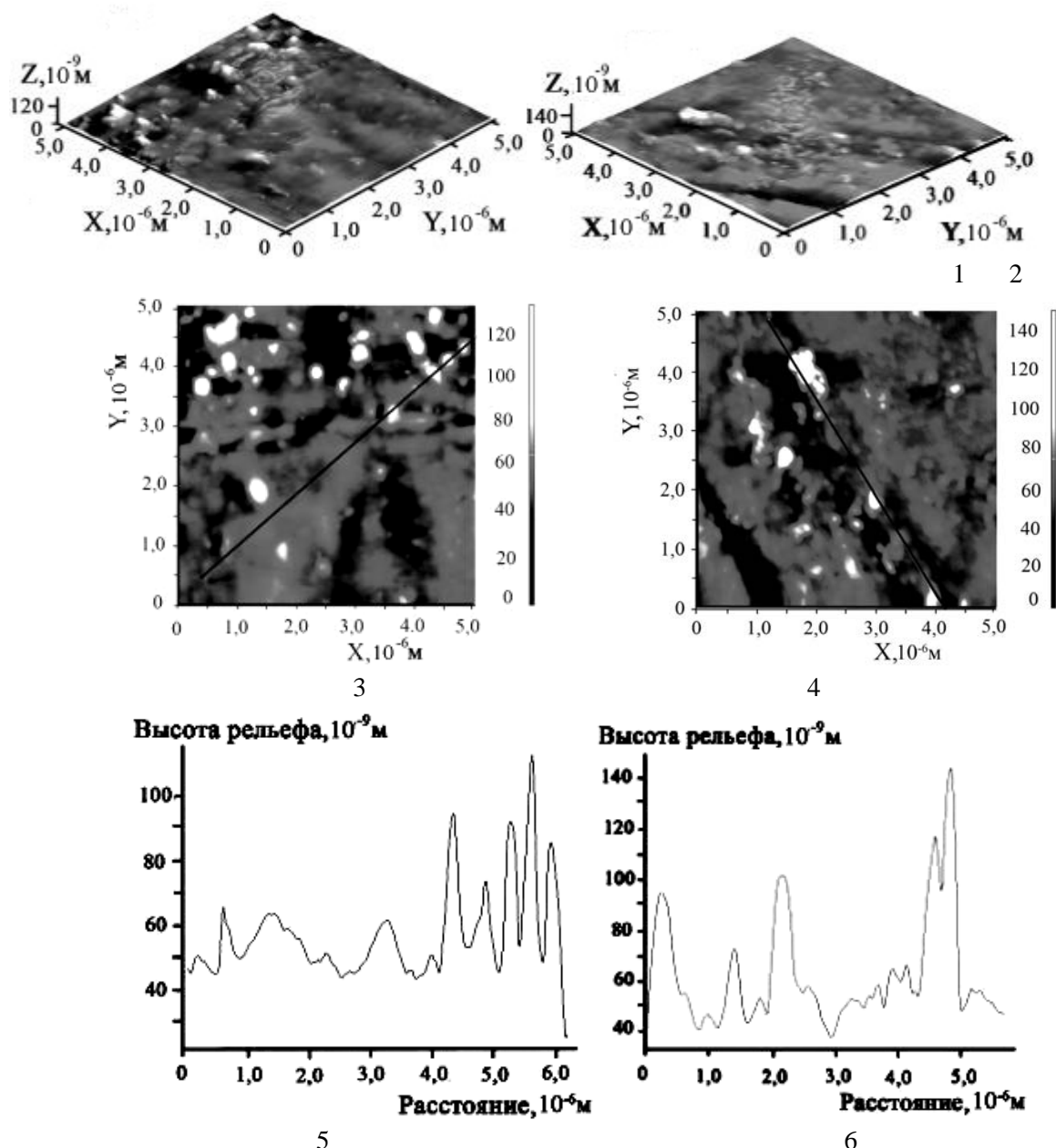


Рис.4. Морфология и микропрофиль поверхности катионообменной мембраны МК-40, полученные методом атомно-силовой микроскопии: трехмерное изображение (1,2), двумерное изображение (3,4), микропрофиль по линии сечения поверхности (5,6) исходного (1,3,5) и после кондиционирования (2,4,6) образцов. Сканируемое поле  $(5 \times 5) \cdot 10^{-6} \text{ м}$

Представление о степени и масштабе неоднородности поверхности гетерогенной ионообменной мембраны МК-40 после эксплуатации при высокоинтенсивных токовых режимах дают полученные с различным масштабом увеличения микрофотографии (рис.5) и АСМ-изображения (рис.6) её поверхности. Внешний вид поверхности свидетельствует о возрастании количества и объёма пор, расширении старых и появлении новых трещин, увеличении расслоения полиэтилена при воздействии электрического тока и перепада температур.

Таблица 2. Параметры шероховатости поверхности катионообменной мембраны МК-40 в воздушно-сухом состоянии.

Образцы мембран. Площадь сканирования, мкм <sup>2</sup>	Размах высот R <sub>y</sub> , нм	Средняя арифметическая шероховатость R <sub>a</sub> , нм	Средняя квадратичная шероховатость R <sub>q</sub> , нм	Шероховатость поверхности R <sub>z</sub> , нм
1. Исходные коммерческие 67,5×67,5	1878,42	105,71	147,87	946,85
5×5	132,67	7,38	11,34	65,91
3×3	62,73	5,20	7,04	31,36
2. После кондиционирования 10×10	179,39	9,55	14,31	88,04
5×5	148,86	9,18	13,21	74,25
3. После токо-температурного воздействия 10×10	326,42	13,59	21,34	160,92
4×4	104,31	8,76	11,66	52,07
2×2	67,07	5,06	7,58	33,53

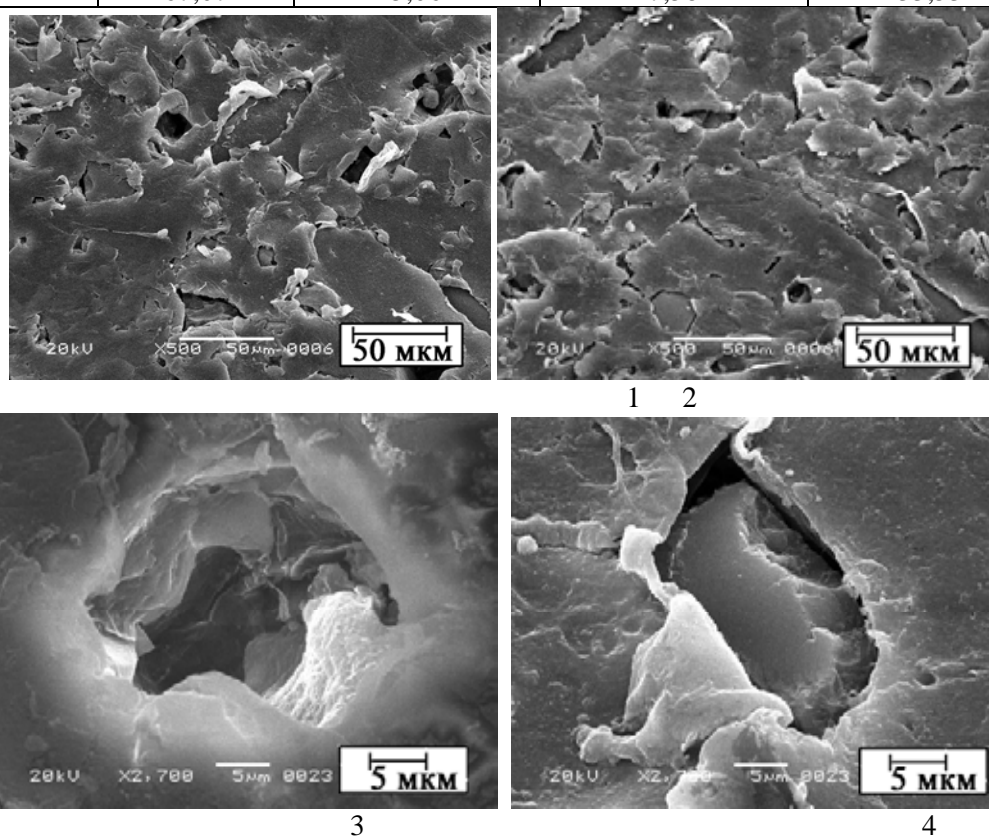


Рис. 5. Микрофотографии поверхности катионообменной мембраны МК-40 после эксплуатации при высокоинтенсивных токовых режимах, полученные методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении 500 (1, 2) и 2700 (3, 4)

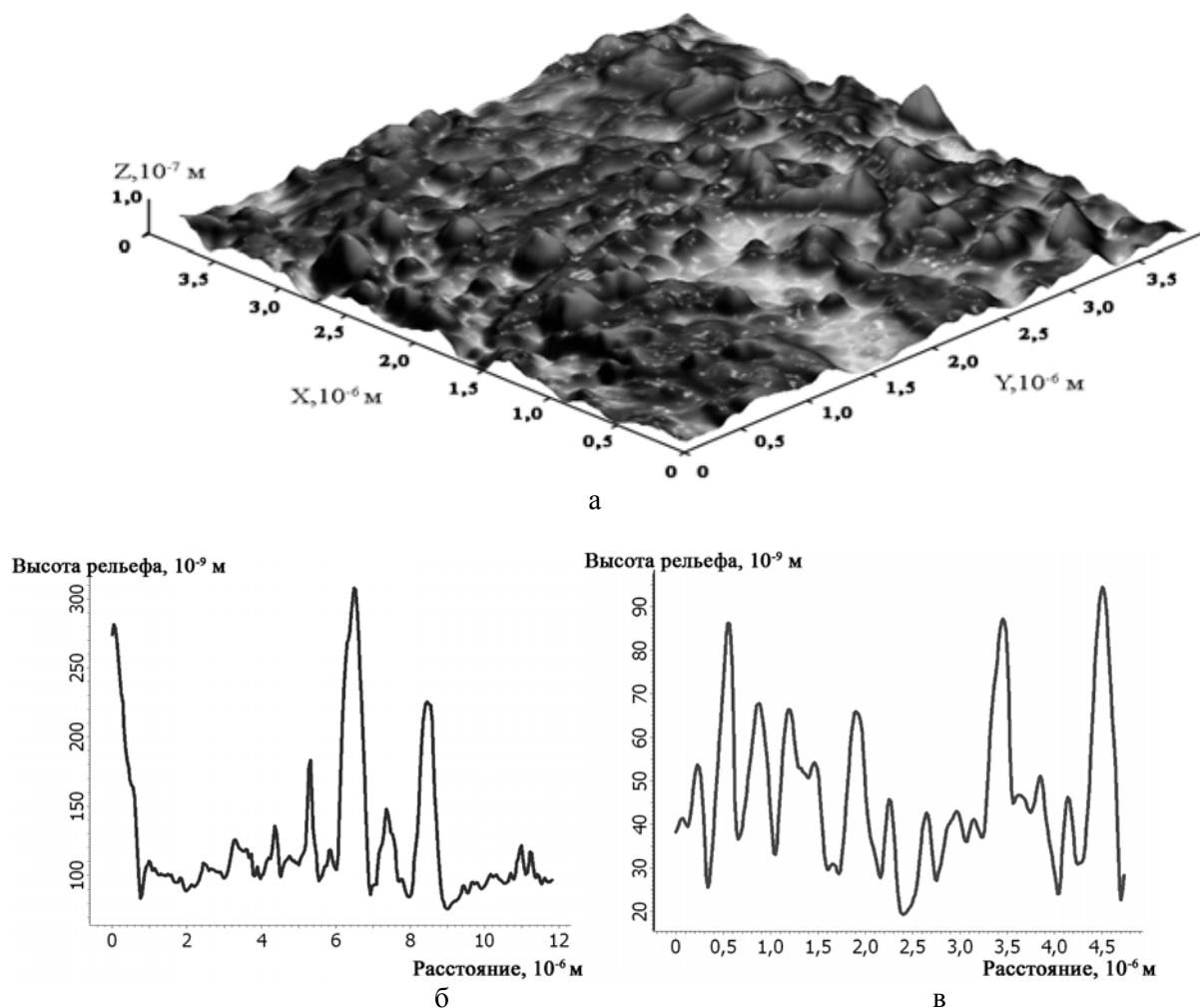


Рис.6. Трёхмерное изображение поверхности (1) и микропрофиль по линии поверхности (2, 3) катионообменной мембраны МК-40 после эксплуатации при высокоинтенсивных токовых режимах, полученные методом атомно-силовой микроскопии. Сканируемое поле  $4 \cdot 10^{-6} \times 4 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2$  (1, 3),  $10^{-5} \times 10^{-5} \text{ м}^2$  (2)

Результаты по определению доли проводящей и непроводящей поверхности мембран МК-40 показали, что после токо-температурного воздействия доля проводящих участков поверхности увеличилась по сравнению с кондиционированным образцом на 15-20% и составляла в набухшем состоянии  $0,27 \pm 0,02$ . Размеры участков выхода ионообменных зерен на поверхность мембраны составляли  $(5-30) \cdot 10^{-6} \text{ м}$  и наиболее крупные из них были сопоставимы с толщиной диффузионного слоя  $\sim 10^{-4} \text{ м}$ .

Из анализа трёхмерного цифрового образа поверхности мембраны, полученного методом атомно-силовой микроскопии, следует, что её поверхность после токо-температурных воздействий (рис.6) имела более рельефную структуру по сравнению с поверхностью мембраны после кондиционирования. Обнаружено, что при грубом увеличении (сканируемое поле  $10^{-5} \times 10^{-5} \text{ м}^2$ ) отдельные локальные макронеоднородности рельефа имели модуляции по высоте порядка  $(2,7 \pm 0,8) \cdot 10^{-7} \text{ м}$  и составляли тысячные доли толщины диффузионного пограничного слоя. Средний масштаб шероховатости  $R_a$  характеризовался размерами  $1,4 \cdot 10^{-8} \text{ м}$ .

При предположении, что изменение толщины мембраны в процессе набухания на  $(30 \pm 5)\%$  [20] происходит за счёт увеличения размера ионообменника, для влажного образца мембраны МК-40 характерно соответствующее увеличение измеренных параметров шероховатости. Полученные результаты оказались несколько заниженными по сравнению с данными Н.Я.Пивоварова [6] по профилографированию образцов набухших мембран МК-

40, установившего, что их поверхность характеризуется как ровными, так и пилообразными участками со слабовыраженной сферичностью общей протяжённостью по длине и высоте  $(0,5-20) \cdot 10^{-6}$  м. К сожалению, метод традиционной профилографии не позволял в процессе регистрации профилей непосредственно фиксировать микроструктуру образца.

## Заключение

Проведено комплексное исследование морфологии поверхности ионообменных мембран методами сканирующей электронной микроскопии и атомной силовой микроскопии. Визуализированы различия в структуре поверхности гомогенных и гетерогенных мембран, исходных коммерческих, образцов после кондиционирования и подвергшихся эксплуатации при высокоинтенсивных токовых режимах. Установлено увеличение размеров и доли проводящих участков поверхности у образцов после кондиционирования по сравнению с исходными.

Анализ полученных методом АСМ микропрофилей поверхности мембран позволил определить стандартные параметры поверхности – среднюю величину шероховатости и дисперсию этой характеристики. Обнаружено, что отдельные макронеоднородности рельефа кондиционированной гетерогенной мембраны МК-40 в воздушно-сухом состоянии имели модуляции по высоте  $1,8 \cdot 10^{-7}$  м, а шероховатость поверхности характеризовалась размером  $9 \cdot 10^{-8}$  м. У образцов гетерогенных мембран, подвергшихся токо– температурному воздействию было отмечено увеличение степени шероховатости поверхности, средняя величина которой составила  $10^{-7}$  м.

Микрофотографии и АСМ-изображения получены в ЦКПНО ВГУ.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 06-03-96676.*

## Список литературы

1. Березина Н.П. Структурная организация ионообменных мембран / Н.П. Березина, Н.А. Кононенко. – Краснодар : Изд-во Кубан. гос. ун-та, 1996. – 49с.
2. Певницкая М.В. Зависимость физико – химических свойств гетерогенных ионообменных мембран от их структуры / М.В. Певницкая, В.К. Варенцов, К.Х. Урусов // Изв. СО АН СССР. Сер хим. наук. – 1969. – Вып.6, №4. – С.18-24.
3. Варенцов В.К. Связь электрохимических свойств ионообменных мембран с состоянием их поверхности / В.К. Варенцов, М.В. Певницкая // Изв. СО АН СССР. Сер хим. наук. – 1971. – Вып.4, № 9. – С.124-127.
4. Варенцов В.К. Электропроводность ионообменных мембран и неоднородность их строения / В.К. Варенцов, М.В. Певницкая // Изв. СО АН СССР. Сер хим. наук. 1973. – Вып.2, №4. – С.3-8.
5. Балавадзе Э.М. Концентрационная поляризация в процессе электродиализа и поляризационные характеристики ионоселективных мембран / Э.М. Балавадзе, О.В. Бобрешова, П.И. Кулинцов // Успехи химии. – 1988. – Т.57, № 6. – С.103-114.
6. Пивоваров Н.Я. Гетерогенные ионообменные мембраны в электродиализных процессах / Н.Я. Пивоваров. – Владивосток : Дальнаука, 2001. – 112 с.
7. Пивоваров Н.Я. Влияние гетерогенности ионообменных мембран на предельный ток и вид вольтамперных характеристик / Н.Я. Пивоваров, В.П. Гребень, В.Н. Кустов, А.П. Голиков, И.Г. Родзик // Электрохимия. – 2001. – Т.37, № 8. – С.941-952.
8. Письменская Н.Д. Сопряженная конвекция раствора у поверхности ионообменных мембран при интенсивных токовых режимах / Н.Д. Письменская, В.В. Никоненко, Е.И. Белова, Г.Ю. Лопаткова, Ф. Систа, Ж. Пурсели, К. Ларше // Электрохимия. – 2007. – Т.43, № 3. – С.325-345.
9. Письменская Н.Д. Сопряженные эффекты концентрационной поляризации в электродиализе разбавленных растворов : дис. ... д-ра хим. наук : 02. 00. 05 : защищена 26.10.04 /

Н.Д. Письменская. – Краснодар, 2004. – 405с.

10. Заболоцкий В.И. Перенос ионов в мембранах / В.И. Заболоцкий, В.В. Никоненко. – М. : Наука, 1996. – 390 с.

11. Уртенев М.Х. Математические модели электромембранных систем очистки воды / М.Х. Уртенев, Р.Р. Сеидов. – Краснодар : Изд-во Кубан. гос. ун-та, 2000. – 140 с.

12. Магонов С.Н. Сканирующая силовая микроскопия полимеров и родственных материалов / С.Н. Магонов // Высокомолекулярные соединения. - 1996. – Т.38, № 1. – С.143-182.

13. Бухараев А.А. Диагностика поверхности с помощью сканирующей силовой микроскопии (обзор) / А.А. Бухараев, Д.В. Овчинников, А.А. Бухараева // Заводская лаборатория. – 1997. – Т.66, №5. – С.10-25.

14. Филатов Д.О. Исследование топографии поверхности твёрдых тел методом АСМ в контактном режиме / Д.О. Филатов, А.В. Круглов, Ю.Ю. Гущина // Физика твёрдого тела : лаб. Практикум ; под ред. А.Ф. Хохлова. – М. : Высш. школа, 2001. – Т. 1. – С. 229-251.

15. Салдадзе Г.К. Пористая структура гетерогенных ионообменных мембран / Г.К. Салдадзе // Ионселективные мембраны и электромембранные процессы. – М. : НИИТЭХим. – 1986. – С. 18-24.

16. Селеменев В.Ф. Порометрический анализ ионообменников, насыщенных аминокислотами / В.Ф. Селеменев, М.В. Матвеева, Г.А. Чикин, В.А. Устиновский, В.Ю. Хохлов // Журн. физ. химии. – 1996. – Т.70, № 2. – С.370-372.

17. Селеменев В.Ф. Исследование морфологии поверхности анионитов АВ-17-2П и АВ-17-8, насыщенных пролином / В.Ф. Селеменев, А.Н. Зяблов, В.Н. Чиканов, М.В. Матвеева, А.Ю. Текучёв // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2001. – Т.1, Вып. 5. – С.905-909.

18. Дьяконова О.В. Исследование состояния поверхности мембран на основе полиамидокислоты / О.В. Дьяконова, А.Н. Зяблов, В.В. Котов, Т.В. Елисеева, В.Ф. Селеменев, В.В. Фролова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2005. – Т.5, № 4. – С.501-506.

19. Жиброва Ю.А. Метод сканирующей зондовой микроскопии в изучении структуры пор слабоосновных анионообменников / Ю.А. Жиброва, А.Н. Зяблов, Т.В. Елисеева, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2004. – Т.4, № 6. – С.819-823.

20. Ионитовые мембраны. Грануляты. Порошки : каталог / Г.З. Нефедова, З.Г. Климова, Г.С. Сапожникова ; под ред. А.Б. Пашкова. – М. : НИИТЭХим, 1977. – 31 с.

21. Гаршина Т.И. Ионообменные мембраны производства ОАО «Щекиноазот» / Т.И. Гаршина, Л.П. Маркова // Российская научная конференция «Ионный перенос в органических и неорганических мембранах», 22-25 мая 2006г. : материалы. – Краснодар, Туапсе: Изд-во Куб. гос. ун-та. – 2006. – С.44.

22. Березина Н.П. Физико-химические свойства ионообменных материалов / Н.П. Березина, Н.А. Кононенко, Г.А. Дворкина, Н.В. Шельдешов. – Краснодар : Изд-во Кубан. гос. ун-та, 1999. – 82с.

23. Рыков С.А. Сканирующая зондовая микроскопия полупроводниковых материалов и наноструктур / С.А. Рыков; под ред. В.И. Ильина, А.Я. Шика. – С-Пб. : Наука, 2001. – 53с.

24. Сканирующая зондовая микроскопия биополимеров / под ред. И.В. Яминского. – М. : Научный мир, 1997. – 88 с.

25. Лопаткова Г.Ю. Метод оценки проводящей поверхности гетерогенных мембран / Г.Ю. Лопаткова, Е.И. Володина, Н.Д. Письменская, В.В. Никоненко // Всероссийская конф., «Мембранная электрохимия. Ионный перенос в органических и неорганических мембранах» : 24-28 мая 2004г. : тезисы. – Краснодар : Изд-во Куб. гос. ун-та. – 2004. – С. 29.

26. Лопаткова Г.Ю. Влияние свойств поверхности ионообменных мембран на их электрохимическое поведение в сверхпредельных токовых режимах : дис. ... канд. хим. наук : 02. 00. 05 : защищена 20.12.06 / Г.Ю. Лопаткова. – Краснодар, 2006. – 180с.

27. Березина Н.П. Электротранспортные и гидрофильные свойства перфторированных мембран НАФИОН-117 и МФ-4СК / Н.П. Березина, С.В. Тимофеев, С. Дюран-Видаль, Л. Ролле // Наука Кубани. – 2000. – Т.5 (ч.2). – С.34-35.

28. Березина Н.П. Диагностика ионообменных мембран после реального электродиализа

---

/ Н.П. Березина, О.П. Ивина, Д.В. Рубина; Кубан.гос.ун-т. – Краснодар, 1990. – 11с. –  
Деп.в ОНИИТЭХим г.Черкасы 20.02.90, №166–хп 90.

29. Гнусин Н.П. Электрохимия гранулированных ионитов / Н.П. Гнусин, В.Д. Гребенюк.  
– Киев : Наукова думка, 1972. – 178 с.



## Сорбционное концентрирование фенобарбитала на анионообменнике MN-200

Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Рассмотрены закономерности сорбции фенобарбитала на сверхсшитом сорбенте MN-200 в СI- и ОН- формах. Исследована сорбция фенобарбитала на анионообменнике в зависимости от рН среды и концентрации сорбата в растворе. Проведена десорбция фенобарбитала смесью хлороформ – изопропанол (6:1)

### Введение

Производные барбитуровой кислоты имеют достаточно широкий спектр терапевтического действия, препараты этой группы являются депрессантами центральной нервной системы и используются как седативно-снотворные средства. [1]. В литературе описаны случаи острых отравлений барбитуратами, в частности фенобарбиталом [2]. Поэтому разработка эффективной, экспрессной и экономичной схемы исследования биологического материала на производные барбитуровой кислоты является актуальной задачей химико-аналитических исследований.

Процесс пробоподготовки, как правило, является наиболее трудоемкой и сложной стадией анализа реальных образцов. Основным методом выделения, очистки и концентрирования определяемых веществ является жидкостная экстракция. Перспективным направлением в настоящее время является применение метода сорбционного концентрирования (твердофазная экстракция). По сравнению с жидкостной экстракцией при ТФЭ реализуются более широкие возможности варьирования селективности за счет изменения природы и силы взаимодействия образца, как с сорбентом, так и с элюентом. При использовании твердофазной экстракции возрастает степень извлечения определяемых компонентов, воспроизводимость результатов определения [3,4].

В работе [5] показано, что сильноосновный анионообменник АВ-17-2П может применяться для очистки от примесей и выделения барбитуровой кислоты. Для концентрирования фармацевтических препаратов из биологических жидкостей все большее применение находят сорбенты на основе сверхсшитого полистирола [6]. В настоящей работе рассматривается сорбция производного барбитуровой кислоты – фенобарбитала на сорбенте типа Стиросорб – MN-200, обладающего анионообменными свойствами.

### Эксперимент

В качестве объекта исследования в работе использовался фенобарбитал (5-этил- 5-фенилбарбитуровая кислота) фармакопейной чистоты. Растворы фенобарбитала готовили растворением в этаноле порошков препарата.

Сорбентом выступал сверхсшитый полимер типа “Стиросорб” – MN-200 в СГ и ОН формах ( $S_{уд.}=1000 \text{ м}^2/\text{г}$ ), содержащий в качестве функциональных аминокгруппы. Для удаления органических и неорганических примесей ионообменник подвергался кондиционированию. Для подготовки сорбента Стиросорб к работе навески его заливали ацетоном, оставляли на 6 часов. Далее сорбент отмывали дистиллированной водой и переводили в соответствующую форму. Контроль за содержанием ацетона в растворе осуществляли спектрофотометрическим методом при длине волны 211 нм [7].

Сорбцию фенобарбитала проводили из водных растворов при температуре 20°C. Соотношение раствор / сорбент было постоянным и составляло 100 / 1. Для поддержания определенного значения pH среды использовали ацетатный ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) и боратный ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{NaOH}$ ) буферы. Количество сорбированного вещества определяли по разности концентраций в исходном и равновесном растворах спектрофотометрически при  $\lambda=240 \text{ нм}$ , pH 9,20. Ионообменную составляющую контролировали титрованием равновесного раствора 0,01М  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  и 0,01М  $\text{HCl}$ . Для измерений использовали микробюретку.

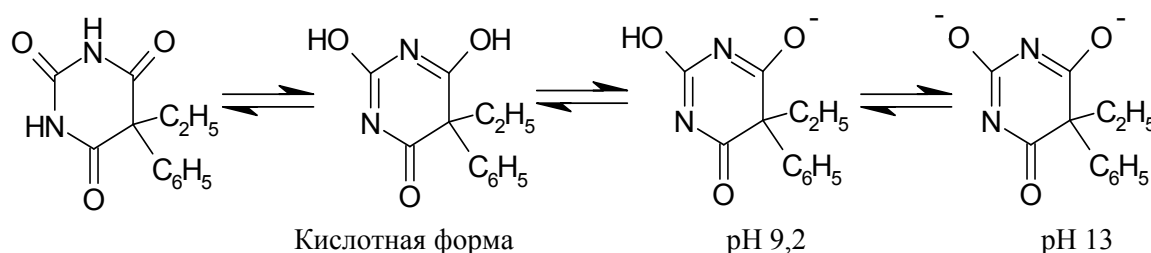
Статистическую обработку результатов исследования проводили на IBM PC по стандартным программам. Вычисляли среднее значение показателя с доверительным интервалом  $x+\Delta x$ . Оценку достоверности проводили по критерию Стьюдента при  $P=0,95$ . Стандартное отклонение полученных результатов сорбционных опытов не превышало 0,01.

Десорбцию фенобарбитала проводили в динамических условиях. В качестве органической фазы при экстракции использовали смесь хлороформ – изопропанол (6:1). Растворители имели квалификацию ч.д.а. Скорость пропускания растворителей составляла 1,5 мл/мин.

Определение фенобарбитала с помощью метода ВЭЖХ выполняли на жидкостном хроматографе “Милихром” со спектрофотометрическим детектированием (240 нм) на хроматографической стальной колонке 62x2 мм, заполненной обращенно-фазным сорбентом “Сепарон”  $\text{C}_{18}$  с размером зерен 5 мкм, в качестве элюента использовали смесь 0,05 М водного раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  и метанола (60:40), скорость потока элюирования – 100 мкл/мин [8].

## Обсуждение результатов

Фенобарбитал, обладая слабокислотными свойствами ( $pK_a$  7,3), в зависимости от pH среды может образовывать несколько таутомерных форм. Так, в кислой среде, фенобарбитал находится в водном растворе в виде кетонной формы, при pH 9,2-10,5 – в виде моноимидольной, а при pH 13-14 – в виде диимидольной формы [9].



Проведенные опыты по определению количества сорбированного фенобарбитала в зависимости от кислотности среды показали, что наибольшее количество вещества сорбируется на анионообменнике MN-200 при pH 2,0-6,0 (рис.1). Поскольку при данных значениях pH фенобарбитал находится преимущественно в неионизированной форме (рис. 2), то сорбция обусловлена в основном гидрофобными и  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействиями.



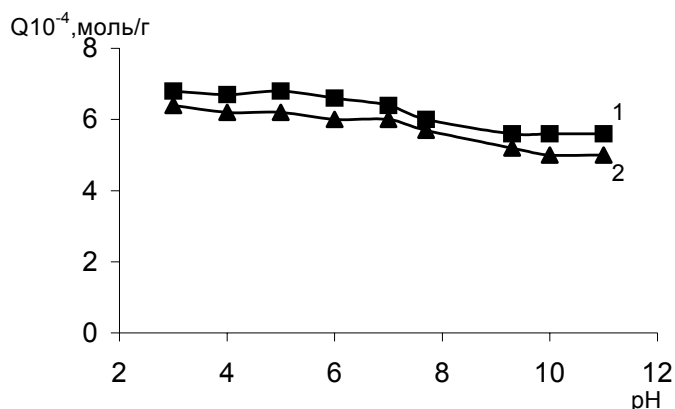


Рис.1. Зависимость количества сорбированного фенобарбитала на MN-200 в СГ (1) и ОН (2) – формах от pH раствора, Q – количество сорбированного фенобарбитала, моль/г

Одинаковый ход кривых указывает на то, что сорбция в большей степени зависит от природы сорбата, чем от форм самого анионообменника. Время установления сорбционного равновесия для MN-200 в СГ и ОН формах в рассматриваемой области pH составляет 30 мин, что позволяет использовать в дальнейшем достаточно высокие скорости пропускания образцов в динамическом режиме концентрирования.

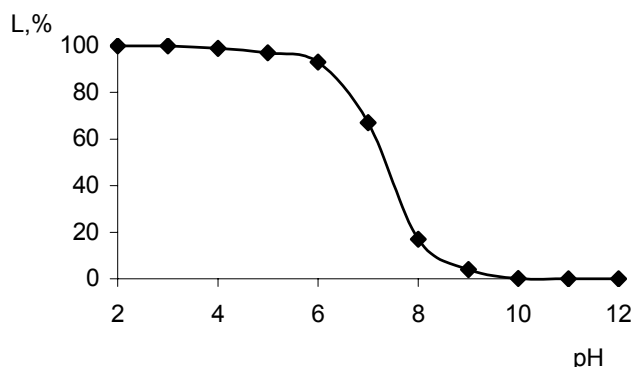


Рис.2. Зависимость доли неионизированной формы фенобарбитала (L) от pH среды водной фазы

Представленные на рис.3 изотермы сорбции фенобарбитала на анионообменнике АВ-17-2П в СГ и ОН формах имеют S-образный вид, что свидетельствует о возможном протекании как ионообменных, так и неионообменных процессов. Для проверки данного предположения в работе осуществлялся контроль количества вытесняемых противоионов СГ и ОН<sup>-</sup>, эквивалентных сорбирующимся по ионообменному механизму анионам фенобарбитала. При низких концентрациях сорбата  $1-2 \times 10^{-3}$  моль/л ионообменная составляющая сравнима с общей кривой сорбции, при более высоких концентрациях доля необменно сорбирующегося вещества значительно возрастает. Необменное поглощение связано с  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействием ненасыщенных систем, т.е. ароматических колец сорбента с ароматическими структурными фрагментами, связями С=C, С=О или С=N фенобарбитала. Кроме того, MN-200 содержит некоторое количество карбонильных групп, что способствует возникновению водородных связей между сорбентом и сорбатом.

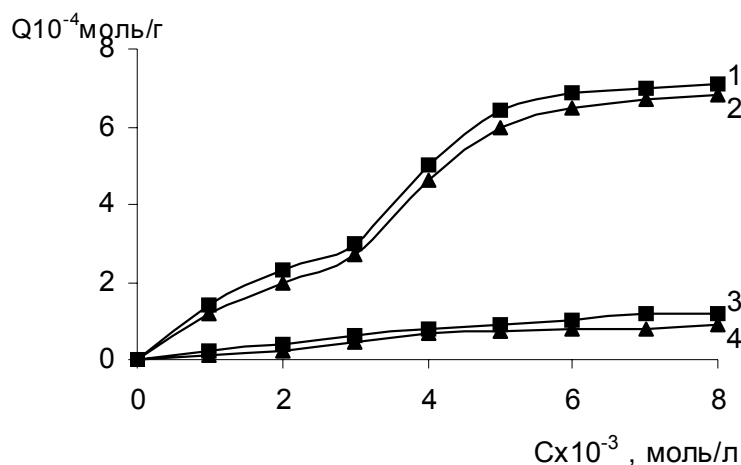


Рис.3. Изотермы сорбции фенобарбитала и их ионообменные составляющие на MN-200 в СГ (1,3) и ОН<sup>-</sup> (2,4) – формах; с – концентрация равновесного раствора, моль/л

В работах [5,10] S-образный ход кривых при сорбции производных пиримидиновых оснований на анионообменнике АВ-17-2П объяснялся образованием ассоциатов в фазе сорбента. Фенобарбитал, относящийся также к производным пиримидина, может ассоциироваться в линейные или в циклические структуры. При этом возникают структуры типа лент, полос и складчатых лент, а также супрамолекулярный цикл “розетка” [11,12]. Очевидно, что при возрастании фенобарбитала в растворе сорбция ассоциатов становится энергетически более выгодной, чем отдельных молекул сорбата. Поскольку изотермы сорбции для СГ<sup>-</sup> и ОН<sup>-</sup> форм анионообменника имеют одинаковый вид и близкие значения, то в эксперименте с фенобарбиталом может применяться любая форма.

Для экстракции лекарственных веществ из биологического материала широко применяются гидрофильные (водные растворы кислот и щелочей) и амфифильные (спирт, ацетон, ацетонитрил) растворители, но наиболее эффективным является использование липофильных растворителей и их смесей с гидрофильными и амфифильными экстрагентами. Исследования показывают, что для барбитуратов наиболее перспективным липофильным экстрагентом является хлороформ [13,14].

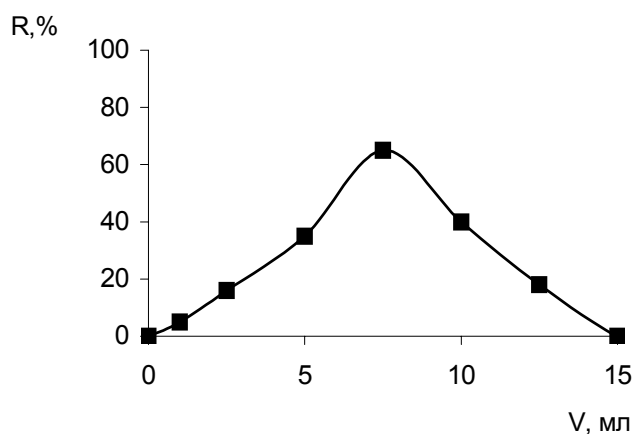


Рис. 4. Кривая десорбции фенобарбитала с MN-200 (СГ)  
R – степень десорбции, %; V – объем элюента, мл

Элюирование фенобарбитала с анионообменника осуществляли смесью хлороформ-изопропанол (6:1) (рис.4). Для MN-200 десорбция протекает на 65%, при этом затрачивается 7,5 мл смеси хлороформ – изопропанол. Данный результат можно считать удовлетворительным, хотя полной десорбции не происходит, вероятно, из-за частичного вклада аминогрупп в общую систему взаимодействия сорбент-сорбат.

Таким образом, в работе продемонстрирована возможность сорбционного концентрирования фенобарбитала из водных растворов на сверхсшитом сорбенте MN-200 и целесообразность последующего изучения в условиях эксперимента с биологическими жидкостями.

### Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные вещества / М.Д. Машковский. – М. : Новая волна, 2000. – Т.1-2.
2. Лужников Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – М. : Медицина, 1999. – 416 с.
3. P.D. McDonald, E.S.P. Bouvier Solid Phase Extraction Applications guide and Bibliography. A Resource for Sample Preparation Methods Development / Waters, Milford, MA. - 1995. – 324 p.
4. Филиппов О.А. Сорбционное концентрирование органических соединений на гидрофобных сорбентах в динамических условиях / О.А. Филиппов [и др.] // Журнал физической химии. – 2003. – Т.77, №6. – С.1088-1094.
5. Орос Г.Ю. Механизм сорбции барбитуровой кислоты анионитом АВ-17-2П / Г.Ю.Орос [и др.] // Журнал физической химии. – 2001. – Т.75, №11. – С.2043-2047.
6. Филиппов О.А. Динамическое концентрирование органических веществ на неполярных сорбентах / О.А.Филиппов [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2003. – Т.58, №5. – С.454-479.
7. Селеменев В.Ф. Практикум по ионному обмену / В.Ф. Селеменев, Г.В. Славинская, В.Ю. Хохлов, В.А. Иванов, В.И. Горшков, В.Д. Тимофеевская – Воронеж : Изд-во Воронеж. госуниверситета, 2004. - 160 с.
8. Еремин С.К. Анализ наркотических средств: руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих веществ / С.К. Еремин, Б.Н. Изотов, Н.В. Веселовская. – М. : Мысль, 1993. – 276 с.
9. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия / М.Д.Швайкова. – М. : Медицина, 1975. – 376 с.
10. Орос Г.Ю. Квазисинергические явления в системе нуклеиновое основание – макропористый анионит / Г.Ю.Орос [и др.] // Журнал физической химии. – 1998. – Т.72, №11. – С.2041-2045.
11. Лен Ж.-М. Супрамолекулярная химия / Ж.-М.Лен. – Новосибирск: Наука, 1998. – 334 с.
12. Леонидов Н.Б. Строение и бионезквивалентность полиморфных форм метилурацила / Н.Б.Леонидов [и др.] // Журнал физической химии. – 1993. – Т.67, №12. – С.2464-2468.
13. Мамина Е.А. Разработка анализа производных барбитуровой кислоты в биологическом объекте / Е.А. Мамина, В.В. Болотов // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – Т.38, №10. – С.53-56.
14. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание: методические указания. – М. : МЗ СССР, 1989. – 112 с.



## Применение ионообменной хроматографии для разделения изоформ малатдегидрогеназы из *Sphaerotilus natans* штамм Д-507, культивируемых в условиях миксотрофного роста

Арабцева М. А., Епринцев А. Т., Фалалеева М. И., Парфенова И. В.

Воронежский государственный университет, Воронеж

### Аннотация

Показано наличие двух изоформ малатдегидрогеназы, выделенной из бесцветных серобактерий *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 в условиях миксотрофного роста. С помощью многостадийной очистки, включающей ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе, изоформы малатдегидрогеназы были разделены и получены в гомогенном состоянии. Установлено, что малатдегидрогеназа из бактерий *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 в условиях миксотрофного культивирования представлена двумя изоформами. Результаты гель-хроматографии и Ds-Na-электрофореза показывают, что данный фермент является изологическим димером и тетрамером

### Введение

*Sphaerotilus natans* штамм Д-507 представляет собой новые матообразующие бесцветные серобактерии, выделенные из термальных источников Краснодарского края. В отличие от других штаммов данного вида, штамм Д-507 способен к хемоорганогетеротрофному и хемолитогетеротрофному росту в присутствии восстановленных соединений серы.

Некоторые виды в зависимости от условий культивирования могут изменять тип метаболизма от органотрофного до литотрофного. Регуляция метаболизма осуществляется на уровне отдельных ферментов, в частности перестройкой субъединичной структуры молекулы. Ранее было показано у серобактерий *Beggiatoa leptomitiformis* наличие двух изоформ малатдегидрогеназы (МДГ, КФ 1.1.1.37). При адаптации бактерий к литотрофным условиям происходит изменение четвертичной структуры молекулы малатдегидрогеназы. В результате происходит перераспределение роли ЦТК и глиоксилатного цикла [1]. Бактерии *S. natans* штамм Д-507 также способны расти миксотрофно. Установлено, что малатдегидрогеназа участвует в функционировании обоих метаболических путей. Поэтому целью нашей работы было разделение изоформ малатдегидрогеназы из бактерий *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе, получение их в гомогенном состоянии и изучение физико-химических свойств фермента.

## Эксперимент

Объектом исследования служили матообразующие бесцветные серобактерии рода *Sphaerotilus natans*. штамм Д-507 культивируемые в условиях миксотрофного роста. Бактерии выделены из термальных источников Краснодарского края.

Для культивирования микроорганизмов использовали питательную среду следующего состава (мг/л):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 1.7;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 34.4;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 22.5;  $\text{CaCl}_2$  - 27.5;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 0.25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 8.5;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 21.5; пептон - 200; лактат - 200; дистиллированная вода; рН среды 7.5. Перед посевом в среды вносили раствор микроэлементов и витаминов –  $1.0 \times 10^{-3}$  (г/л) [2]. Для создания миксотрофных условий в среды вносили тиосульфат 1 г/л.

Суспензию клеток получали путем центрифугирования культуры при 8000 г и 4<sup>0</sup>С в течение 20 мин. Клетки отмывали 50 мМ *трис*-HCl-буфером (рН 7.5). Клеточный экстракт получали разрушением бактериальных клеток с помощью ультразвукового дезинтегратора УЗДН-2Т при мощности 500 Вт и частоте 22 кГц в течение 2 мин на ледяной бане. Супернатант получали после центрифугирования гомогената при 8000 г и 4<sup>0</sup>С в течение 5 мин.

Активность МДГ определяли спектрофотометрически при 340 нм. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин при 25<sup>0</sup>С. Определение общего количества белка проводили по методу Лоури.

Очистку фермента осуществляли по модифицированной схеме, включающей - получение экстракта фермента, гель-фильтрацию на колонке с сефадексом G-25, ионообменную хроматографию на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой.

Молекулярную массу нативного белка определяли с помощью гель-хроматографии через сефадекс G-200 [3].

Электрофорез проводили по модифицированной методике Дэвиса в 9% полиакриламидном геле [4]. Для специфического проявления МДГ применяли тетразолиновый метод [5]. Для детекции белка использовали методику с нитратом серебра /6/.

## Результаты и их обсуждение

Для получения гомогенных препаратов МДГ и разделения изоформ фермента была проведена многостадийная очистка. В результате получены ферментные препараты малатдегидрогеназы с удельной активностью 2,78 Е/мг белка и степенью очистки 45 раза и 3,37 Е/мг белка со степенью очистки в 54 раза (табл.1).

После ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе малатдегидрогеназа из микроорганизмов была получена в электрофоретически гомогенном состоянии. Элюцию осуществляли ступенчатым градиентом KCl. Максимум активности МДГ обнаруживался во фракциях 100-105мМ и 110-115мМ KCl. Электрофоретический анализ очищенного препарата показал, что в геле при универсальном окрашивании на белки проявилось по одной полосе с Rf 0,45 и 0,5 (рис.1). Это свидетельствует о гомогенности МДГ из данных бактерий.

Методом гель-хроматографии на сефадексе G-200 была определена молекулярная масса МДГ, элюция фермента осуществлялась в виде двух пиков, которым соответствовала молекулярная масса 71 и 141 кДа. Электрофоретическое исследование в присутствии додецилсульфата натрия позволило определить величину молекулярной массы одной субъединицы, которая составила 35 кДа (рис. 2,3).

Таблица 1. Схема очистки МДГ из *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 в условиях миксотрофного роста

Стадии очистки	Общий объем, мл	Общая активность, Е	Белок, мг/мл	Удельная активность, Е/мг	Степень очистки	Выход, %	
Гомогенат	8,9	19,43±0,58	315,0±9,45	0,062±0,001	1	100	
Супернатант	5,7	12,44±0,37	201,6±6,04	0,063±0,001	1,02	64	
Гель-фильтрация через сефадекс G25	2,5	10,89±4,06	44,1±1,32	0,247±0,007	1,06	56	
Ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	1	1,0	1,82±0,05	0,653±0,02	2,78±0,08	45	9,4
	2	1,0	1,44±0,04	0,427±0,01	3,37±0,1	54	7,4

Сравнение результатов гель-хроматографии и электрофореза с додецилсульфатом натрия показывает, что МДГ из *Sphaerotilus natans* штамм Д-507 в условиях миксотрофного роста представлена двумя изоформами – изоэлектрическим димером и тетрамером.

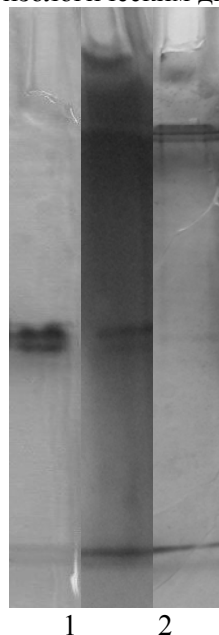


Рис. 1. Электрофореграммы МДГ, очищенной из *S. natans* при миксотрофном росте: 1-специфическое проявление; 2-окрашивание нитратом серебра

Т.о., с помощью метода ионообменной хроматографии добились разделения изоформ малатдн-гидрогеназы из серобактерий *Sphaerotilus natans* штамм Д-507. Показано, что МДГ при миксотрофном росте бактерий представлена изоэлектрическим димером и тетрамером, выполняющими различные функции.

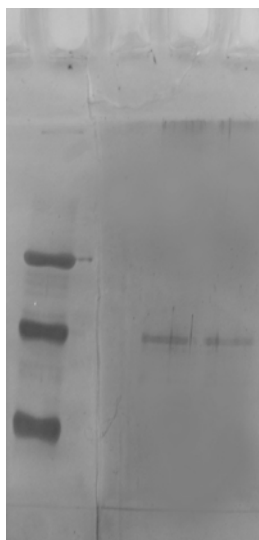


Рис. 2. Ds-Na-электрофорез МДГ из *S. natans*: 1-фосфорилаза b, 2-БСА, 3-овальбумин, 4-карбоангидроза, 5-ингибитор трипсина, 6-лизоцим, 7-исследуемая МДГ

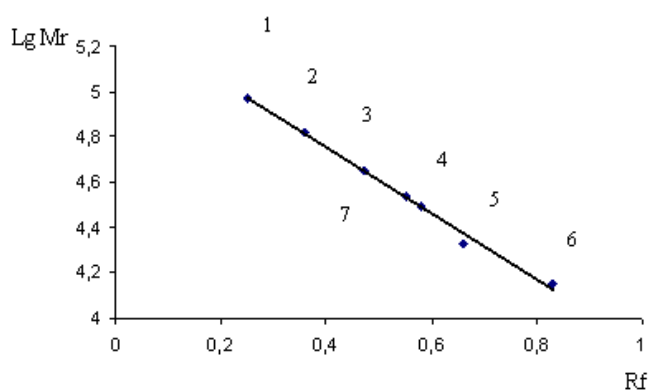


Рис. 3. Определение молекулярной массы субъединицы МДГ методом Ds-Na-электрофореза: 1-фосфорилаза b, 2-БСА, 3-овальбумин, 4-карбоангидроза, 5-ингибитор трипсина, 6-лизоцим, 7-исследуемая МДГ

### Список литературы

1. Епринцев А.Т., Фалалеева М.И., Грабович М.Ю., Парфенова Н.В., Каширская Н.Н., Дубинина Г.А. Роль изиформ малатдегидрогеназы в регуляции анаболических процессов у бесцветных серобактерий *Beggiatoa leptomitiformis* Д-402 // Микробиология. 2004. Т.73. №.4. С.437-442.
2. Дубинина Г.А., Грабович М.Ю., Чурикова В.В. Образование перекиси водорода *Beggiatoa leptomitiformis* // Микробиология, 1990. Т.59. С. 425-431.
3. Остерман Л.А. Исследование макромолекул. М.: Мир, 1983. 297с
4. Davis B.J. Disk electrophoresis II-method and application to human serum proteins // Ann. NY Acad. Sci., 1964. V. 121. P. 404-427.
5. Гааль, Э., Медъеши Г., Верецкий Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. М.: Мир, 1982. 446 с.
6. Shevchenko A., Wilm M., Vorm O. Mass spectrometric sequencing of protein from silver-stained polyarylamide gels // Anal. Chem., 1996. V.68. P. 850-858.



## Нестандартные хроматографические методы ускоренного мониторинга нефтяного сырья

Занозина И.И.

*ОАО «Средневолжский научно-исследовательский институт по нефтепереработке»,  
Новокуйбышевск*

### Аннотация

Разработана газохроматографическая методика выполнения измерения массовой доли углеводородов  $C_1-C_6$  в нефти (как альтернатива ГОСТ 13379-82) и газохроматографическая методика выполнения измерения по определению метилтретбутилового эфира в широком диапазоне концентраций в бензиновых фракциях и товарных бензинах, которая позволяет оценить качество последних в соответствии с техническими и экологическими требованиями

### Введение

В условиях нестабильности качества нефтесырья НПЗ приоритетным является ускоренный мониторинг сырьевых нефтесмесей с узлов учета. Основные показатели качества нефти определяются стандартизованными, зачастую устаревшими, довольно длительными методами. Необходимость разработки методик выполнения измерений (МВИ), альтернативных устаревшим ГОСТам, диктуется жизнью.

В ОАО "СвНИИ НП" на протяжении многих лет ведутся работы по созданию методологии ускоренной оценки качества нефти, основанной на интеграции электрохимических, спектральных и хроматографических методов. Последние включают, в частности, представленные ниже разработанные МВИ.

### Эксперимент

*Газохроматографическая методика выполнения измерения массовой доли углеводородов  $C_1-C_6$  в нефти* альтернатива ГОСТ 13379-82 "Нефть. Определение углеводородов  $C_1-C_6$  методом газовой хроматографии". Определение осуществляется на хроматографе с ПИД и 50-метровой капиллярной колонкой (КК) со скваланом [1], значительно упрощена пробоподготовка: взятая для анализа определенная масса нефти с добавленным (по массе) внутренним стандартом (образцом сравнения) разбавляется н-гептаном в соотношении примерно 1:5 (по объему) и захлаживается при температуре минус 2-3<sup>0</sup>С для деасфальтенизации.

На колонке со скваланом при 30-40<sup>0</sup>С МТБЭ (образец сравнения) элюируется между изомерами гексана, что обуславливает соблюдение требуемой точности определения содержания всех углеводородов  $C_1-C_6$  (типичная хроматограмма – рис. 1).



Количественная интерпретация осуществляется методом внутреннего стандарта с использованием теоретических поправочных коэффициентов "К<sub>т</sub>", поскольку из-за низких температур кипения С<sub>1</sub>-С<sub>4</sub> экспериментальное определение "К<sub>т</sub>" затруднено. Использование "К<sub>т</sub>" значительно упрощает выполнение серийных анализов [2].

Система фреймовых структур (рис. 2 а и б) показывает, что в разработанной МВИ устранены основные недостатки ГОСТ 13379-82: значительно упрощена проподготовка, определение С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub> осуществляется на одной колонке, программированное повышение температуры обеспечивает отказ от этапа обратной продувки, время анализа по сравнению с ГОСТ 13379 сокращается с 6 до 1,5 часов [3].

МВИ массовой доли углеводородов С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub> в нефти газохроматографическим методом аттестована в ФГУП «ВНИИ метрологии им. Д.И. Менделеева» (Свидетельство об аттестации № 242/08-04 от 06.02.04 г.), включена в схему мониторинга качества нефтесырья НПЗ Самарского региона.

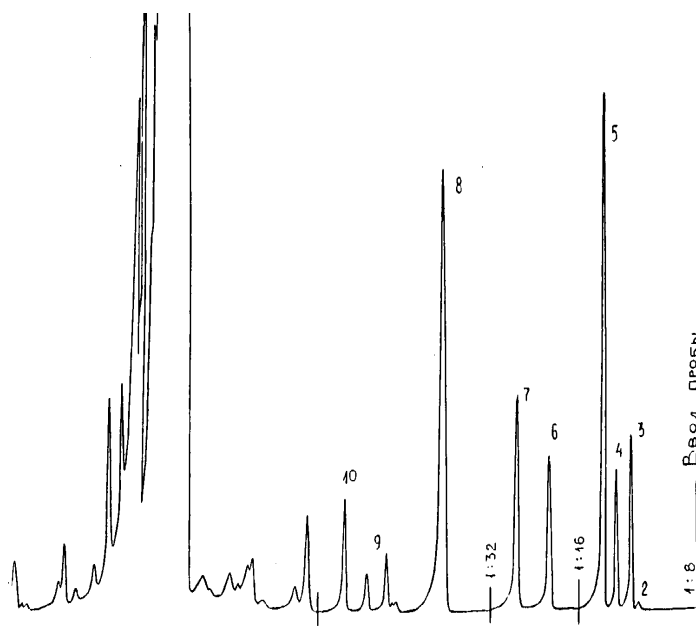


Рис.1. Типовая хроматограмма определения углеводородов С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub> в нефти: 1- метан, 2 - этан, 3 - пропан, 4 - изобутан, 5 - н-бутан, 6 - изопентан, 7 - н-пентан, 8 - образец сравнения, 9 – сумма С<sub>6</sub>, 10 – н-гексан

Экспрессное определение содержания углеводородов С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub> имеет чрезвычайно большое значение, поскольку этот показатель позволяет констатировать факт подкачки газового конденсата в сырьевую смесь.

Очевидна перспективность автоматизированного контроля на потоке нефтесырья по содержанию С<sub>1</sub>-С<sub>6</sub> с использованием промышленных хроматографов. Разработан способ, заключающийся в одновременном дозировании в испаритель 10 (рис. 3) для хроматографирования на КК 14 фиксированных объемов пробы нефти (линия подачи из пробоотборника 22 и сброса 25), внутреннего стандарта (линии 23, 26) и растворителя н-гептана (линии 24, 27) путем их последовательного вытеснения потоком газа-носителя (г/н) фиксированного объема 9, имеющим давление  $P_1 > P_i$  большее, чем на входе в 14; и соответствующее устройство (рис. 3), содержащее блок подготовки газов (БПГ) 1, испаритель 10 с вкладышем для удаления асфальтенов, клапан переключения потока г/н 1 в период ввода пробы в 14 и дозирующий кран 2, снабженный фиксированными по объему дозами пробы нефти 6, образца сравнения 7, н-гептана 8, г/н 9; обратным клапаном 19 на линии г/н 16 и пневмосопротивлением 18 на линии сброса г/н 19.

ГОСТ 13379-82. Определение углеводородов C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> методом газовой хроматографии					
Средство измерения	Пробоподготовка - деасфальтизация	Проба, поступающая в дозатор	Хроматографическая колонка	Количественная интерпретация	Элюирование тяжелых углеводородов
Хроматограф, детектор – катарометр, чувствительность $10^{-3}-10^{-4} \frac{МВ \cdot мл}{мг}$	Конец колонки со стороны детектора заполняется фильтровальной бумагой, которая меняется через 2-3 ввода пробы. Из-за сравнительно большого объема вводимой пробы нефти способ мало эффективен	Нефть объемом 6-10 мм <sup>3</sup> , проба взвешивается непосредственно в микрошприце, что технически трудно выполнимо	Две насадочные колонки длиной 3 метра, сорбенты: для определения C <sub>1</sub> -C <sub>5</sub> – диатомитовый носитель с гептадеканом, а для определения C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> – сфероформ-2 с дибутилфталатом, эффективность около 2500-3000 теоретических тарелок	Абсолютная градуировка по н-гексану, с использованием табличных значений массовых коэффициентов чувствительности. Необходимо строгое соблюдение всех условий анализа (как при проведении градуировки) ежедневная проверка градуировочного коэффициента	Обратная продувка, требуется изменение потока газа-носителя, затем длительный выход хроматографа на режим

Параметры ГХ-определения	C <sub>1</sub> -C <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Длина колонки, м	3	3
Диаметр колонки, мм	3	3
Температура испарителя, °C	100	100
Температура термостата колонок:	60	50
Расход газа-носителя (гелий), см <sup>3</sup> /мин	40	30-40

Определение содержания C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>				
C <sub>i</sub>	Содержание C <sub>i</sub> $C_i = \frac{Q_i A}{m_2} \cdot 100$	Площадь пика C <sub>i</sub> Q	Масса пробы, введенной в хроматограф, г m <sub>2</sub>	Градуировочный коэффициент A

Градуировочный коэффициент по н-гексану A	$A = \frac{m_i R}{Q_{em} \cdot 100}$	Площадь пика н-гексана Q <sub>em</sub>	Относительная масса н-гексана R	Масса пробы градуировочной смеси, введенной в хроматограф, г m

Методика выполнения измерения содержания углеводородов C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> газохроматографическим методом				
Средство измерения	Проба, поступающая в дозатор	Хроматографическая колонка	Количественная интерпретация	Элюирование тяжелых углеводородов
Хроматограф, с пламенно-ионизационным детектором, чувствительность $2,5 \cdot 10^{-8} \frac{мг}{с}$	Раствор нефти с образцом сравнения – МТБЭ в гептане в соотношении ~ 1:5 вводится в дозатор микрошприцем; объем пробы 0,2 - 1,0 мм <sup>3</sup>	Капиллярная колонка, длина 50 метров, неподвижная фаза сквалан, эффективность более 40000 теоретических тарелок	Метод внутреннего стандарта (образец сравнения МТБЭ), с использованием теоретического поправочного коэффициента, проверка через 2-3 месяца	Программированное повышение температуры колонки до 80 °C, быстрое охлаждение и выход на режим

Оптимальные параметры хроматографирования	
Длина колонки, м	50
Диаметр колонки, мм	0,25
Температура испарителя, °C	130
Температура термостата колонок: начальная, °C конечная, °C	30-40 80

Определение содержания C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>				
C <sub>i</sub>	Содержание C <sub>i</sub> $C_i = \frac{K_i Q_i}{Q_{em}} R \cdot 100$	Площадь пиков C <sub>i</sub> и МТБЭ Q <sub>i</sub> , Q <sub>em</sub>	Относительная масса стандарта R	Поправочный коэффициент K <sub>i</sub>

$K_i = \frac{n_{cm} M_i}{M_{cm} n_i}$	Молекулярная масса M <sub>cm</sub> и M <sub>i</sub>	Число углеродных атомов n <sub>cm</sub> и n <sub>i</sub>

Рис.2. Фреймовые системы ГХ-определения углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> в нефти по стандартному методу ГОСТ 13379-82 (а) и разработанной методике выполнения измерений (б)

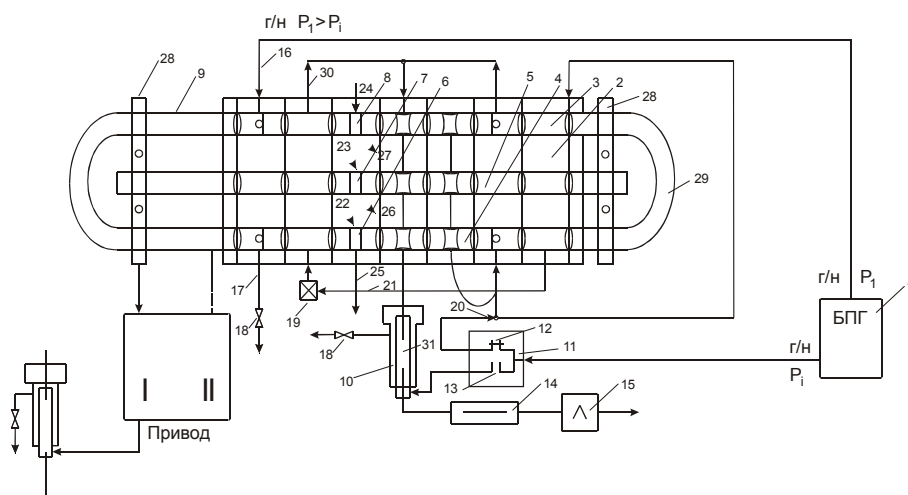


Рис.3. Устройство для газохроматографического определения углеводородов  $C_1-C_6$  в нефтях

Настоящий способ предусматривает расчет содержания  $C_1-C_6$  в нефти методом внутреннего стандарта. Сопоставительные результаты анализа искусственной смеси (ИС) приведены в таблице 1.

Таблица 1

Определяемые компоненты	Газохроматографическая МВИ		Предлагаемый способ	
	$X_{CP}$ , %	$\delta$ , %	$X_{CP}$ , %	$\delta$ , %
Искусственная смесь:				
н-пентан (1,78%)	1,68	5,6	1,80	1,1
н-гексан (2,12%)	2,04	3,8	2,09	1,8

$X_{CP}$  – средний результат измерений,  $\delta$  – результирующая относительная погрешность измерения

Использование предлагаемых способа и устройства открывает перспективу постановки "способ + устройство" на потоке и осуществления экспресс - мониторинга качества нефтесырья, а также позволяет повысить точность газохроматографического определения углеводородов  $C_1-C_6$  в нефтях, за счет исключения возможных потерь летучих углеводородов в процессе пробоподготовки.

Разработанная газохроматографическая методика выполнения измерения по определению МТБЭ в широком диапазоне концентраций в бензиновых фракциях и товарных бензинах, позволяет оценивать качество последних в соответствии с техническими и экологическими требованиями. В нефти наличие МТБЭ - нежелательная примесь (яд катализаторов вторичных процессов), поэтому схема мониторинга предусматривает процедуру отгона нефти для последующего газохроматографического анализа.

Сущность методики выполнения измерения заключается в прямом газохроматографическом определении МТБЭ в испытуемом продукте с количественной интерпретацией методом внутреннего стандарта. Процедура разработанной МВИ представлена на рис. 4 в виде фрейм-системы. Разработанная методика измерения массовой доли МТБЭ в бензиновых фракциях газохроматографическим методом аттестована в ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» (Свидетельство № 242/09-04), внедрена в ОАО «СвНИИ НП» для лабораторного контроля содержания оксигенатов в бензинах; по метрологическим характеристикам не уступает ОСТ 153-39-2.004-00 «Нефтяные дистилляты. Хроматографический метод определения МТБЭ», существенно превосходя его по быстрдействию и простоте исполнения (рис. 4 а, б).

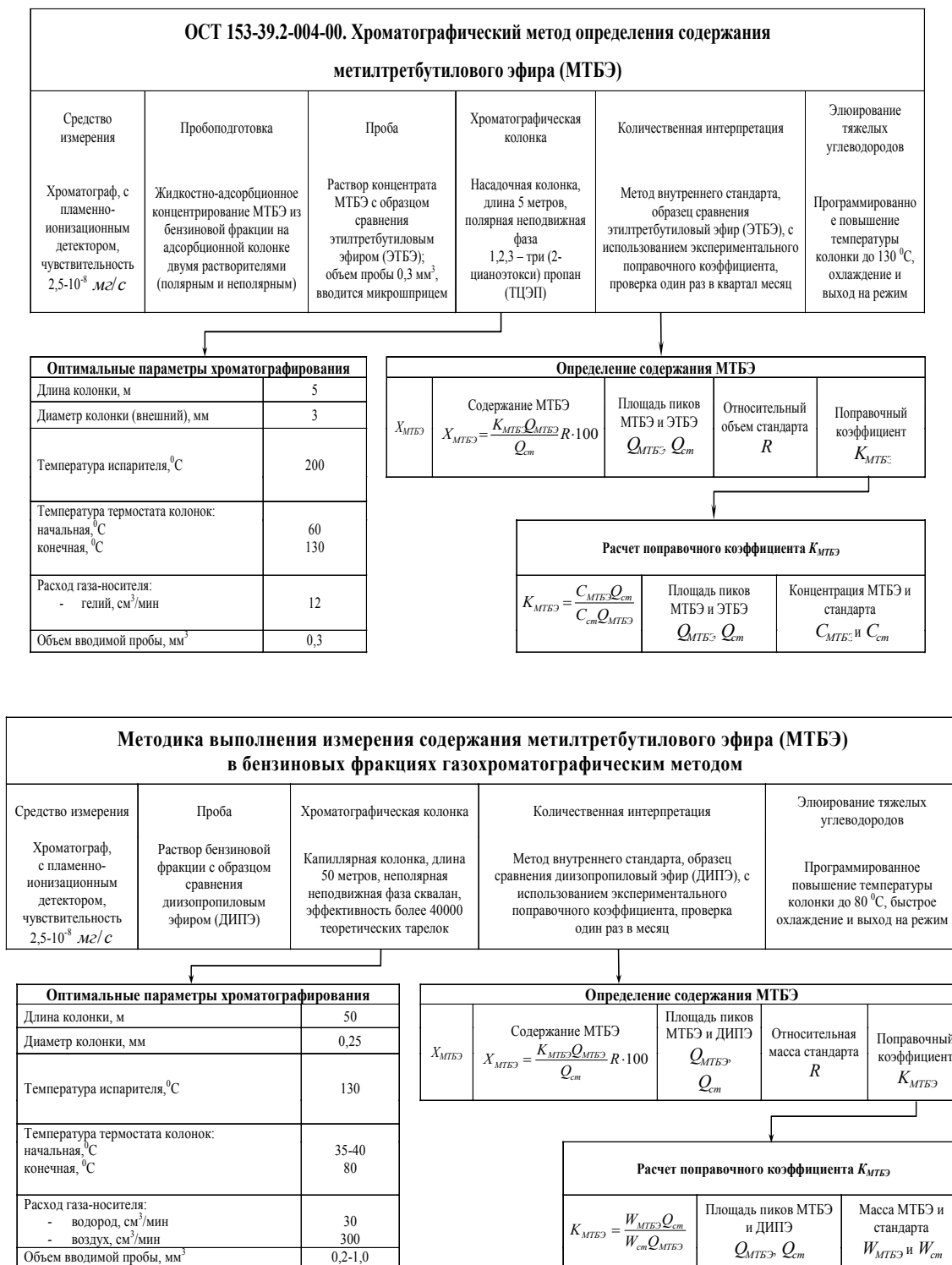


Рис.4. Фреймовые системы определения содержания МТБЭ в бензиновых фракциях по ОСТ 153-39-2.004-00 (а) и по разработанной газохроматографической МВИ (б)

Значительные преимущества настоящей МВИ выявляются при сравнении фреймовых структур последней и ОСТ, который рассчитан только на определение примесей МТБЭ [3].

Рабочая процедура разработанной МВИ исключает этап концентрирования МТБЭ из пробы бензина методом жидкостно-адсорбционного хроматографического (ЖАХ)

разделения, что дает экономию трудозатрат и времени, устраняет погрешности ЖАХ, обуславливает сокращение времени выполнения измерения с 3-4 часов до 30-40 минут.

Опыт работы ОАО «СвНИИ НП» подтверждает необходимость включения в схему мониторинга нефтесырья НПЗ определения содержания легколетучих хлорорганических соединений (ЛХОС), наряду с определением хлорорганических соединений (ХОС), поскольку и привнесенные технически ЛХОС, и нативные ХОС в процессе первичной перегонки нефти и вторичных гидрокаталитических и термических процессов, являются источником образования хлористого водорода, вызывающего хлористоводородную коррозию оборудования [4, 5].

Рекомендуемый метод ASTM D 4929 «Стандартный метод определения органических хлоридов, содержащихся в сырой нефти» (аутентичный перевод – ГОСТ Р 52247-2004) рассчитан на анализ нефти с концом кипения 204<sup>0</sup>С и не обеспечивает полной характеристики нефтяного сырья, прогнозирующей интенсивность хлоридной коррозии. Указанным методом трудно определяется негорючий четыреххлористый углерод, наиболее часто присутствующий в привнесенных ЛХОС.

Для определения наличия в нефти идентифицированных летучих ХОС разработан вариант газохроматографического метода, реализованный с использованием аппаратно-программного комплекса на базе газового хроматографа «КристалЛюкс-4000М» с аналитическим модулем ЭЗД-ПИД, высокоэффективной капиллярной колонкой с неподвижной фазой – SE-54 (Zebron 2В-624) и программным обеспечением "NetChrom".

В основе метода обнаружения ЛХОС в нефти лежит использование селективного электрозахватного детектора (ЭЗД). Высокая чувствительность ЭЗД к галогенсодержащим соединениям позволяет фиксировать ЛХОС при их содержании от 0,01 ppm и выше. При этом чувствительность ЭЗД к основным соединениям нефти и нефтепродуктов – парафиновым и нафтеновым углеводородам – в 10<sup>8</sup> раз ниже.

На основании газохроматографического анализа десяти эталонных ЛХОС: метилхлорид, хлористый пропил; хлороформ; 1,1,1-трихлорэтан; четыреххлористый углерод; дихлорэтан; трихлорэтилен; тетрахлорэтан; хлорбензол; хлорбензил составлена компьютерная библиотека времен удерживания, что позволяет идентифицировать эти ЛХОС при анализе нефти или бензина (хроматограмма представлена на рис. 5). Количественная компьютерная интерпретация хроматограмм осуществляется методом абсолютной калибровки. Градуировка хроматографа выполнялась по градуировочным образцам индивидуальных хлорорганических соединений в гептане, приготовленным методом разбавления с учетом различной чувствительности ЭЗД к различным ХОС. ГХ-исследование нефти для выявления привнесенных ЛХОС необходимо, если результат определения содержания ОСХ в нефти выше 30 ppm. [5].

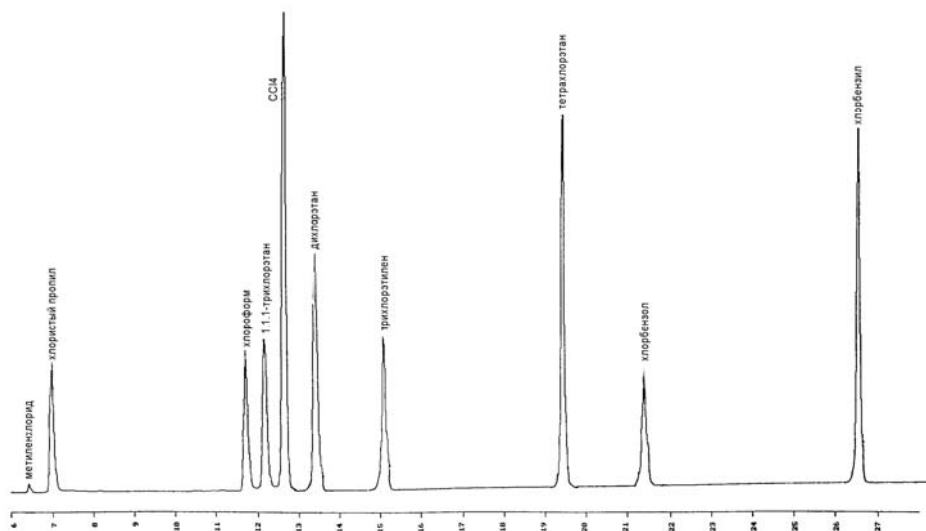


Рис.5. Хроматограмма легколетучих хлорорганических соединений

Так, например, в сырьевой нефтесмеси одного из НПЗ Самарского региона во фр. НК-204<sup>0</sup>С (выход 20% мас.) по ASTM D 4929 на анализаторе «APS-35» содержание ОСХ было 10,8 ppm, а ГХ-анализ подтвердил наличие привнесенных ЛХОС с концентрацией основного компонента CCl<sub>4</sub> более 140 ppm.

### Список литературы

1. Газохроматографический метод определения содержания углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> в нефтях / И.И. Занозина, В.В. Черентаева, И.Ю. Занозин и др. // Нефтепереработка и нефтехимия. - 2001. - № 11. - С. 80-81.
2. Занозина И.И., Занозин И.Ю., Черентаева В.В., Дискина Д.Е. Новый принцип расчета теоретических поправочных коэффициентов при газохроматографическом определении углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> в нефтях // Измерительная техника. - 2003. - № 10. - С. 64-67
3. Занозин И.Ю. Интегрированные информационно-измерительные системы ускоренной оценки качества нефти и нефтепродуктов: Автореф. дисс. канд. техн. наук. - Самара, 2004. - С. 25
4. Газохроматографический метод определения содержания метилтретбутилового эфира в бензинах / И.И. Занозина, В.В. Черентаева, И.Ю. Занозин и др. // Нефтепереработка и нефтехимия. - 2000. - № 10. - С. 33-34
5. Определение хлора в нефтях и светлых фракциях / И.И. Занозина, М.В. Бабинцева, Н.В. Полищук и др. // Химия и технология топлив и масел. - 2003. - № 3. - С. 14-15
6. Концепция комплексного определения содержания хлорорганических соединений в нефти / И.И. Занозина, М.В. Бабинцева, Т.Н. Шабалина и др. // Нефтепереработка и нефтехимия. - 2006. - № 7. - С. 7-10



## Влияние Co(II), Cu(II), Pb(II) на протолитические свойства донных отложений

Трифонова А.Н., Санкевич Н.А., Радкевич Т.А., Мечковский С.А.

*Белорусский государственный университет, Минск*

### Аннотация

Исследованы концентрационные эффекты Cu(II), Co(II), Pb(II) при формировании протонных барьеров в суспензиях донных отложений пресноводных озер. Установлены зависимости емкостных характеристик обмена  $Me^+ - H^+$  от pH водной фазы. Оценены буферные свойства донных осадков на фоне исследуемых ионов металлов

### Введение

Важнейшим фактором, определяющим межфазный перенос ионов металлов в системах, включающих полифункциональные высокомолекулярные соединения и твердые кислоты с развитой поверхностью межфазного контакта, является учет протолитических свойств сорбционно-активного вещества. Результаты исследований последних лет [1-4] иллюстрируют высокую чувствительность ионообменных процессов в природных и искусственных гетерогенных системах к pH жидкой фазы. Ионообменная адсорбция в таких системах, как правило, сопровождается значительным изменением pH равновесных растворов, непостоянством величин максимальных адсорбций и сложными формами изотерм ионообменного равновесия, не следующих классическим уравнениям бинарного обмена на однородных поверхностях [1,4,5]. В этом плане не являются исключением и донные отложения, характеризующиеся разнообразием функциональных групп и проявляющих катионообменные и анионообменные свойства.

В данной работе изучена зависимость емкостных характеристик обмена ионов  $Na^+$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  на протон от pH водной фазы на примере донных осадков оз. Болойсо - водоема Национального Парка "Браславские озера" (Республика Беларусь). Определены уровни нелинейности связи между степенью превращения ионообменника в металл-форму и pH внешнего раствора.

### Эксперимент

Пробы донных отложений отбирались из верхнего слоя глубиной 0-2 см. При средней скорости осадконакопления, характерной для осадков эвтрофных озер [6,7], отбираемый слой соответствует периоду максимальной антропогенной нагрузки (20 - 40 лет).

Предварительные эксперименты показали, что ионообменные свойства донных отложений в пределах одного озера варьируются незначительно - значения обменной

емкости образцов различаются не более чем на 10%. Поэтому было решено исследовать смешанный образец, характеристики которого являются усредненными для всего водоема.

Исследование емкостных и интенсивных характеристик обменной сорбции проводилось методом потенциометрического титрования. По кривым титрования определяли количество функциональных групп на единицу массы сорбента, константы их протолитической кислотности и полную обменную емкость.

Измерения проводили с помощью иономера И-130, используя стеклянный индикаторный электрод и хлорсеребряный электрод сравнения. Перед титрованием суспензии термостатировались при температуре  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . Экспериментальные точки на кривых титрования получали по результатам трехкратных измерений с последующей статистической обработкой [8]. Был применен метод отдельных навесок [9,10]. Предварительно сорбент промывался дистиллированной водой и высушивался до воздушно-сухого состояния. Навески сорбента (0,5 г в расчете на абсолютно сухой образец) заливались заданным объемом (20-50 см<sup>3</sup>) 0,1М водного раствора NaCl и титровались стандартным раствором (0,1М) HCl и NaOH. В этих условиях обеспечивалось постоянство ионной силы жидкой фазы, если межфазное распределение катионов соответствует механизму эквивалентного обмена. Для изучения природы противоина в качестве фоновых электролитов использовались растворы CoCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> и Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> концентрации 0,05; 0,01 и 0,005 моль/л. В процессе титрования фиксировалась величина pH суспензии при условии постоянства показания прибора в течение 10 минут. Как показали результаты экспериментов, данный отрезок времени достаточен для установления равновесия, если сорбент предварительно измельчен до размера частиц < 100 мкм. Контрольные опыты с продолжительностью контакта 24 и 72 часа показали, что принятая нами методика дает приемлемые результаты.

Полученные кривые титрования переводились в рК-спектры брэнстедовской кислотности согласно [11,12], из которых находились величины dQ, характеризующие количественные изменения емкости обмена протона на ион металла при варьировании pH суспензии в пределах 2 – 12.

Функциональная связь между степенью превращения донных отложений в металл-форму и протонной активностью суспензии (функции Грегора) устанавливалась по данным потенциометрического титрования [1,13].

## Результаты и обсуждение

Величины приращения протолитической емкости суспензий, установленные по разности потребления щелочи в диапазонах рК 2,5 – 11,5 при замене электролитного фона, содержащего исследуемый ион металла (0,05; 0,01 и 0,005 моль/л), на раствор хлорида натрия, приведены на рис.1.

В связи со сложностью состава донных отложений и неопределенностью функций ионов металлов в гелевой фазе не представляется возможным выделение на качественном уровне конкретных ионогенных групп с фиксированной способностью участия в протонодонорных или протоноакцепторных процессах. Очевидна целесообразность оценки интегральной способности системы гель – жидкая фаза высвобождать или связывать протоны при фиксированных значениях рК<sub>а</sub> [1] как характеристики силы функциональных групп, способных к диссоциации. В условиях проведенных нами экспериментов и вычислений в соответствии с приемами рК-спектроскопии [11,12] положительным значениям dQ соответствует возрастание степени замещения протона на ион металла при изменении природы последнего [14]. В нашем случае это отражает степень преобладания способности двухзарядного иона металла замещать протон в сравнении с ионом натрия. Отрицательные значения dQ характеризуют интенсивность эффектов блокирования функциональных групп. На разных уровнях рК протонодонорных групп их вклад в суммарное значение dQ, безусловно, может варьироваться в широких пределах. При этом возможно проявление двух наиболее значимых механизмов:



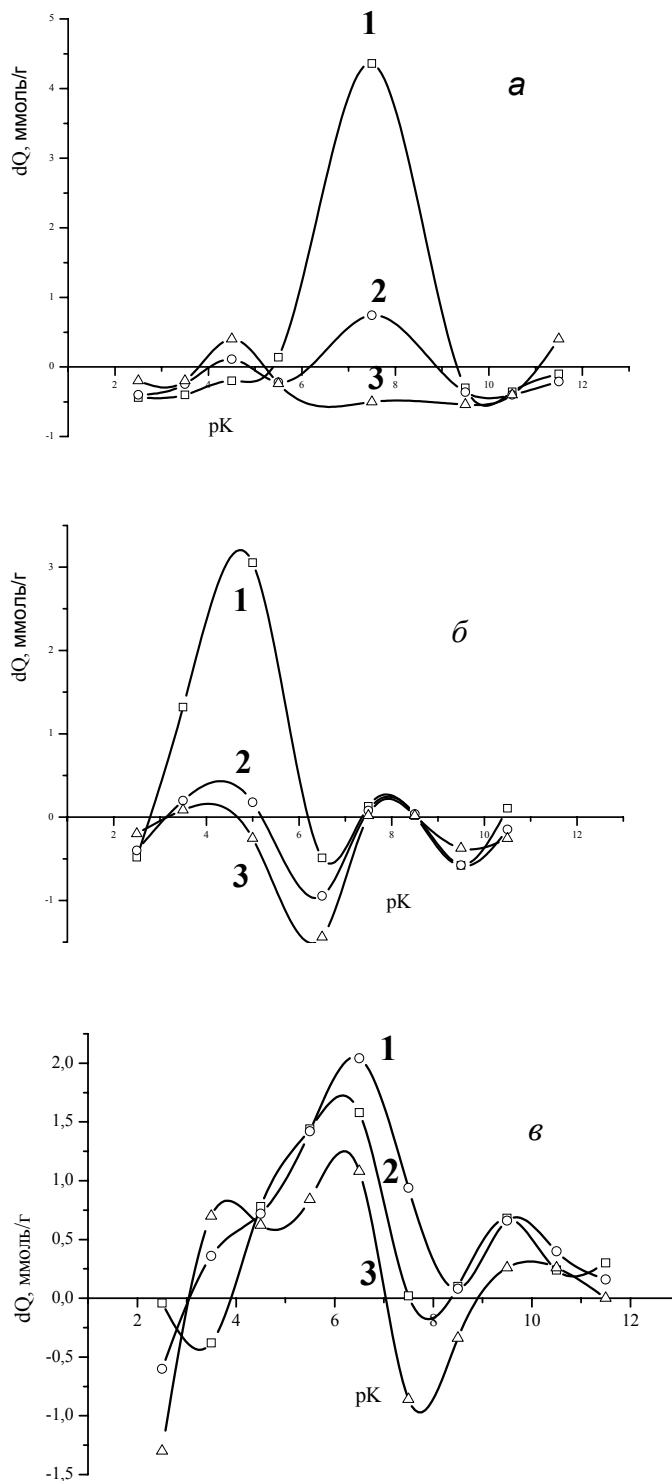


Рис. 1. Приращение протолитической емкости  $dQ$  донных отложений в присутствии ионов: а –  $\text{Co}^{2+}$ ; б –  $\text{Cu}^{2+}$ ; в –  $\text{Pb}^{2+}$ ; 1 - 0.005M; 2 – 0.01M; 3 – 0.05M

1) формирование на поверхности твердых (гелевых) частиц структур, препятствующих проникновению ионов металла внутрь частиц по стерическим условиям [15];

2) образование протонных барьеров в граничных слоях между заполненными раствором полостями фазы сорбента и гидратированными, несущими электрический заряд полимерными цепями, а также участками поверхности, армирующими гель твердых минеральных частиц [16-18].

Абсолютные значения  $dQ$  как в области положительных, так и отрицательных величин существенно варьируются в зависимости от природы двухзарядного иона металла (рис.1). В положительной области величины  $dQ$  исследуемых ионов располагается в ряд  $Co^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+}$ , что может быть соотнесено с уровнем жесткости этих ионов как кислот Льюиса [19]. Соответственно возрастанию жесткости катиона, то есть в ряду  $Co^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$ , усиливается способность катионов к образованию гидроксокомплексов [20]. Последнее можно рассматривать в качестве фактора, снижающего способность катионов замещать протон, как в органической, так и в минеральной составляющих сложных природных сорбентов [13].

В области отрицательных величин  $dQ$  ряд противоположный:  $dQ(Pb^{2+}) \approx dQ(Cu^{2+}) > dQ(Co^{2+})$ . Это отражает соответствующее преобладание эффектов взаимодействия катион-растворитель над взаимодействием катион-ионогенная группа полифункционального сорбента. В простейшем толковании – чем больше жесткость катиона и, следовательно, выше его способность замещать протон в молекулах воды с образованием гидроксокомплексов, тем меньше энергия взаимодействия с электронодонорными группами сорбента, функциональные группы которого преимущественно включают донорные атомы кислорода и азота [13]. Последнее правомерно рассматривать в аспекте варьирования энергетических уровней протонных барьеров [17], формирующихся под воздействием вводимых в систему ионов тяжелых металлов. По физическому смыслу величины  $dQ$  характеризуют степень снижения способности функциональных полимеров и поверхности твердых коллоидных частиц донных отложений к участию в процессе обмена протона на ионы  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  или  $Pb^{2+}$ . Подобные эффекты несвойственны растворам низкомолекулярных электролитов, однако в большой мере проявляются в гетерофазных системах с высокой концентрацией протонодонорных и протонофильных функциональных групп [17].

Положение экстремумов функций  $dQ = f(pK_a)$  относительно оси  $pK$  не коррелирует с уровнями жесткости двухзарядных катионов (рис.1). Для отрицательных величин  $dQ$  характерно практическое совпадение этих точек во всем диапазоне изученных концентраций ионов меди и свинца при наглядно выраженной размытости кривой  $dQ = f(pK_a)$  для ионов кобальта. В данном случае можно судить о проявлении сходства или различия эффектов катионов в формировании надмолекулярных структур, в которых коллективное взаимодействие частиц (в первую очередь, молекул растворителя [21]) может существенно отражаться на энергетических уровнях локальных взаимодействий. В порядке увеличения жесткости катионов как кислот Льюиса возрастает их способность к образованию гидроксокомплексов[20]. Это находит отражение в величинах отрицательных значений  $dQ$ , где четко прослеживается ряд  $Co^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$ . Рассматриваемые особенности полиэлектролитных гидратированных структур открывают новые возможности в интерпретации наблюдаемых в многочисленных экспериментах аномальных форм кривых потенциометрического титрования полиэлектролитов [1,22]. Для описания такого рода систем применяется уравнение Гендерсона-Хассельбаха и его модифицированный вариант – уравнение Грегора [1]:

$$pH = pK_a + n \lg \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

где  $pK_a$  – показатель силы брэнстедовской кислотности функциональных групп,  $\alpha$  – степень замещения протона на ион металла в функциональных группах,  $n$  – параметр Грегора, физический смысл которого неясен. Авторы [1] рассматривают данный параметр как меру «электростатического эффекта». В других работах [22] – как величину, характеризующую кооперативное взаимодействие между полимерными цепями. Для растворимых протолитических кислот отклонения величины  $n$  от единицы не наблюдается.

На рис.2 приведена зависимость параметра  $n$  от  $pK$  брэнстедовской кислотности исследуемых донных отложений по данным потенциометрического титрования.

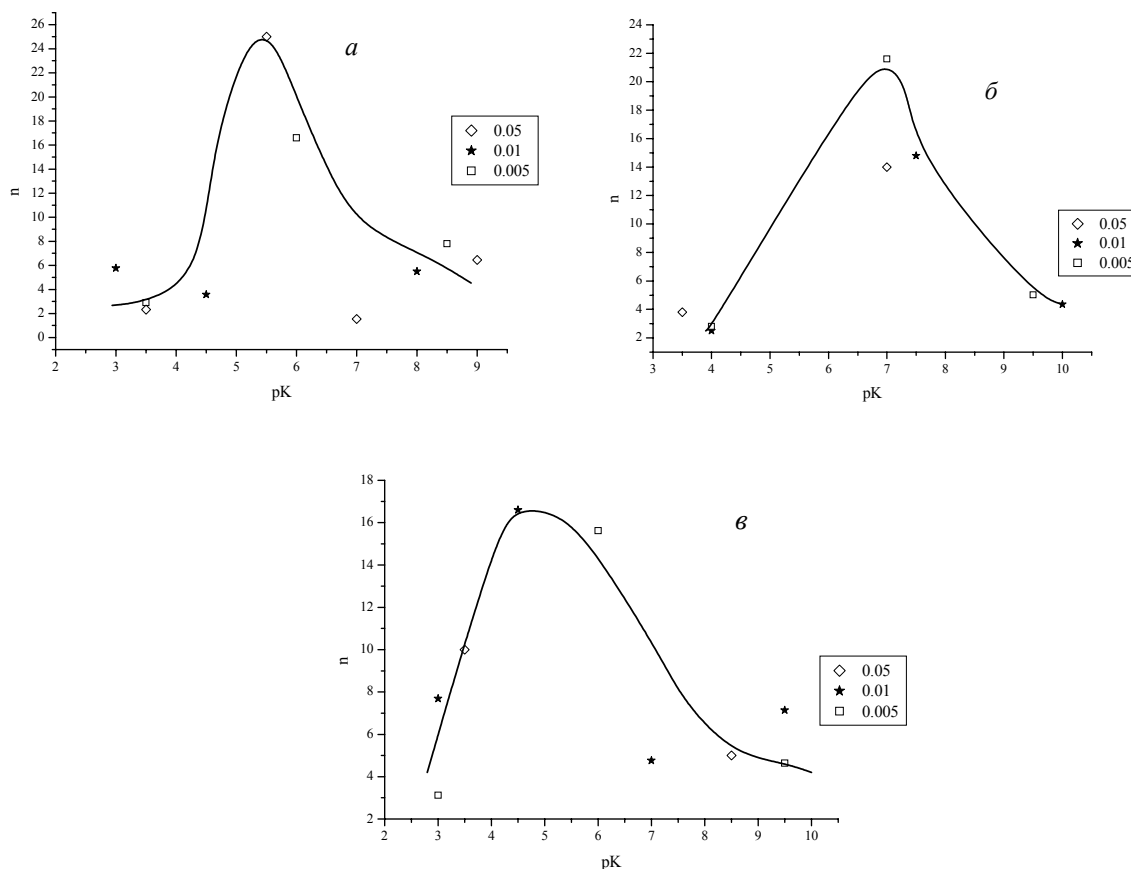


Рис.2. Зависимость углового коэффициента Грегора  $n$  от  $pK$  донных отложений для ионов: а –  $Co^{2+}$ ; б –  $Cu^{2+}$ ; в –  $Pb^{2+}$

Эти результаты свидетельствуют о существовании областей протолитической активности полифункционального материала, где величина  $n$  многократно превышает единицу. Положение максимумов величин  $n$  для ионов  $Co^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  близко к  $pK = 7$ , но существенно смещено в сторону более низких значений  $pK$  в случае  $Pb^{2+}$ . При этом для свинца максимум размыт (охватывает интервал  $pK$  3,5 – 6,5) и несколько ниже в сравнении с системами, содержащими катионы  $Co^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ . В этом проявляется сравнительно высокая жесткость иона  $Pb^{2+}$  и повышенная склонность к образованию гидросокомплексов, включая и достаточно устойчивые гетероядерные гидросокомплексы [20].

Высокие значения параметра  $n$ , характерные для донных отложений, указывают на способность полиэлектролитных высокодисперсных твердофазных и гидратных структур этих сформировавшихся в природе композиций к проявлению защитных функций по отношению к внешнему химическому воздействию [23]. По-видимому, данному виду композиции свойственны повышенные структурные возможности, на основе которых в ограниченном временном интервале могут формироваться протонные барьеры с большой суммарной энергией, способной препятствовать вхождению ионов тяжелых металлов в граничные гидратные слои в областях с высоким содержанием протоногенных групп. Величина  $n$  в уравнении Грегора имеет смысл параметра, характеризующего степень расширения интервала  $pK$  протолитической кислотности, что равнозначно ограничению возможности замещения протонов на ионы металла в процессе воздействия щелочи на систему. Тот факт, что экстремальные значения  $n$  расположены в области  $pH$  около 7, позволяет судить о роли фактора лабильности гидратных структур в процессе формирования протонных барьеров [17,21]. При контакте полиэлектролитных систем с жидкими фазами,

имеющими повышенную протолитическую кислотность или основность, лабильность гидратных структур в гелевой фазе, безусловно, снижается за счет напряжений, вызываемых высокой концентрацией ионов  $H^+$  или  $OH^-$ . Это в большой мере снижает возможность образования протонных барьеров, ограничивающих ионообменные процессы в фазе полиэлектролита, что иллюстрируется данными рис.1.

Диапазон значений  $pK$ , характеризующихся равными величинами параметра  $n$ , приведены на рис.3.

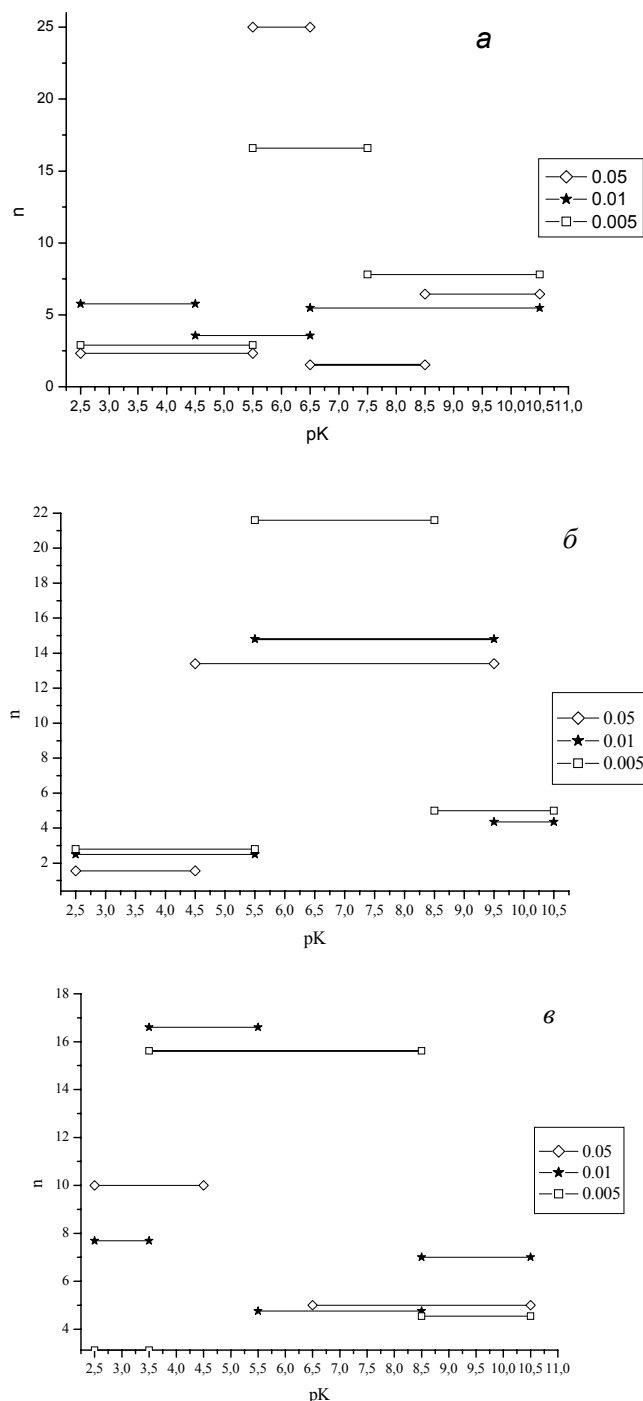


Рис.3. Диапазон значений  $pK$  с равными величинами угловых коэффициентов Грегора  $n$  для ионов: а –  $Co^{2+}$ ; б –  $Cu^{2+}$ ; в –  $Pb^{2+}$

Эти данные позволяют в наиболее общих чертах оценить влияние природы иона металла и его концентрации на уровне предела буферности донных отложений в процессе

замещения протона на двухзарядный катион. Для исследуемого ряда металлов в качестве важнейшего фактора можно принять жесткость ионов, которая обуславливает способность иона металла к комплексообразованию с кислород- и азотсодержащими лигандами, что, в свою очередь, находит отражение в протолитических характеристиках при формировании надмолекулярных структур[21]. Как следует из данных рисунка 3, протяженность интервалов рК бренстедовской кислотности, где сохраняются постоянными угловые коэффициенты функции  $pK = f(\lg(\alpha/1-\alpha))$ , возрастает с уменьшением концентрации металла. При этом наиболее протяженные области смещаются в сторону более высоких значений параметра по мере увеличения жесткости иона металла, то есть прослеживается ряд:  $Co^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$ . Оба фактора (концентрация и жесткость катиона, замещающего протон) свидетельствуют об усилении буферности донных отложений с возрастанием энергии воздействия вводимых в суспензию металлов на гидратные структуры в гелевой фазе [24]. С этих позиций объяснимо и наличие изломов на графиках  $pK = f(\lg(\alpha/1-\alpha))$ . Согласно [21], сингулярным точкам концентрационных зависимостей параметров, характеризующих уровни структурированности надмолекулярных образований, соответствуют качественные переходы, связанные с исчезновением одних структур и появлением новых. Для полифункциональных гетерофазных систем такого рода переходы могут быть весьма значимыми. Об этом наглядно свидетельствуют данные рис.3.

О весьма сильных и качественно различных эффектах при взаимодействии ионов  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  с донными отложениями свидетельствуют также результаты потенциометрических измерений, представленные на рис. 4, где соотнесены величины приращения протолитической емкости при переносе ионов металлов из водного раствора в водную суспензию донных отложений, с величинами рК, полученными по результатам потенциометрического титрования рассматриваемых систем. Значения dQ определены в данной серии экспериментов по разностям протолитической емкости при заданных значениях рК[12] для раствора соли металла и суспензии донных отложений в присутствии металла. Как видно из данных рисунка, наряду с определенной общностью эффектов вытеснения  $H^+$  ионами металлов имеют место и существенные различия. Так, для  $Cu^{2+}$  характерно смещение максимума dQ в сторону низких значений рК (в сравнении с  $Co^{2+}$ ), что можно рассматривать как следствие повышенного сродства к образованию полидентантных комплексов как с кислородсодержащими, так и азотсодержащими лигандами. С этим фактором, по-видимому, связано и наличие больших отрицательных значений dQ для ионов меди. Повышенное сродство металла к бидентантным лигандам обуславливает резкое снижение способности Cu к образованию гидроксокомплексов. Для ионов свинца характерно наличие нескольких слабовыраженных экстремумов в положительной области dQ. В этом проявляется повышенная склонность ионов  $Pb^{2+}$  к образованию полиядерных гидроксокомплексов переменного состава. Последнее находит отражение и в относительно большой протяженности монотонных участков функций Грегора (рис.4).

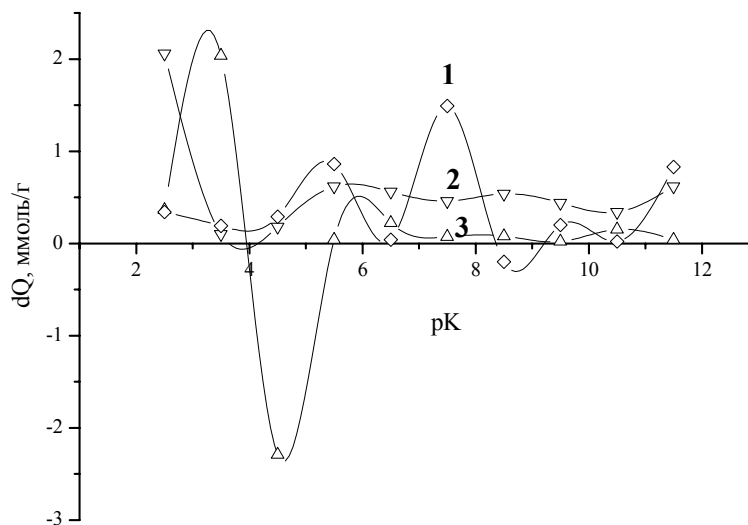


Рис.4. Приращение протолитической емкости при переносе ионов из водного раствора в суспензию донных отложений: 1 –  $\text{Co}^{2+}$ ; 2 –  $\text{Pb}^{2+}$ ; 3 –  $\text{Cu}^{2+}$

## Заключение

Результаты экспериментов свидетельствуют о перспективности ионометрических методов в исследовании соотношений между интенсивными и экстенсивными характеристиками процессов межфазного распределения и транспорта низкомолекулярных электролитов в сложных гетерогенных системах с широким спектром констант ионизации функциональных групп. Особую значимость в системах такого рода представляют эффекты, связанные с информативными свойствами граничных слоев жидкой фазы, прилегающих к полимерным цепям и поверхностям высокодисперсных составляющих твердых фаз как органической, так и минеральной природы. Исключительную роль в этих системах играют протонные барьеры, формирующиеся под воздействием частиц с высокой плотностью электрического заряда. Наблюдаемые эффекты могут служить основой при разработке прикладных вариантов управления потоками элементов в сфере агрохимии, геохимии, здравоохранения, экологии.

## Список литературы

1. Лейкин Ю.А., Черкасова Т.А. Уравнение Грегора для описания кислотно-основного равновесия фосфорсодержащих катионитов// Сорбционные и хроматографические процессы. 2004. Т.4. Вып.5. С.625-638.
2. Гапоненко В.И., Мацко В.П., Бондарь Ю.И. и др. Связь коэффициентов накопления радионуклидов растениями с удельной активностью почвы// Природные ресурсы. 2004. №2. С.76 – 82.
3. Ярославцев А.Б., Никоненко В.В., Заболоцкий В.И. Ионный перенос в мембранных и ионообменных материалах// Успехи химии. 2003. Т.72. № 5. С. 438 – 469.
4. Пинский Д.Л. Механизм ионообменной адсорбции тяжелых металлов почвами// Почвоведение. 1998. № 11. С. 1348 – 1355.
5. Аснин Л.Д., Федоров А.А., Чекрышкин Ю.С.. Термодинамические характеристики адсорбции, описываемой изотермой Фрейндлиха// Изв. РАН. Сер. хим. 2000. № 1. С. 175-178.

6. Курзо Б.В., Гордобудская О.М., Гайдукевич О.М. и др. Методические рекомендации по экспресс-контролю экологического состояния озер по донным осадкам. ИНИПРЭ НАНБ, Минск. 2000. 44с.
7. Курзо Б.В., Сенькевич Л.П., Гордобудская О.М. и др. Состав современных осадков озер как индикатор природных и техногенных процессов// Природные ресурсы. 1998. № 1. С. 98 – 107.
8. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. Химия. Ленинград. 1984. 168С.
9. Юшкан Е.И., Чичева Т.Б., Лаврентьева Е.В. Мониторинг фоновго загрязнения природных сред. Гидрометиздат, Ленинград. 1984. В. 2. С. 17.
10. Селеменев В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю., Чикин Г.А. Практикум по ионному обмену. изд-во Воронеж. ун-та, Воронеж. 1999. 173 с.
11. Рязанов М.А., Дудкин Б.Н. Изучение кислотно-основных свойств суспензии  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  методом рК-спектроскопии// Коллоидный журнал. 2003. Т. 65. № 6. С. 831 – 836.
12. Leuenberger B., Schindler P.W. Application of integral pK-spectrometry to the titration curve of fulvic acid// Anal. Chem. 1986. V.58. P.1471–1474.
13. Шамрикова Е.В., Соколова Т.А., Забоева И.В. Идентификация буферных реакций при титровании водных суспензий целинных и пахотных подзолистых почв кислотой и основанием// Почвоведение. 2002. № 4. С. 412 - 423.
14. Пинский Д.Л., Золотарева Б.Н. Поведение Cu(II), Zn(II), Pb(II), Cd(II) в системе раствор – природные сорбенты в присутствии фульвокислоты// Почвоведение. 2004. №3. С. 291-301.
15. Курочкина Г.Н., Пинский Д.Л. Влияние катионов свинца на структурно-сорбционные свойства серой лесной почвы// Агрохимия. 2004. № 3. С. 55 – 62.
16. Manning G.S. Limiting laws and contrion condensation in polyelectrolyte solutions// Biophys. Chem. 1978.V.9. № 1. P. 65 – 87.
17. Цыганов А.Р., Гордеев А.М., Вильдфлуш И.Р. Биофизические основы рациональных способов внесения минеральных удобрений. Горки. 2006. 304 с.
18. Федотов Г.Н., Третьяков Ю.Д., Поздняков А.И. и др. Влияние коллоидной структуры органоминерального геля на свойства почв//ДАН. 2004. № 2. С.212 – 214.
19. Бек М., Надьпал И. Исследования комплексообразования новейшими методами. – Мир, Москва. 1989. 414 с.
20. Инцеди Я. Применение комплексов в аналитической химии. Мир, Москва. 1979. 376 с.
21. Лагодзинская Г.В., Юнда Н.Г., Манелис Г.Б. Лабильные супрамолекулярные структуры и их динамика в ассоциированных жидкостях по данным ЯМР// Изв. Российской АН. Сер. хим. 2006. № 4. С. 577- 601.
22. Холин Ю.В., Мирошник Л.В., Бугаевский А.А., Мутин А.В. Модели для описания равновесий с участием макромолекулярных лигандов. В кн. Неформальные математические модели в химической термодинамике. Новосибирск. 1991. С. 26 – 35.
23. Мирошниченко Н.Н., Пашенко Я.В., Фатеев А.И. Показатели буферности и устойчивости в оценке барьерной функции почв// Почвоведение. 2003. № 7. С. 808 – 817.
24. Жоробекова Ш.Ж. Макролигандные свойства гуминовых кислот. Фрунзе. 1987. 293 с.



## Разделение изоферментов изоцитратлиазы из щитков кукурузы с помощью ионообменной хроматографии

Маслова Е.В., Чан Тхи Хоанг Куэн, Епринцев А.Т.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Была разработана универсальная схема очистки для изоферментов изоцитратлиазы (КФ 4.1.3.1) из щитков кукурузы, включающая 4 стадии. Ключевой стадией позволившей разделить изоформы исследуемого фермента послужила ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе с линейным градиентом КСl (50-150 мМ). Фермент элюировался с колонки в виде двух пиков, соответствующих концентрациям КСl 60,2 и 94,2 мМ. Показано различие в активации форм изоцитратлиазы глицином и гликолатом. Глицин оказывал активирующее действие на первую форму фермента в концентрации 5 мкМ, на вторую форму – 10 мкМ. Гликолат же активировал ИЦЛ<sub>1</sub> достаточно в высоких концентрациях (100 мкМ), по сравнению с ИЦЛ<sub>2</sub> (5 мкМ).

### Введение

Фермент изоцитратлиаза (КФ 4.1.3.1) катализирует обратимую реакцию альдольного расщепления изоцитрата на глиоксилат и сукцинат. Наряду с малатсинтазой изоцитратлиаза (ИЦЛ) является ключевым ферментом глиоксилатного цикла и появляется на ранних этапах прорастания семян масличных растений, но по мере утилизации запасных жиров наступает спад ее активности.

Изоцитратлиаза довольно часто встречается среди бактерий, грибов и высших растений. Что касается многоклеточных животных, фермент присутствует в некоторых нематодах во взрослой стадии, в постэмбриональных личинках и эмбрионах, и вероятно, в определенных членистоногих. Вопрос о присутствии ИЦЛ и глиоксилатного цикла в позвоночных животных все еще обсуждается.

Вопросы регуляции активности данного фермента в ходе прорастания семян имеют принципиальное значение, поскольку они позволяют пролить свет на общие закономерности регуляции ферментативных процессов в ходе онтогенеза.

К настоящему времени ИЦЛ очищена до гомогенного состояния из многих видов микроорганизмов, в частности бактерии *Pseudomonas indigofera*, грибов, высших растений, нематод, клещей, насекомых и крыс [1]. В растениях, ИЦЛ распространена в основном в жирозапасующих семенах, однако встречаются данные и о наличии этого фермента и в других органах растений – в плодах [2] и зелёных листьях [3, 4].

Очистка ИЦЛ из различных объектов, как правило, включала фракционирование сульфатом аммония, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-Toyopearl и гель-фильтрацию на различных сефадексах. Также описана очистка (включающая фракционирование ацетоном, диализ, хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе и сефадексе G-200) ИЦЛ из развивающихся эмбрионов клещей *Hyalomma dromedarii* [1].



Как правило, применение обычных сорбентов не позволяет эффективно разделить изоформы фермента, поэтому цель нашей работы – разработка схемы разделения изоформ изоцитратлиазы из щитков кукурузы с применением ионообменной хроматографии.

## Методы исследования

В качестве объектов исследования использовали щитки 4-дневных этиолированных проростков кукурузы (*Zea mays* L., сорт Воронежская 76), выращенных гидропонным способом, при  $t = 25^{\circ}\text{C}$ .

Активность изоцитратлиазы (КФ 4.1.3.1) определяли спектрофотометрически на СФ-46, по изменению поглощения света при длине волны 324 нм, за счёт образования комплекса фенилгидразина с глиоксилатом [5]. Среда спектрофотометрирования содержала 50 мМ Tris-HCl-буфер, pH 7,5; 5 мМ  $\text{MgCl}_2$ ; 4 мМ ДТТ, 2 мМ изоцитрат натрия, 4 мМ фенилгидразин солянокислый.

За единицу активности фермента принимали такое количество изоцитратлиазы, которое обеспечивало образование 1 микромоля глиоксилата за 1 мин при  $t = 25^{\circ}\text{C}$ . Определение общего количества белка проводили по методу Лоури [6].

Для получения высокоочищенных препаратов изоцитратлиазы была разработана специальная схема очистки, включающая 4 стадии. Все операции проводили при температуре  $0-4^{\circ}\text{C}$ .

1. Получение гомогената: навеску растительного материала ( $m=5,0\text{г}$ ) гомогенизировали в соотношении 1:5 со средой выделения следующего состава: 50 мМ Tris-HCl-буфер (pH 7,5), содержащей 3мМ ЭДТА, 0,1М  $\text{MgCl}_2$ , 5мМ ДТТ. Центрифугировали 5 мин при 5000g.

2. Фракционирование белков осуществляли сульфатом аммония в пределах насыщения 0-40%. Полученный раствор центрифугировали 20 мин при 12000g.

3. Гель-фильтрацию проводили на колонке ( $1,5 \times 20$  см) с Сефадексом G-25 («Pharmacia», Швеция). Элюцию белков осуществляли 50 мМ Tris-HCl-буфером (pH 7.5), со скоростью 15-20 мл в час.

4. Ионообменную хроматографию проводили на колонке ( $1,5 \times 15$  см) с ДЭАЭ-целлюлозой («Whatman», Великобритания), предварительно уравновешенной 50 мМ Tris-HCl-буфером, pH 7.5. Фермент десорбировали с колонки линейным градиентом концентрации от 50 мМ до 150 мМ KCl в среде элюирования.

Для определения четвертичной структуры и молекулярной массы нативной ИЦЛ использовали метод гель-хроматографии на колонке ( $2 \times 40$  см) с Сефадексом G-200 [7]. Определяли объём его выхода ( $V_e$ ). Свободный объём ( $V_o$ ) колонки определяли с помощью голубого декстрана («Serva»). Молекулярную массу изучаемого фермента определяли по формуле, полученной из калибровочного графика (1):

$$\lg Mr = 6,698 - 0,987 (V_e/V_o) \quad (1)$$

Электрофоретические исследования белков проводили в 7,5% полиакриламидном геле [8]. Универсальное проявление белков осуществляли нитратом серебра. Гели хранили в 7% растворе уксусной кислоты.

Специфическую идентификацию фермента выявляли с помощью модифицированного реагента Шиффа [9]. DS-Na-ПААГ-электрофорез осуществляли при концентрации полиакриламидного геля 12,5%. Каждый образец содержал 3 – 5 мкг белка.

Для построения калибровочной кривой использовали стандартные маркерные белки («Sigma») [10].

Опыты проводились в трех повторностях. Аналитическое определение для каждой пробы осуществляли в двух повторностях. В таблице и на рисунках приведены данные

типичных опытов, где каждое значение есть среднее арифметическое. При математической обработке использовали статистический критерий Стьюдента.[11].

### Результаты их обсуждение

Известно, что изоцитратлиаза в прорастающих семенах, как правило, представлена в виде одной или двух, реже большего числа молекулярных форм [12, 13, 14].

С помощью электрофореза в 7,5% ПААГ с последующим специфическим окрашиванием на активность изоцитратлиазы, в щитках кукурузы было обнаружено две формы фермента с различной электрофоретической подвижностью (рис.1).

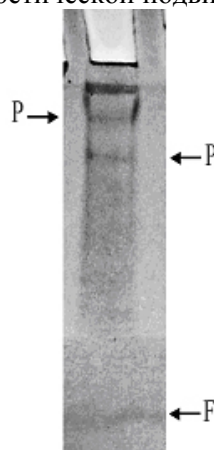


Рис. 1. Специфическое проявление ИЦЛ из щитков кукурузы: P – белковая полоса; F – фронт красителя

В ходе разработанной 4-х стадийной очистки были получены гомогенные препараты двух изоформ ИЦЛ из щитков кукурузы. Результаты типичной очистки представлены в таблице 1, из которой видно, что удельная активность для одной изоформы равнялась 4,64 Е/мг белка, при этом степень очистки составила 116 раз; выход – 5,6%. Для второй изоформы значение удельной активности составило 6,5 Е/мг белка, а степень очистки 162,5 раз; выход – 5,6%.

Таблица 1. Очистка изоцитратлиазы из щитков кукурузы (n=3, P<0,05)

Стадия очистки	Объём, мл	Общий белок, мг	Общая активность, Е	Удельная активность, Е/мг белка	Выход, %	Степень очистки
<i>Гомогенат</i>	6	61,32	2,32	0,04	100	1
Фракционирование сульфатом аммония	2	11,52	2,10	0,18	90,5	4,50
Гель-фильтрация на G-25	2	11,04	2,05	0,19	88,4	4,75
Ионообменная хроматография на ДЭАЕ-целлюлозе	2	0,028	0,13	4,64	5,60	116
	2	0,020	0,13	6,50	5,60	162,5

Ключевой стадией в получении высокоочищенных изоформ изоцитратлиазы являлось применение ионообменной хроматографии на ДЭАЕ-целлюлозе с линейным

градиентом KCl (50-150мМ). При очистке ИЦЛ из щитков получили 2 пика элюции ферментной активности. Максимальная элюция первой изоформы наблюдалась при концентрации раствора 60,2 мМ KCl, а второй - при 94,2 мМ. Профиль элюции активности изоцитратлиазы после ДЭАЕ-целлюлозы показан на рисунке 2.

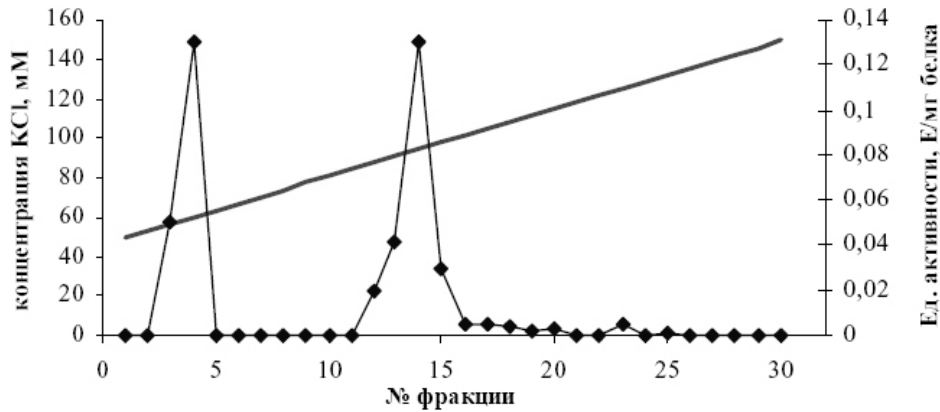


Рис. 2. Профиль элюции активности изоцитратлиазы на ДЭАЕ-целлюлозе при десорбции линейным градиентом KCl: — концентрация линейного градиента KCl (50-150 мМ); ◆ - единицы активности ИЦЛ (Е/мг белка)

Проведённый электрофоретический анализ очищенных препаратов показал, что в полиакриламидном геле при универсальном окрашивании на белки и специфическом проявлении обнаруживалось по одной белковой полосе (рис. 3). Таким образом, было установлено, что в щитке кукурузы присутствуют 2 формы фермента, имеющие разную электрофоретическую подвижность: ИЦЛ<sub>1</sub> с R<sub>f</sub> 0,29 и ИЦЛ<sub>2</sub> с R<sub>f</sub> 0,25.

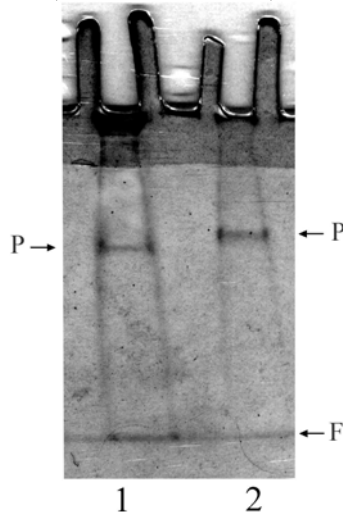


Рис.3. Электрофорез в 7,5% ПААГ (проявление с нитратом серебра) препаратов изоцитратлиазы из щитков кукурузы: 1 - ИЦЛ<sub>1</sub> с R<sub>f</sub> 0,29; 2 - ИЦЛ<sub>2</sub> с R<sub>f</sub> 0,25; P – белковая полоса; F – фронт красителя

При гель-хроматографии на Сефадексе G-200 ИЦЛ из щитков кукурузы элюировалась в виде двух пиков, соответствующих молекулярным массам 164 и 208 кДа.

Электрофоретическое исследование белка в присутствии Ds-Na позволило определить величину молекулярной массы каждой субъединицы, которая составила 43±1,2 кДа, для ИЦЛ<sub>1</sub> и 48±0,5 кДа для ИЦЛ<sub>2</sub> (рис. 4).

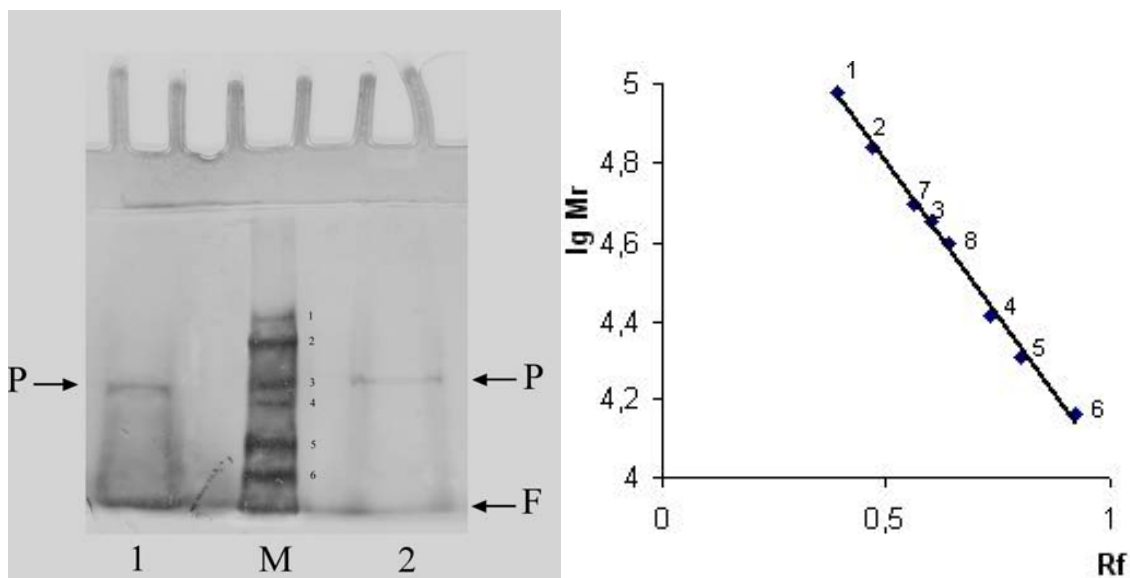


Рис. 4. Определение молекулярной массы субъединиц изоцитратлиазы из щитков кукурузы методом Ds-Na-электрофореза: 1- целлюлаза(94,6 кДа); 2- бычий сывороточный альбумин (66,2 кДа); 3-яичный альбумин (45 кДа); 4- карбоангидраза (31 кДа); 5- ингибитор трипсина (21,5 кДа); 6- лизоцим(14,4 кДа); 7- ИЦЛ<sub>2</sub>; 8- ИЦЛ<sub>1</sub>

Результаты с помощью гель-хроматографии на Сефадексе G-200 и данные денатурирующего электрофореза, позволяют заключить, что ИЦЛ является тетрамерным белком (рис. 4).

При изучении кинетических свойств для гомогенных препаратов изоцитратлиазы в щитках кукурузы было установлено, что фермент подчиняется кинетике Михаэлиса-Мэнтен.  $K_m$  по изоцитрату для ИЦЛ<sub>1</sub> составила 55,6  $\mu\text{M}$ , для ИЦЛ<sub>2</sub> сродство к субстрату было меньше по сравнению с первой формой фермента ( $K_m = 83,3 \mu\text{M}$ ). Анализ данных показывает, сродство исследуемого фермента к изоцитрату варьируют достаточно в широких пределах концентрации метаболита и сопоставимо с таковым из других объектов.

В ходе исследования по влиянию концентрации ионов водорода на активность ИЦЛ в щитках было показано, что данная зависимость активности ИЦЛ имела колоколообразный характер для обеих изоформ (рис.5). При этом максимальная активность для ИЦЛ<sub>1</sub> наблюдали при pH – 7,5. Для второй изоформы pH оптимум был несколько смещён в кислую область значений и был равен 6. Многочисленные исследования свидетельствуют, что pH оптимум для ИЦЛ, выделенной из различных источников, как правило - 7,5. Самая высокая активность фермента наблюдалась при использовании Tris-HCl- буфера с pH 7,5 [1].

Проводили исследования по влиянию различной концентрации глицина и гликолата на изоформы ИЦЛ. Показано, что глицин активировали обе формы фермента, но в различных концентрациях. Глицин увеличивал активность ИЦЛ<sub>1</sub> в концентрации 5  $\mu\text{M}$ , дальнейшее увеличение концентрации приводило к почти полному торможению активности фермента. Для ИЦЛ<sub>2</sub> максимальную активность наблюдали в присутствии глицина концентрации 10  $\mu\text{M}$ . Изоформы изоцитратлиазы существенно различались по влиянию гликолата. ИЦЛ<sub>1</sub> активировалась лишь малыми концентрациями гликолата (5  $\mu\text{M}$ ), тогда как вторая её форма проявляла высшую активность только при высоких концентрациях (100-500  $\mu\text{M}$ ).

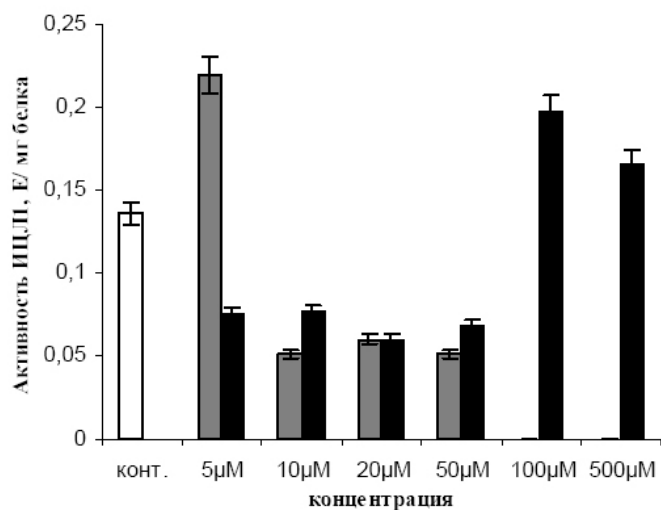


Рис. 5. Влияние глицина и гликолата на активность ИЦЛ<sub>1</sub>: □ - контроль; ■ - глицин; ■ - гликолат

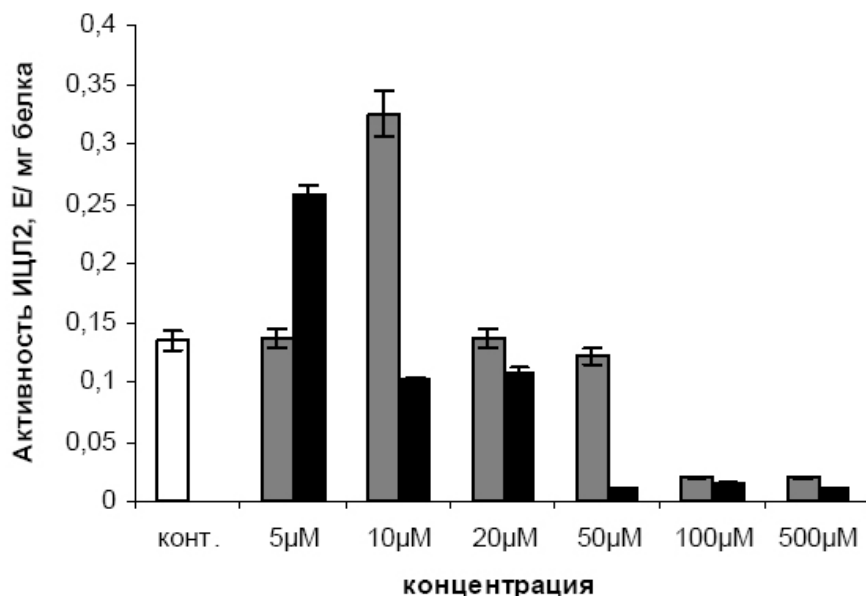


Рис. 6. Влияние глицина и гликолата на активность ИЦЛ<sub>2</sub>: □ - контроль; ■ - глицин; ■ - гликолат

Таким образом, использование ионообменной хроматографии в схеме многостадийной очистки позволило разделить изоформы изоцитратлиазы из щитков кукурузы и получить ферментные препараты в гомогенном состоянии. Исследование физико-химических и регуляторных свойств изоферментов ИЦЛ свидетельствует о их разной функциональной роли. Одна из форм участвует в метаболизации ацетила-СоА, образующегося при расщеплении жиров, утилизируя его через гликолатный цикл и обращенный гликолиз в доступную для клеток форму – глюкозу. Вторая форма может обеспечивать различные анаплеротические реакции, связанные с метаболизацией органических кислот, в частности глиоксилата.

---

## Список литературы

1. Епринцев, А.Т., Попов, В.Н., Шевченко, М.Ю. Глиоксилатный цикл. Универсальный механизм адаптации. М: Академкнига, 2007.
2. Jameel S., El-Gul T. and Mcfadden B. A. Isolation and properties of watermelon isocitrate lyase // *Phytochemistry*. 1984. Vol. 23. №12. P. 2753-27-59.
3. Lu Y., Wu Y.R., Han B. Anaerobic induction of isocitrate lyase and malate synthase in submerged rice seedlings indicates the important metabolic role of the glyoxylate cycle // *Acta Biochim. Biophys. Sin (Shanghai)*. 2005. Vol. 37. №6. P. 406-414.
4. Bytof G., et al. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment // *Ann. Bot. (Lond)*. 2007. Vol. 100. №1. P. 61-66.
5. Kornberg H. L., Krebs H. A. Synthesis of cell constituents from C<sub>2</sub>-units by a modified tricarboxylic acid cycle // *Nature*. 1957. Vol. 179. P.988-991
6. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265-275.
7. Детерман Г. Гель-хроматография, М: Мир, 1970.
8. Davis B. J. Disc-electrophoresis II. Method and application to human Serum protein // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 121. P. 404-427
9. Reeves H.C., Volk M.J. Determination of isocitrate lyase activity in polyacrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1972. Vol. 48. №2. P. 437-441.
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
11. Лакин Г. Ф. Биометрия, М: Высшая школа, 1980.
12. Землянухин А. А., Игамбердиев А. У., Преснякова Е. Н. Выделение и характеристика изоцитратлиазы из щитка кукурузы // *Биохимия*. 1986. Т. 51. Вып. 3. С. 442-448.
13. Землянухин А. А., Игамбердиев А. У. Регуляция активности изоцитратлиазы в растениях конопли // *Физиология растений*. 1985. Т. 32. Вып. 4. С. 739-746.
14. Vincenzini M. T., Nerozzi F., Vincieri F., Vanni P. Isolation and properties of isocitrate lyase from *Lupinus* seeds // *Phytochemistry*. 1980. Vol. 19. №5. P. 769-774.



## Кинетические и равновесные параметры сорбции кверцетина анионообменниками

Удалова Н.А., Карпов С.И., Селеменев В.Ф., Шармар И.А.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Изучена сорбция кверцетина на анионитах различной пористости в ОН- и СI-форме в статических условиях. Рассчитаны равновесные (величины коэффициента распределения  $K_p$ ) и кинетические (эффективные коэффициенты диффузии  $D_{эфф}$ ) параметры сорбции кверцетина на анионитах АВ-17-2П, АВ-17-6М в СГ и ОН<sup>-</sup>-формах. Изучен механизм взаимодействия кверцетина с указанными анионообменниками методами электронной микроскопии и ИК-спектроскопии

### Введение

Одно из ведущих мест в области профилактики и лечения заболеваний занимают лекарства природного происхождения, среди которых выделяются препараты, полученные на основе растительного сырья. Флавоноидные соединения представляют собой распространенную группу природных фенольных веществ, из которых вырабатываются эффективные, практически нетоксичные препараты с широким спектром фармакологического действия. [1]. Сырьевой базой для получения флавоноидов служат ценные лекарственные растения, и поэтому сейчас особенно актуально стоит вопрос о создании экономичных методов контроля, их переработки и анализа выделенных компонентов на стадиях производства лекарственных препаратов в готовом продукте. В настоящее время решение этой задачи возможно лишь с помощью современных физико-химических и физических методов, что в свою очередь требует систематического исследования фундаментальных молекулярных характеристик флавоноидов. Многие годы основными методами выделения, очистки и концентрирования веществ являлись жидкостная экстракция, тонкослойная хроматография [2]. Подготовка образцов с помощью указанных методов - это длительный и многоступенчатый процесс, требующий расхода большого количества особо чистых растворителей и реактивов, дополнительного оборудования и значительных трудозатрат. Кроме того, эти методы связаны с недостаточной воспроизводимостью результатов измерения, низкой степенью извлечения и очистки веществ. В последнее время получил распространение метод, основанный на выделении интересующих компонентов путём сорбции на твёрдых носителях, который позволяет варьировать природу и силу взаимодействия образца с сорбентом и элюентом [3].

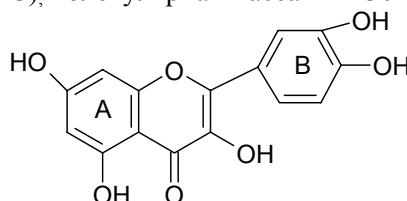
В настоящее время изучена сорбция флавоноидов на силикагелях, оксиде алюминия и ряде других неорганических адсорбентов. Однако последние обладают каталитическим действием и способны снижать антиоксидантную активность флавоноидов [4]. Для разделения физиологически активных веществ могут использоваться ионообменные материалы, на которых наряду с ион-ионными могут проявляться ион-дипольные, диполь-

дипольные и дисперсионные взаимодействия [5,6]. Комбинация ионообменных свойств со способностью веществ к межфазному распределению, возможность участия молекул в образовании связей различной природы дает основание использовать ионообменные материалы как эффективные среды для разделения и выделения физиологически активных веществ из водно-этанольных экстрактов лекарственных растений. Природа подобных взаимодействий в системе «ионообменник–водно-этанольный раствор флавоноида» не изучена.

Цель работы: изучение сорбции флавоноидов ионообменными материалами из водно-этанольных растворов.

## Эксперимент

В качестве исследуемых веществ использовали кверцетин (Merck),  $C_{15}H_{10}O_7$ , 7,5,3,3',4'-пентаоксифлавоон (IUPAC), молекулярная масса  $M = 302,24$  г/моль.



В работе использовали высокоосновные анионообменники АВ-17-2П - 2 % ДВБ; АВ-17-6М - 6 % ДВБ. [7].

Сорбцию кверцетина изучали из водно-этанольных растворов (объемная доля этанола составляла 70%) с концентрациями от  $1.0 \cdot 10^{-3}$ - $1.00 \cdot 10^{-2}$  моль/л. Зависимость количества сорбированного кверцетина во времени изучали методом ограниченного объема [7]. Основные условия проведения опытов:  $V_{p-ра} \gg V_{смоля}$  и хорошо перемешиваемый раствор. Сорбцию кверцетина из водно-этанольных рабочих растворов кверцетина изучали на предварительно подготовленных анионитах АВ-17-6М, АВ-17-2П в Cl- и OH-формах в статических условиях. Количество сорбированного флавоноида рассчитывали по убыли концентрации кверцетина в равновесном растворе. Для работы использовали фракцию зёрен размером  $d_{cp} = 0,375$  мм. Масса навески анионитов АВ-17-2П, АВ-17-6М, составляла 0,5000 г. С сорбентом контактировало 50.00 мл водно-этанольного рабочего раствора кверцетина (этанол 70%) известных концентраций от  $1.0 \cdot 10^{-3}$ - $1.00 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

Спектрофотометрическое определение кверцетина проводили на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 343 нм, с толщиной поглощающего слоя 1,00 см. Концентрацию флавоноида в контактирующем растворе определяли методом градуировочного графика.

Изучение механизма массопереноса веществ с учетом межмолекулярных взаимодействий в гетерогенных многокомпонентных системах «ионит-растворитель-вещество» проводили методом ИК-спектроскопии и электронной микроскопии на спектрометре с Фурье преобразованием «Инфралюм ФТ-02» и Bruker Vertex-70» в области волновых чисел  $4000$ - $400$   $cm^{-1}$  и сканирующем электронном микроскопе Jeol JSM -6380 LV соответственно. Обработку ИК-спектров проводили в программе Grams 32/4. Спектры представляли в координатах  $A_{\nu}/A_{2924}$  от  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ), проводя нормировку на интенсивность полосы ( $2924$   $cm^{-1}$  – валентные колебания СН-группы). Электронные микрофотографии поверхности гранул используемых ионообменников снимали с кратностью увеличения 1:1000, что позволяло изучать поверхность ионообменников размером до 10 мкм.

## Результаты и их обсуждение

Использование ионообменных материалов часто представляется как ионообменное разделение. Однако, в ряде случаев ионообменники, обладающие полярными



функциональными группами способны поглощать вещества не только за счёт реакций ионного обмена, но и необменно за счёт ион-дипольных, диполь-дипольных и дисперсионных взаимодействий. Сорбцию кверцетина из водно-этанольных рабочих растворов изучали в статических условиях на предварительно кондиционированных и переведённых в СI- и ОН-форму анионитах АВ-17-6М, АВ-17-2П. Изотермы сорбции для всех рассматриваемых ионитов представлены на рис.1 (1, 2, 3, 4).

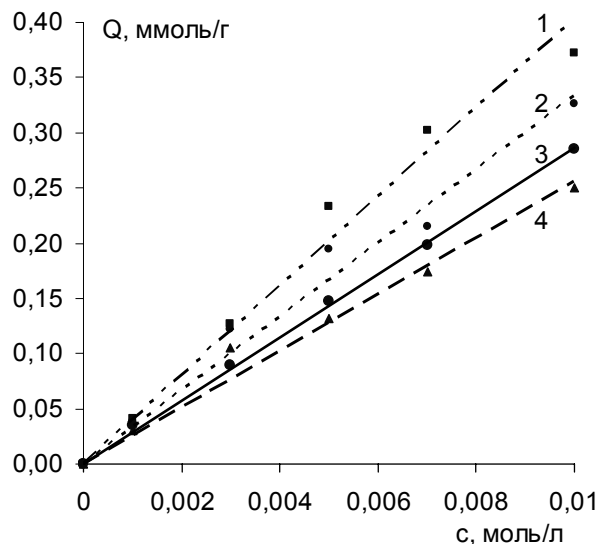


Рис. 1. Зависимость количества поглощенного кверцетина анионитами АВ-17-2П ОН-форма (1) АВ-17-6М ОН-форма (2) АВ-17-6М СI-форма (3), АВ-17-2П СI-форма (4) от концентрации исходного раствора в статических условиях

Как видно из рисунка, изотермы имеют линейный вид, что характерно для распределительных вариантов хроматографии, обуславливающих большее средство одной из фаз по отношению к сорбируемому веществу. В данном случае для оценки необменного поглощения можно использовать константу распределения:

$$K_p = \frac{Q}{C}, \quad (1)$$

где  $Q$  – количество сорбированного вещества на 1 г ионообменника (ммоль/г),  $C$  – концентрация вещества в растворе (моль/л).

Равновесие в системе “сорбент - раствор кверцетина” устанавливается в течение 24-48 часов в зависимости от ионообменника и в течение 6-7 последующих суток практически не изменяется. Прямолинейный вид изотермы сорбции позволил рассчитать для оценки селективности сорбции кверцетина - коэффициент распределения, который в водно-этанольных средах достигает  $K_p=32$  на обоих анионитах АВ-17-2П и АВ-17-8 в ОН-форме  $K_p=32$ ; на анионитах АВ-17-2П и АВ-17-8 в СI-форме  $K_p=30$  и 24 соответственно.

При описании и моделировании ионообменного разделения и выделения веществ с использованием ионообменных материалов необходимо знание кинетических параметров сорбции флавоноидов. Кинетические кривые были получены методом ограниченного объёма [7]. Анализ кривых показывает, что сорбция кверцетина на ОН-форме протекает с большей скоростью, чем на хлоридной форме. Для всех рассматриваемых анионитов уже к 200 минутам поглощение кверцетина достигает 0,2 ммоль/г. В то время как на СI-форме поглощение достигает 0,1 ммоль/г только через 400 минут с момента контакта ионообменников с растворами флавоноида рис.2 (1, 2, 3, 4).

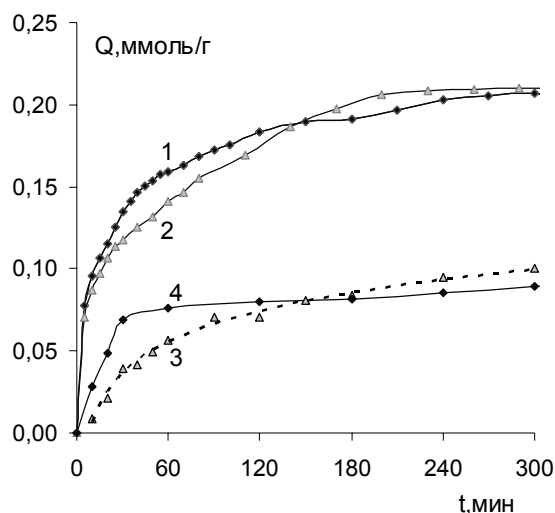


Рис.2. Кинетические кривые сорбции кверцетина анионитами АВ-17-2П ОН-форма (1) АВ-17-6М ОН-форма (2) АВ-17-6М Сl-форма (3), АВ-17-2П Сl-форма (4)

Поглощение кверцетина меняет свой характер в зависимости от типа ионообменника. На пористом анионите АВ-17-2П протекает с большей скоростью, особенно в начальные моменты времени (до 50 минут контакта). Это может быть связано с высокой проницаемостью ионита по отношению к объемным молекулам кверцетина. Изменение механизма массопереноса флавоноида на макропористом АВ-17-6М может обуславливать изменение вида кинетической зависимости. Сорбция кверцетина значительно замедляется на конечных стадиях обмена.

Количественные характеристики относительной скорости сорбции флавоноидов можно охарактеризовать в рамках теоретических основ кинетики ионного обмена. Однако в большинстве работ по сорбции органических молекул ионообменными материалами отмечается ограниченность применения теоретических положений, разработанных для обмена ионов малого размера [8,9,10]. Многие трудности вызываются очень медленной скоростью достижения ионообменного равновесия. Поглощение органических молекул сопровождается рядом дополнительных неоионообменных взаимодействий.

Наиболее изученной является кинетика ионообменной сорбции минеральных ионов. Впервые количественно кинетику ионного обмена на сульфокатионитах рассматривали Бойд с соавторами [11] для обмена изотопов. Ими было отмечено, что ионы способны перемещаться, подчиняясь законам диффузии.

Второй закон Фика:

$$\frac{\partial \bar{c}_i}{\partial t} = -\bar{D}_i \operatorname{divgrad} \bar{c}_i \quad (2)$$

Решение уравнения (1) имеет вид:

$$F = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\exp(-n^2 Bt)}{r_o^2} \quad (3)$$

Здесь

$$B = \pi^2 \frac{\bar{D}}{r_o^2} \quad (4)$$

$$F(t) = \frac{Q_t}{Q_{\infty}}, \quad (5)$$

где  $Q_t$  и  $Q_{\infty}$  - количество вещества, поглощенное ионитом к данному моменту времени и предельное.

Применение диффузионных законов для описания скорости ионообменных процессов приводит к необходимости следующих допущений:

- фаза ионообменника рассматривается как квази-гомогенный гель;
- отсутствует конвективный массоперенос;
- градиенты коэффициентов активности не рассматриваются;
- индивидуальные коэффициенты диффузии предполагаются постоянными;
- предполагается возникновение локального равновесия между ионообменником и раствором на участке поверхности.

После этого появляется много работ, в которых делается попытка применить теорию Бойда-Адамсона-Майерса к более сложным системам обмена ионов и молекул. Однако использование подобного подхода для сорбции органических ионов и молекул не всегда позволяет получать адекватные результаты.

Как было отмечено в работе [12] при выводе уравнений, описывающих кинетику ионного обмена, вводится целый ряд предположений:

- пренебрегают ассоциацией фиксированных ионов и противоионов,
- изменением набухания в процессе обмена,
- градиентами коэффициентов активности.

Так в случае внутридиффузионной («гелевой») кинетики наибольшее значение имеют эффекты внутри ионита. Если при поглощении минеральных ионов в сильнокислотных и высокоосновных ионообменниках явление ассоциации оказывает небольшое влияние, то при сорбции органических молекул роль межмолекулярных взаимодействий возрастает.

При этом следует говорить о нескольких параллельно протекающих процессах:

1. Ионный обмен (ион-ионные взаимодействия).
2. Протолитические процессы (изменение ионных форм сорбируемых веществ).
3. Межмолекулярные взаимодействия (ассоциация).
4. Связанные с протолизом процессы с участием молекул растворителя, сольватация

а) сорбата и б) сорбента.

5. Как следствие пункта 4б необходимо учитывать набухание ионообменников при сорбции веществ.

Перечисленные эффекты количественно практически не учитываются и рассматриваются только качественно. Часто это связано с недостатком экспериментальных данных.

Для расчета коэффициентов диффузии флавоноидов необходимо знание наиболее медленной стадии ионообменного процесса. Известно, что существуют несколько стадий лимитирующих массоперенос в системе ионообменник-раствор. Хорошо известны и математически описаны модели внутри- и внешне-и смешаннодиффузионной и химической кинетики. По литературным данным сорбция органических веществ ионообменными материалами лимитируется внутренней диффузией. Одним из критериев, которые могут служить надежным признаком отнесения к одному из типов кинетики является вид зависимостей в координатах  $F$  от  $(t)^{1/2}$ , и  $-\ln(1-F)$  от  $t$ . Как отмечено в работах Бойда и Самсонова [8,9], линейность первой зависимости при малых степенях заполнения может быть удовлетворительной характеристикой для того, чтобы отличить внешне- от внутрине диффузионной кинетики. В нашем случае имеет место линейная зависимости  $F$  от  $(t)^{1/2}$  для всех используемых ионообменников при степенях завершенности процесса около 0,05, что может указывать на внутридиффузионное лимитирование процесса сорбции [8]. Линейность же второй зависимости  $-\ln(1-F)$  от  $t$  может указывать на внешнедиффузионный механизм, либо химическую кинетику. Нелинейность же кривых в указанных координатах позволяет полагать, что общее лимитирование процесса сорбции не связано с химической и внешнедиффузионной кинетикой [8].

Отнесение кинетических кривых к одному из типов кинетики позволяет рассчитывать по экспериментальным кривым эффективные коэффициенты диффузии, представляющие собой кинетические коэффициенты, учитывающие как диффузионные особенности транспорта молекул в сорбционной системе, так и параллельно протекающие

процессы набухания ионообменника, протолиза, сольватации сорбата. Действительно использование  $D_{\text{эфф}}$  в качестве энергетических характеристик достаточно сомнительно, но эффективные коэффициенты диффузии могут служить в качестве характеристик сорбции флавоноидов в данной системе. При малых заполнениях ( $F(t) < 0,05$ ) удобно пользоваться приближёнными выражениями для функции  $F(t)$ , полученным без учёта кривизны границы диффузионной области [8]. Внутридиффузионное лимитирование процесса сорбции кверцетина позволяет рассчитывать величины эффективных коэффициентов диффузии по уравнениям[8,9]:

$$D = \frac{F^2 \cdot r_0^2 \cdot \pi}{36 \cdot t} \quad (\text{см}^2/\text{с}) \quad (6)$$

Посчитанные величины эффективных коэффициентов диффузии представлены на рис.3

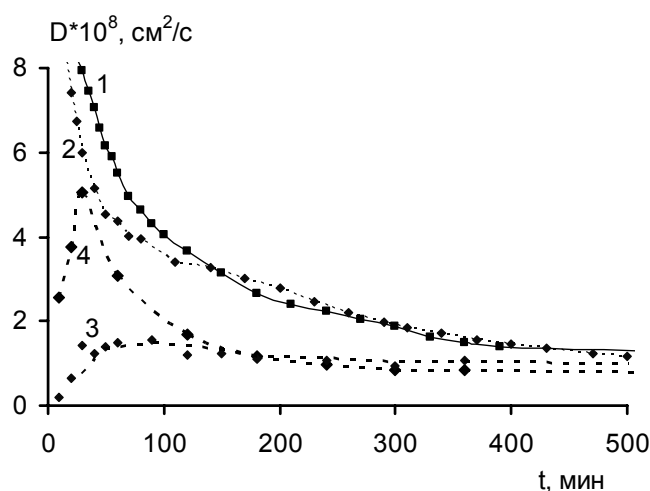


Рис.3. Зависимости эффективных коэффициентов диффузии от времени для сорбции кверцетина на АВ-17-2П (1), АВ-17-6М (2) в ОН -форме, АВ-17-2П (3), АВ-17-6М (4) в СI-форме при  $Q=Q_{\text{eq}}$ .

Коэффициенты диффузии кверцетина на анионите АВ-17-2П не постоянны и имеют максимальное значение в начальные моменты сорбции. Поглощение же кверцетина анионом АВ-17-6М имеет одинаковый порядок величины коэффициента диффузии и он остается постоянным в ходе всей сорбции. Сопоставление результатов сорбции в статических условиях и кинетических параметров указывает на то, что сорбция на макропористом анионите с 2% ДВБ и на анионите с 6% ДВБ имеет различный механизм массопереноса. В первом случае наблюдается значительное поглощение в первые моменты контакта. В дальнейшем при насыщении анионита кверцетином массоперенос замедляется. Для анионообменника АВ-17-6М насыщение флавоноидом протекает с приблизительно постоянной скоростью. Анализ кривых сорбции кверцетина во времени указывает на различия, как в количестве поглощаемого флавоноида, так и характере массопереноса. Можно полагать, что подобная особенность сорбции связана с затруднением транспорта вещества в фазе сорбента в начальный момент времени. Расчёт эффективных коэффициентов диффузии показал, что если в процессе сорбции кверцетина на анионите пористом анионообменнике АВ-17-2П  $D_{\text{эфф}}$  снижаются и имеют порядок  $10^{-8} - 10^{-9} \text{ см}^2/\text{с}$ , то поглощение флавоноида анионом АВ-17-6М сопровождается ростом коэффициента диффузии с одной стороны и минимальным значением с другой. Подобная закономерность связана с изменением пористости сорбента: АВ-17-6М при большем процентном содержании кросс-агента характеризуется меньшими коэффициентами диффузии в начальные моменты контакта раствора с сорбентом. В процессе сорбции в отличие от выше названных сорбентов происходит увеличение объема пор ионообменника, что сопровождается увеличением проницаемости. Можно полагать, что набухание

ионообменника может положительно влиять на увеличение пор в ионите и, как следствие, обуславливать рост коэффициентов диффузии флавоноида.

Для уточнения механизма сорбции кверцетина анионитами в нашей работе исследовались образцы анионообменников АВ-17-2П и АВ-17-6М до и после сорбции кверцетина методом просвечивающей электронной микроскопии.

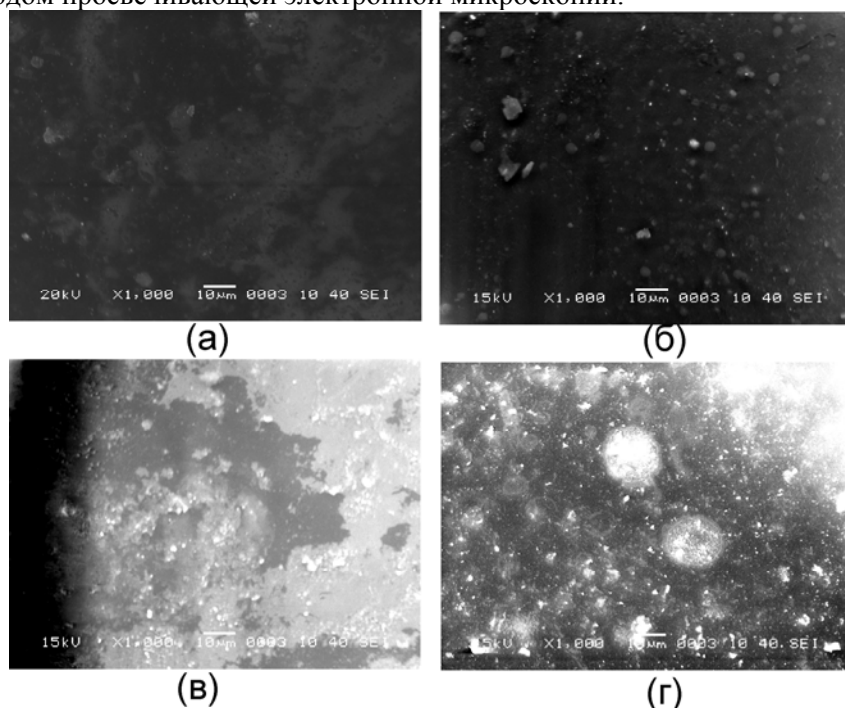


Рис.4. Микрофотографии образцов анионитов АВ-17-2П и АВ-17-6М до (а, б), и (в, г) после сорбции кверцетина (разрешение 10 мкм, увеличение 1000)

На рис.4 (а,б) приведены электронные микрофотографии анионитов до сорбции, которые представляют собой однородные поверхности без каких-либо четких образований. Вид фотографий гранул ионообменника (10000-кратное увеличение) после контакта с растворами кверцетина при исследовании методом электронной микроскопии значительно меняется (рис.4 в, г). Микрофотография анионита АВ-17-2П (рис.4 в) указывает на то, что кверцетин в основном концентрируется внутри пор сорбента и распределен по носителю неравномерно. Россыпь белых пятен на поверхности ионообменника при визуальном рассмотрении поверхности анионита АВ-17-6М (рис. 4 г) представляет собой микрокристаллические образования кверцетина. В данной системе при внутридиффузионном лимитировании процесса молекулы кверцетина образуют на поверхности сорбента межмолекулярные ассоциаты. С одной стороны проявляется большее сродство анионита по отношению к флавоноидам, о чем свидетельствуют величины коэффициентов распределения  $K_p$ . Молекулы сорбата стремятся перейти в фазу, обладающую большим сродством по отношению к молекулам кверцетина. С другой стороны диффузионные затруднения приводят к локальному пересыщению растворов и частичной кристаллизации на поверхности ионообменника. Явление пересыщения в фазе катионообменника ранее уже было отмечено в работах Муравьева [13] и Селеменова [14]. Молекулы кверцетина не успевают диффундировать в фазу ионообменника, а образуют ассоциаты на поверхности сорбента.

Сопоставление данных по кинетике сорбции и для анионита АВ-17-2П в меньшей степени проявляется внутридиффузионное лимитирование, особенно на начальных этапах. Наличие объемных пор в анионите АВ-17-2П приводит к преимущественному переносу флавоноидов в фазу сорбента без заметной кристаллизации на границе раздела раствор-ионит.

Различие в механизмах массопереноса не позволяет раскрыть природу межмолекулярных взаимодействий с участием функциональных групп сорбента, полярных

групп сорбата, а также возможность проявления гидрофобных взаимодействий, приводящих в перераспределению растворителя в контактирующих фазах. Известно, что большую роль при сорбции органических молекул ионообменными материалами могут иметь ион-ионные, ион-дипольные, диполь-дипольные, дисперсионные взаимодействия, предполагающие взаимодействие различных групп молекул сорбата, функциональных групп сорбента и молекул растворителя [4,15]. Подобные взаимодействия могут приводить к изменению как длины связи в контактирующих молекулах, так и изменение содержания растворителя, энергии водородных связей. Сравнение ИК-спектров сорбента, сорбата и ионита, насыщенного флавоноидом, позволило сделать заключение о механизме удерживания и характере взаимодействий в системе ионит-растворитель-флавоноид. На рис.5. представлены ИК-спектры образцов кверцетина (1), анионитов АВ-17-2П (2) и АВ-17-6М (3), и сорбентов после сорбции флавоноида (4), (5). Анализ ИК-спектров анионита показывает, что после сорбции флавоноида присутствуют полосы кверцетина при 1268, 1451 ( $\delta$  C-H), 1604 ( $\nu$  C=C), 1666  $\text{см}^{-1}$  ( $\nu$  C=O), валентные и деформационные колебания групп флавоноида. Наряду с появлением полос флавоноида происходит снижение полос поглощения колебаний ОН-групп растворителя. Данный факт указывает на уменьшение содержания растворителя в фазе сорбента. Дегидратация ионообменника может быть связана с насыщением сорбента гидрофобным кверцетином, вытесняющим воду и заполнением поры. Можно говорить о необменном поглощении кверцетина. Как отмечено в работе [4,15], в ИК-спектрах 5-оксифлавона смещение полос  $\nu_{\text{C=O}}$  в область меньших волновых чисел связано с образованием внутримолекулярной связи 5-оксигруппы и карбонильной группы флавоноида. На ИК-спектрах кверцетина данная полоса при волновом числе 1666  $\text{см}^{-1}$ . Валентные колебания карбоксильной группы при указанной частоте характерны для 5-оксипроизводных, в которых образуется внутримолекулярная связь 5-оксигруппы и карбонильной группы. Положение данной полосы не меняется при сорбции кверцетина, то есть можно говорить, что не происходит изменений в карбонильной связи. Подобный факт может указывать на то, что не наблюдается изменений в структуре кольца А молекулы кверцетина, в том числе не происходит разрушения молекул, которое можно было бы ожидать в щелочной среде. Наряду с появлением полос поглощения кверцетина на спектрах анионообменника после сорбции флавоноида, происходит изменения в структуре функциональных групп ионита. На спектре анионита АВ-17-6М после сорбции кверцетина (рис.5, спектр 5) снижается интенсивность полос при 1401, 1430  $\text{см}^{-1}$ , появляется полоса при 1580  $\text{см}^{-1}$ . Отмеченные полосы относятся к  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3 \dots \text{OH}$  группам. Можно полагать, что данные изменения в виде спектра анионита связано с ионообменным поглощением кверцетина. Однако в спектрах остаются полосы при 3445 ( $\nu_{\text{OH}}$  в  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3 \dots \text{OH}$ ) 1634  $\text{см}^{-1}$  ( $\delta$  OH), 975 (внеплоскостные колебания ОН-групп в  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3 \dots \text{OH}$ ), указывающие на сохранение части функциональных групп в исходном состоянии, не участвующих в фиксации молекул кверцетина.

Сорбция флавоноида происходит за счет необменного поглощения с образованием водородных связей с участием оксигрупп кверцетина. Как было показано выше, поглощение кверцетина анионообменниками АВ-17-6М и АВ-17-2П характеризуется различными эффективными коэффициентами диффузии в фазе ионита. Отмеченный характер изменения кинетических параметров указывает на изменение механизма массопереноса, а также закрепления молекул в фазе ионита. Как и в случае поглощения кверцетина на анионите АВ-17-6М, на АВ-17-2П имеет место снижение интенсивности полос 1634, 1651  $\text{см}^{-1}$ , относящихся к деформационным колебаниям ОН-групп воды. Таким образом, происходит ее вытеснение из анионообменника в процессе массопереноса кверцетина. Абсорбционные полосы при 1487  $\text{см}^{-1}$  можно отнести к деформационным колебаниям метиленовой группы [4] в  $-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \dots \text{OH}^-$ . Поглощение кверцетина на анионите АВ-17-2П приводит к смещению данной полосы в коротковолновую область (до 1475  $\text{см}^{-1}$ ) и появлению полосы в области 1433-1428  $\text{см}^{-1}$ . Возникновение новых полос поглощения в области 1450-1400  $\text{см}^{-1}$  при наличии группировки  $-\text{CH}_2-\text{N}^=$  указывает на переход от амина к его солевой форме.

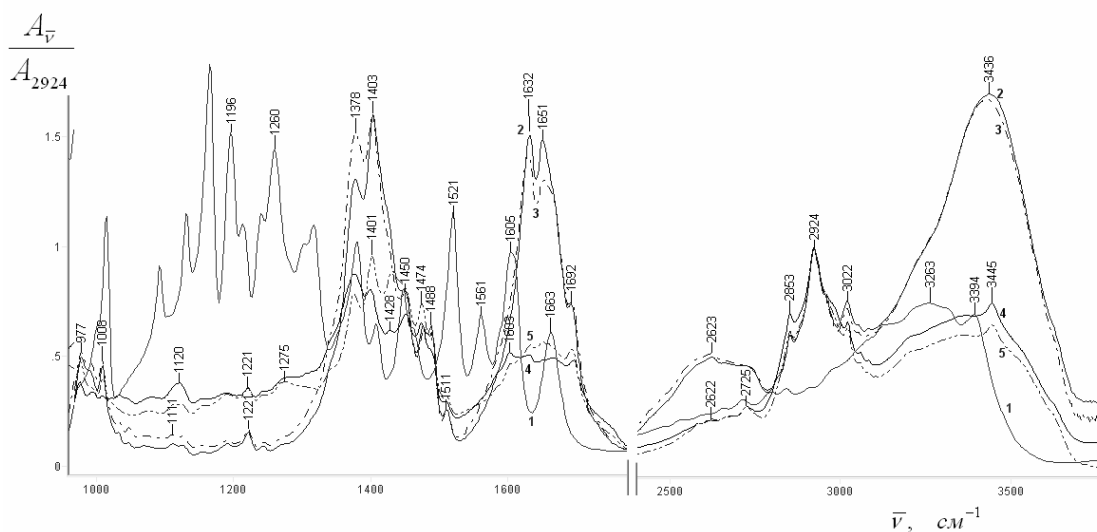


Рис.5. ИК-спектры кверцетина (1), образцов анионита АВ-17-2П (2), АВ-17-6М (3), образцов анионита АВ-17-2П (4), АВ-17-6М (5) после сорбции кверцетина

То есть можно говорить о протекании ионообменного закрепления кверцетина за счет ионных взаимодействий солевой формы функциональной группы анионита и аниона кверцетина. Сравнение ИК-спектров анионообменников АВ-17-2П и АВ-17-6М показывает, что интенсивности полос при  $1604\text{ см}^{-1}$  ( $\nu\text{ C=C}$  кверцетина) и  $1632, 1651\text{ см}^{-1}$  ( $\delta\text{ OH}$  растворителя) взаимосвязаны при сорбции флавоноида. Увеличение интенсивности полос при  $1604\text{ см}^{-1}$  (сорбция на АВ-17-2П) сопровождается относительным уменьшением абсорбционных максимумов при  $1632, 1651\text{ см}^{-1}$ . Можно полагать, что увеличение содержания кверцетина в фазе ионита сопровождается вытеснением воды и этанола из сорбента, что увеличивает возможность как необменного закрепления, так и реализацию ион-ионных взаимодействий. Действительно, АВ-17-2П, являясь пористым сорбентом, может подвергаться десольватации в присутствии кверцетина в большей степени, чем АВ-17-6М. Аналогичные выводы можно сделать при рассмотрении спектров рассматриваемых сорбентов в области валентных колебаний ОН-групп. Интенсивность полос при  $1433\text{ см}^{-1}$  (сорбция кверцетина на АВ-17-6М) и  $1428$  (АВ-17-2П) выше в случае поглощения первым сорбентом. Макропористая структура АВ-17-6М и протекание сорбции с меньшей скоростью на фоне сохранения части растворителя в фазе сорбента обуславливает снижение возможности ионообменного закрепления. Данный факт указывает на то, что ион-ионный механизм взаимодействий в большей степени лимитируется присутствием растворителя и меньшей скоростью ее вытеснения.

Таким образом, в настоящей работе изучена сорбция кверцетина на анионитах различной пористости в ОН- и СI-форме и рассмотрен механизм взаимодействия кверцетина с используемыми анионообменниками. Показано, что сорбция флавоноида из водно-этанольных растворов представляет собой многостадийный процесс, предполагающий перераспределение сорбата между двумя контактирующими фазами. Сорбция характеризуется линейными изотермами сорбции, что свойственно распределительному варианту хроматографии. Анионообменники АВ-17-2П и АВ-17-6М в СI<sup>-</sup> и ОН<sup>-</sup>-формах избирательно поглощают флавоноиды из водно-этанольных растворов с величинами коэффициентов распределения от 28 до 34. Однако стоит отметить медленную кинетику массопереноса флавоноидов в сорбционной системе, что, однако, характеризует большинство объемных органических молекул. Неоднозначна зависимость эффективных коэффициентов диффузии от степени завершенности процесса. При низких степенях завершенности процесса на пористом анионите  $D_{\text{эфф}}$  значительно больше, чем при сорбции кверцетина на ионите с большим содержанием сшивающего агента, снижающего объем пор. В свою очередь увеличение диффузионных затруднений приводит к частичной

кристаллизации флавоноита на поверхности АВ-17-6М в отличие от его сорбции в объеме ионита с 2% содержанием дивинилбензола.

*Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых и ведущих научных школ (код проекта МК-1314.2005.3), а также Германской службы академических обменов (DAAD) и Министерства образования и науки РФ (РНП.2.2.2.3.9621).*

### Список литературы

1. Plant Flavonoids in Biology and Medicine. II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties. Progress in Clinical and Biological Research, vol. 280, ed. Cody, V., Middleton, E., Harborne, J. B., and Beretz, A., Alan R. Liss, New York, 1988.
2. Яшин А.Я., Яшин Я.И. Определение природных полифенольных соединений в пищевых продуктах, напитках и лекарственных формах ВЭЖХ с амперометрическим детектированием. // Всероссийский симпозиум. Тез. докл. Москва, 15-19 марта 2004 . 208 с.
3. Дурмишидзе С.В. Флавоноиды и оксикоричные кислоты некоторых представителей дикорастущей флоры Грузии. Тбилисси: Мецнибебра, 1981. сс. 5-177.
4. Георгиевский Е.П., Рыбаченко А.И., Казаков А.Л.. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. Ростов: Изд-во Ростовского университета, 1988. 143 с.
5. Кокотов Ю.А., Пасечник В.А. Равновесие и кинетика ионного обмена. Ленинград: Химия, 1970. 336 с.
6. Кокотов Ю.А., Золотарева П.П., Елькин. Г.Э. Теоретические основы ионного обмена. Ленинград: Химия, 1986. 280 с.
7. Селеменов В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю и др. Практикум по ионному обмену. Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2004. 160 с.
8. Самсонов Г.В., Тростянская Е.В., Елькин Г.Э. Ионный обмен. Сорбция органических веществ. Ленинград: Наука, 1969. 336 с.
9. Бойд Г.Е., Адамсон А.В., Майерс. Л.С. Хроматографический метод разделения ионов. Москва: Химия, 1949. 333-370 с.
10. Карпов С.И., Кузьминых В.А., Матвеева М.В., Селеменов В.Ф., Олейникова Ю.А.. Определение кинетических параметров сорбции ароматических аминокислот сульфокатионитом КУ-2-8// Сорбционные и хроматографические процессы. 2003. Т. 3. Вып. 6 . С. 688-698.
11. Boyd G.E., Adamson A.W., Meyers L. Exchange adsorption of ions from aq. solutions by org. zeolites. II. Kinetics//J.Am.Chem. Soc. 1947. V.69. P.2836.
12. Гельферих Ф. Иониты. М.: ИЛ, 1962. 490 с.
13. Д.Н. Муравьев, О.Н. Обрезков. Исследование сверхэквивалентной сорбции цвиттерлитов// Журн. физ. химии. 1986. Т. 60, № 2. С.396-400.
14. Селеменов В.Ф., Загородний А.А., Полупанов Н.В. и др. Ионообменное изотермическое пересыщение на анионите АВ-17-2П// Журн. физ. химии. 1986. Т.60, № 6. С.1461-1464.
15. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. Практическое руководство. Перевод с английского канд. хим. наук Н.Б. Куплетской и Л.М. Эпштейн под ред. Кан. Хим. Наук А.А. Мальцева. Москва: Мир, 1965.





## Закономерности взаимодействия алифатических аминокислот с водой

Черенкова Ю.А., Котова Д.Л., Крысанова Т.А., Селеменев В.Ф.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Выявлены закономерности процесса поглощения воды с кристаллами алифатических аминокислот. Установлено, что различия в гидратационной способности соединений и характере поглощения воды определяются доступностью структуры аминокислоты для проникновения молекул растворителя, природой бокового радикала и активностью реакционных центров. Установлен количественный ряд гидратации исследуемых аминокислот. Определены изопиестические моляльности растворов  $\beta$ -аланина ( $\beta$ -Ala) и L-аргинина (Arg), а также выявлена линейная зависимость активности воды от концентрации аминокислоты. Дана оценка свободной энергии Гиббса взаимодействия воды с аминокислотами

### Введение

Аминокислоты, имеющие в своей структуре разнообразные центры гидратации, к которым следует отнести заряженные и полярные группы, сопряженную  $\pi$ -систему макрокольца для ароматических и гетероциклических аминокислот, представляют собой хорошую модель для изучения межмолекулярных взаимодействий в гомогенных и гетерогенных системах с участием воды. Целый ряд теоретических и экспериментальных данных указывает на то, что имеются значительные различия в характере структурных изменений воды в результате проявления эффектов гидрофильной и гидрофобной гидратации [1-5]. Взаимосвязь количественных характеристик гидратации аминокислот с их строением и растворимостью может быть установлена при исследовании закономерностей взаимодействия воды с твердыми образцами аминокислот, различающихся размером и строением бокового радикала [6-8]. В данной работе представлены результаты изопиестического исследования закономерности взаимодействия воды с твердыми образцами алифатических аминокислот, различающихся длиной и строением бокового радикала.

### Эксперимент

В качестве объектов исследования выбраны алифатические аминокислоты фирмы "Reanal" (Венгрия): нейтральные аминокислоты - глицин (Gly),  $\beta$ -аланин ( $\beta$ -Ala), L-валин (Val), DL-лейцин (Leu), L-изолейцин (Ile); гидроксиаминокислота - DL-треонин (Thr); серосодержащая аминокислота - DL-метионин (Met); полуамиды кислых аминокислот - L-аспарагин (Asn) и L-глутамин (Gln); и основная аминокислота - L-аргинин (Arg). Данные по

гидратационным свойствам DL- $\alpha$ -аланина ( $\alpha$ -Ala), серина (Ser), цистина (Cys-Cys), цистеина (Cys), L-аспарагиновой (Asp) и L-глутаминовой (Glu) кислот и L-лизина (Lys) взяты из литературы [9,10].

Изучение закономерности взаимодействия воды с твердыми образцами аминокислот проводили методом изопиестирования при температуре  $295 \pm 1\text{K}$  в интервале активности паров воды ( $a_w$ ) 0,110 – 0,990. Аминокислоты приводили в изопиестическое равновесие с насыщенными растворами солей, для которых известна активность молекул воды в паре [11]. Аппаратура, используемая для изопиестических измерений, представляла собой вакуумный эксикатор, снабженный рядом дополнительных устройств, обеспечивающих циркуляцию паров растворителя в эксикаторе, выравнивание температур. Твердые образцы аминокислот помещали в бюксы, эксикатор закрывали массивной крышкой и ставили в термостат до установления равновесия в системе. Время, в течение которого устанавливалось изопиестическое равновесие в системе вода – аминокислота, зависело от активности растворителя и составляло от 2 до 80 суток. Контроль над достижением равновесия и определение количества поглощенной воды осуществляли методом гравиметрии по изменению массы препарата. В качестве критерия достижения равновесия служило установление постоянной массы образца, а в случае образования раствора аминокислоты – сходимости концентраций для серии из пяти параллельных измерений в идентичных условиях проведения эксперимента. Представленные в работе экспериментальные результаты обработаны методами математической статистики при доверительной вероятности 0,95 с привлечением критерия Стьюдента. Воспроизводимость результатов –  $S_r = 4,42 \cdot 10^{-3}$ .

В качестве контрольного метода применяли ИК-спектроскопию. ИК-спектры снимали для твердых исходных образцов исследуемых аминокислот и аминокислот, содержащих определенное количество молекул воды. Гарантией того, что условие равновесия сохраняется в системе аминокислота – вода в течение подготовки и снятия спектров являлось постоянство массы образца, содержащего определенное количество растворителя в течение одного часа после достижения равновесия в системе вода – аминокислота. ИК-спектры регистрировали на спектрометре “Specord 75-IR” в интервале частот 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Ошибка метода составляла 1-3%. Для расшифровки ИК-спектров использовали литературу [12,13].

## Обсуждение результатов

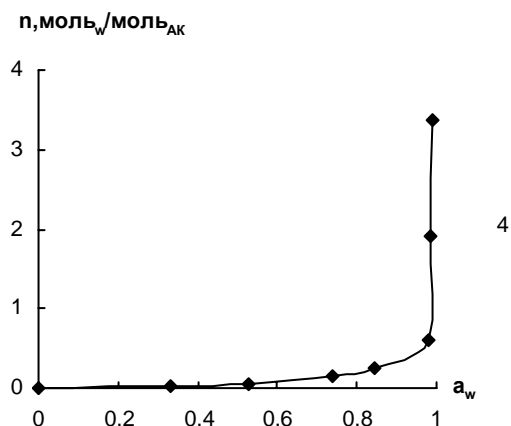
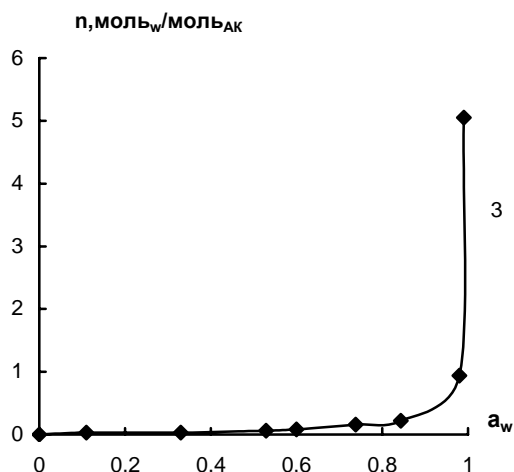
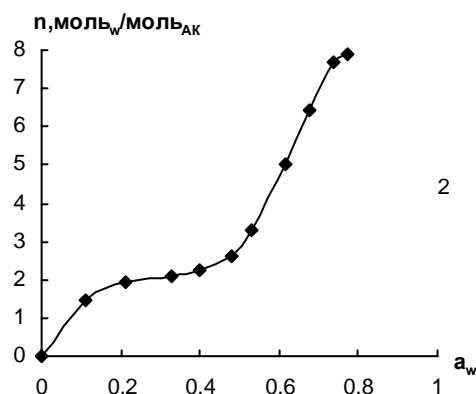
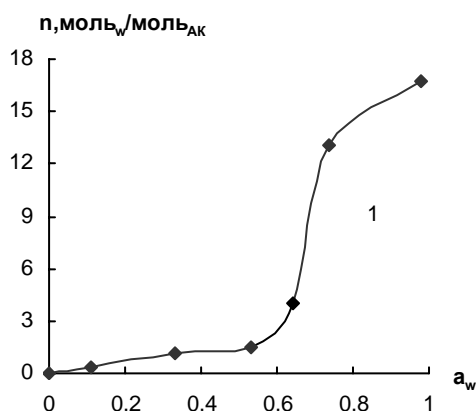
Экспериментально установлено, что изолейцин, метионин, аспарагин и глутамин взаимодействуют с растворителем только при его высокой активности ( $a_w > 0,980$ ). Количество поглощенной воды при  $a_w = 0,990$  для Ile, Met, Asn и Gln составляет 0,11, 0,09, 0,23 и 0,37 моль<sub>w</sub>/моль<sub>ак</sub> соответственно. По данным ИК-спектроскопии присутствие незначительного количества растворителя в структуре этих аминокислот приводит к появлению полосы поглощения в области 3590 – 3650  $\text{cm}^{-1}$ , характеризующей наличие несвязанной ОН-группы.

Известно, что кристаллическая решетка аминокислот образована биполярными ионами, или цвиттер-ионами, то есть  $\text{H}^+$  карбоксильной группы протонирует аминогруппу той же молекулы [14]. Незначительная гидратация Ile, Met, Asp и Gln при высокой активности растворителя свидетельствует об ограниченном взаимодействии молекулярных кристаллов аминокислот с водой. Малая доступность молекул воды к заряженным и полярным группам аминокислот обусловлена насыщением связей  $\text{COO}^-$  и  $\text{NH}_3^+$  за счет внутри- и межмолекулярных образований в их структуре [6]. Наличие на ИК спектрах исследуемых образцов более интенсивных полос поглощения в интервале 3310–3265  $\text{cm}^{-1}$  указывает на значительный вклад в структурную организацию межмолекулярных водородных связей.

На рис.1 приведены изотермы для глицина,  $\beta$ -аланина, валина, лейцина, треонина и аргинина, представляющие собой зависимость количества поглощенных молекул воды

молекулой аминокислоты ( $n_w$ ) от активности растворителя ( $a_w$ ). Экспериментально установлено, что глицин,  $\beta$ -аланин и аргинин взаимодействуют с водой во всем исследуемом интервале  $a_w$ . Для глицина и  $\beta$ -аланина изотермы имеют S-образный вид, наиболее характерный для гидрофильных соединений [15].

В интервале  $a_w$  от 0,110 до 0,350 количество молекул воды, поглощенных глицином, незначительно. Изменение  $a_w$  от 0,350 до 0,643 приводит к возрастанию степени гидратации и при  $a_w = 0,643$  глицин поглощает 4,0 моль<sub>w</sub>/моль<sub>АК</sub>. Присутствие молекул воды в структуре аминокислоты приводит к появлению дополнительных полос поглощения при 3610, 3380 и 2585  $\text{см}^{-1}$ , указывающих соответственно на образование водородных связей в структуре соединения: «вода...вода» вблизи углеводородного радикала аминокислоты,  $\text{NH}_3^+ \dots \text{H}_2\text{O}$  и  $\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$ . При  $a_w > 0,643$  наблюдается резкий рост гидратационной способности Gly. Количество поглощенных молекул воды при  $a_w = 0,980$  составляет 16,7 моль<sub>w</sub>/моль<sub>АК</sub>. Увеличение интенсивности полосы поглощения в области 3440 – 3220  $\text{см}^{-1}$  и смещение ее в коротковолновую область спектра по сравнению с образцом глицина, содержащего 4 молекулы воды, свидетельствуют об образовании ассоциатов «вода - вода» с тремя водородными связями в структуре аминокислоты.



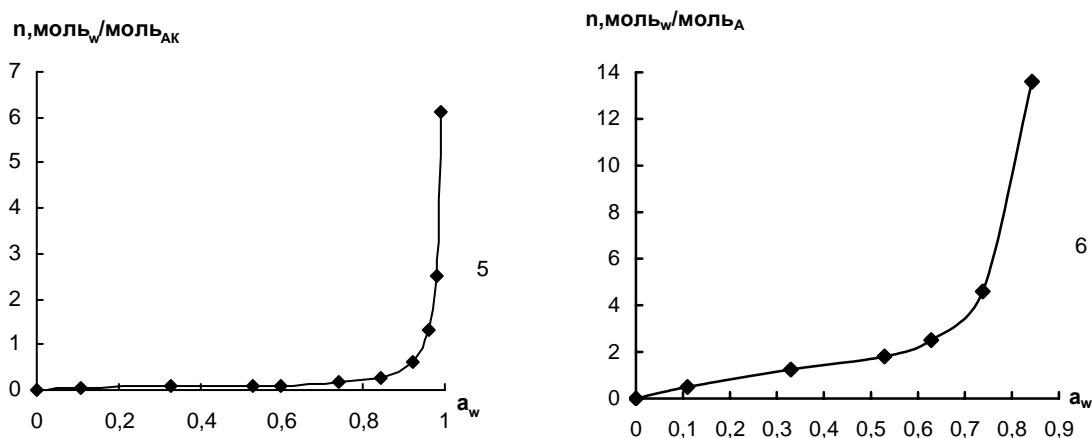


Рис.1. Изотермы поглощения молекул воды аминокислотами при  $T = 295$  К:  
1 – Gly; 2 –  $\beta$ -Ala; 3 – Val; 4 – Leu; 5 – Thr; 6 – Arg

Установлено, что при  $a_w=0,985$  Gly образует насыщенный раствор. Дальнейшее возрастание  $a_w$  приводит к растворению глицина. При активности воды, равной 0,990, образуется раствор аминокислоты с концентрацией 2,46 моль/кг.

$\beta$ -аланин в интервале  $a_w = 0,110 - 0,400$  поглощает 2 молекулы воды. Наличие плато на изотерме в области активности воды 0,220 – 0,410 позволяет предположить, что молекулы воды, внедряясь в кристаллическую решетку аминокислоты, образуют с ней стехиометрические комплексы состава  $\beta$ -Ala $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O [16]. Для дигидрата  $\beta$ -аланина появление полосы поглощения при 3367 см<sup>-1</sup> характеризует образование связи NH<sub>3</sub><sup>+</sup>...H<sub>2</sub>O. Максимум поглощения при 2570 см<sup>-1</sup> относится к колебанию COO<sup>-</sup> – группы, ассоциированной межмолекулярной водородной связью с H<sub>2</sub>O. Наличие полос поглощения при 3590 см<sup>-1</sup> указывает на образование связи H<sub>2</sub>O... H<sub>2</sub>O в структуре аминокислоты. Полоса поглощения при 1649 см<sup>-1</sup> относится к деформационным колебаниям OH-группы воды.

Согласно литературным данным [9], поглощение растворителя  $\alpha$ -аланином по сравнению  $\beta$ -аланином начинается только в области высокой активности воды ( $a_w > 0,940$ ). Большее сродство  $\beta$ -аланина к молекулам воды по сравнению с  $\alpha$ -аланином, вероятно, обусловлено меньшим взаимовлиянием COO<sup>-</sup> - и NH<sub>3</sub><sup>+</sup> - групп в структуре  $\beta$ -Ala, так как аминокислотная группа отделена от карбоксильной группы двумя углеродными атомами, что обуславливает ослабление взаимного притяжения зарядов в цвиттер-ионе [17]. В насыщенном растворе  $\beta$ -аланина активность воды равна 0,810. При  $a_w > 0,810$  аминокислота, взаимодействуя с растворителем, переходит в растворимое состояние.

Установлено, что для валина, лейцина и треонина изотермы имеют форму, выпуклую по отношению к оси абсцисс, что предполагает слабое взаимодействие в системе вода - аминокислота [15]. Поглощение воды цвиттерлитами начинается в области средней активности растворителя ( $a_w=0,643$ ). Дальнейшее повышение активности воды вызывает рост гидратационной способности исследуемых аминокислот. При  $a_w=0,990$  количество поглощенных молекул воды составляет 3,5; 5,2 и 6,5 моль<sub>в</sub>/моль<sub>ак</sub> для лейцина, валина и треонина соответственно. Увеличение длины углеводородного радикала в молекуле Val по сравнению с  $\alpha$ -аланином [9] и в структуре лейцина по сравнению с валином ведет к уменьшению количества поглощенных молекул растворителя в 1,5 раза.

Замещение метильной группы в валине на OH-группу в треонине приводит к увеличению количества поглощенных молекул воды треонином в 1,3 раза в области высокой активности воды. Увеличение длины углеводородного радикала треонина на CH<sub>2</sub>-группу по сравнению с серином [10] проявляется в значительном снижении его гидратационной

способности в области высокой активности воды. Полоса поглощения при  $3240\text{ см}^{-1}$  указывает на участие ОН-группы в образовании связи  $\text{OH}\dots\text{H}_2\text{O}$  в структуре Thr. Серин при  $a_w > 0,975$ , взаимодействуя с водой, переходит в растворимое состояние.

Аргинин, имеющий в боковом радикале дополнительные полярные группы  $\text{NH}_2$  и  $\text{NH}$ , способен к образованию большего числа Н – связей с молекулами воды. Количественно это отражается в резком увеличении числа поглощенных молекул воды аргинином и образовании раствора при  $a_w > 0,850$ . В структуре аргинина на образование водородных связей  $\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NH}\dots\text{H}_2\text{O}$  указывает наличие максимумов поглощения при  $3310$  и  $3180\text{ см}^{-1}$  на ИК-спектре.

Взаимодействие молекул воды с твердыми образцами аминокислот приводит к появлению на ИК-спектрах дополнительных полос поглощения. В области  $3650\text{--}3580\text{ см}^{-1}$  отмечаются полосы поглощения, характеризующие наличие несвязанной ОН-группы воды. Появление максимумов поглощения в диапазоне частот  $3550\text{--}3450$  и  $3400\text{--}3200\text{ см}^{-1}$  указывает на образование связей  $\text{H}_2\text{O}\dots\text{H}_2\text{O}$  в димерах и полиассоциатах соответственно. Деформационные колебания ОН-группы воды проявляются в области  $1650\text{--}1620\text{ см}^{-1}$ . Взаимодействиям  $\text{NH}_3^+\dots\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$  для всех аминокислот отвечают полосы поглощения в интервале частот  $3390\text{--}3360$  и  $2760\text{--}2530\text{ см}^{-1}$ .

Результаты эксперимента и данные, представленные в литературе [9,10], позволили алифатические аминокислоты по их гидратационной способности расположить в следующий ряд:

$\text{Asp} \approx \text{Glu} \approx \text{Met} \approx \text{Ile} < \text{Asn} \approx \text{Cys-Cys} < \text{Gln} < \text{Leu} < \text{Val} < \text{Thr} < \alpha\text{-Ala} < \text{Gly} < \text{Ser} < \text{LysHCl} < \text{CysHCl} < \text{Arg} \approx \beta\text{-Ala}$ ,

который не совпадает с рядом растворимости:

$\text{Cys-Cys} < \text{CysHCl} < \text{Asp} \approx \text{Glu} < \text{Leu} < \text{Asn} < \text{Met} < \text{Gln} < \text{Ile} < \text{Val} < \text{Thr} \approx \alpha\text{-Ala} < \text{Gly} < \text{LysHCl} < \text{Arg} \approx \beta\text{-Ala}$ .

Следует отметить, что лейцин, характеризующийся меньшей величиной растворимости по сравнению с Met, Ile, Asn и Gln, проявляет большее сродство к молекулам воды в области высокой активности растворителя.

Растворение  $\beta$ -аланина и аргинина при взаимодействии с растворителем в области его высокой активности позволило рассмотреть гидратацию аминокислот как процесс, определяющий образование раствора определенной структуры и известного состава. На рис. 2 приведена зависимость активности воды от молярной концентрации аминокислоты. При увеличении молярности раствора от 1,46 до 5,90 моль/кг для  $\beta$ -аланина и от 1,20 до 3,46 моль/кг для аргинина наблюдается резкое снижение активности растворителя под влиянием растворенных молекул аминокислот.

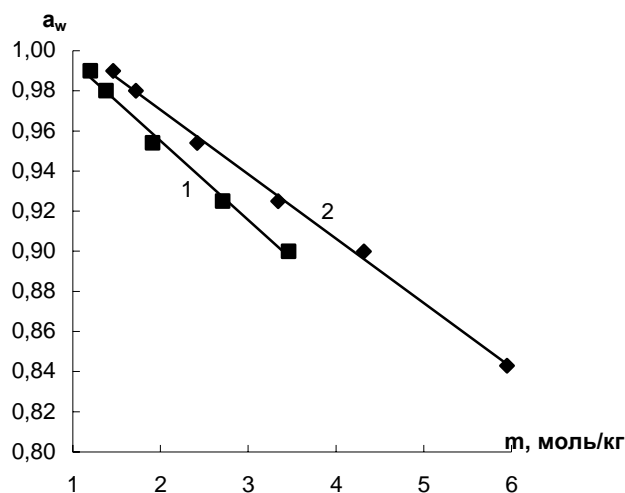


Рис.2. Зависимость активности воды от концентрации аминокислоты:  
1 – Arg; 2 –  $\beta$ -Ala

Из данных по изотермам поглощения воды аминокислотами рассчитаны величины изменения энергии Гиббса ( $\Delta G_{\text{hydr}}$ ) [9] при взаимодействии аминокислоты с одной молекулой воды (таблица 1).

Таблица 1. Изменение свободной энергии Гиббса в процессе взаимодействия одной молекулы воды с аминокислотой

Аминокислота	$-\Delta G_{\text{hydr}}$ , кДж/моль
Gly	10,41
$\beta$ -Ala	4,31
Val	7,23
Leu	1,13
Thr	3,14
Arg	5,66

Изменение энергии Гиббса в процессе взаимодействия молекул растворителя с образцами аминокислот определяет химическое сродство между молекулой воды и активными центрами.

Таким образом, выявлены закономерности взаимодействия воды с твердыми образцами алифатических аминокислот и определены количественные характеристики гидратации, обусловленные доступностью структуры аминокислоты для проникновения молекул воды, природой бокового радикала и активностью реакционных центров.

### Список литературы

1. Абросимов В.К., Агафонов А.В., Чумакова Р.В. и др. Биологически активные вещества в растворах: структура, термодинамика, реакционная способность. М.: Наука, 2001. 403 с.
2. Бирштейн Т.М. Гидрофобные взаимодействия неполярных молекул / Состояние и роль воды в биологических объектах. М., 1967. С.16.
3. Маленков Г.Г. // Журнал структур. химии. 1966. Т.7, №3. С.16.
4. Привалов П.Л. Биофизика. 1968. Вып.1. С. 163-177.
5. Хургин Ю.И., Баранов А.А., Ворбьев М.М. // Изв. АН СССР. Сер.хим. 1995. №11. С.1594-1600.
6. Эрдей-Груз Т. Явления переноса в водных растворах. М., 1982. С. 158.
7. Маленков Г.Г. Структура воды в кристаллогидратах некоторых биологически активных веществ / Состояние и роль воды в биологических объектах. М., 1967. С.41.
8. Есипова Н.Г., Чиргадзе Ю.Н. // Состояние и роль воды в биологических объектах. М., 1967. С.41.
9. Котова Д.Л., Бейлина Д.С., Крысанова Т.А. // Журнал физ. химии. 2004. Т.78, №3. С.458.
10. Котова Д.Л., Виноградова О.А., Калинина Л.М. // Журнал физ. химии. 2002. Т.76, №12. С.2247.
11. Киргинцев А.Н. Очерки о термодинамике водно-солевых систем. Новосибирск: Наука, 1976. 136 с.
12. Наканиси К. Инфракрасная спектроскопия и строение органических соединений. Москва: Мир, 1987. 188 с.
13. Lin Vien, Colthup N.B., Fateley W.G., Grasseli J.G. San Diego: Academic Press, Inc., 1991
14. Якубке Х.Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. Москва: Мир, 1985. 455 с.
15. Грег С., Синг К. Адсорбция. Удельная поверхность. Пористость. Москва: Мир, 1984. С. 306.
16. Савицкая Е.М., Ныс П.С., Брунс Б.П. // Докл. АН СССР. 1965. Т.164, №2. С. 378.
17. Дюга Г., Пенни К. Биоорганическая химия: Химические подходы к механизму действия ферментов. Москва: Мир, 1983. 512 с.



## Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента

Чечета О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

В результате данной работы предложена методика определения  $\beta$ -каротина методом тонкослойной хроматографии, которая может быть использована в фармацевтической, косметологической и пищевой промышленности. Разработанная методика была апробирована на маслах облепихи и шиповника. Методика может найти применение для рутинного анализа растительных масел на предмет фальсификации и каротиноидного состава

### Введение

Каротиноиды, витамины группы А, липофильны, имеют значительное количество двойных связей и являются вследствие этого нестойкими [1].

Анализ каротиноидов, согласно данным литературных источников [1-6], осуществляют, в основном, хроматографическими методами. Метод ВЭЖХ в настоящее время занимает лидирующие позиции в современных научных исследованиях в виду возможности одновременного разделения суммы веществ, присутствующих во всех биологических объектах, а также качественного и количественного определения индивидуальных компонентов. Спектрофотометрия в видимой и УФ-области может быть использована лишь для определения подлинности, степени чистоты и количественной интерпретации индивидуальных веществ группы каротиноидов [7,8] или позволяет установить только их суммарное содержание без достоверной информации о присутствии отдельных соединений [9-11]. Однако, анализ иностранных литературных источников [12-14] показывает, что применение метода производной спектрофотометрии является весьма перспективным, так как позволяет проводить определение каждого индивидуального вещества при их совместном присутствии, исключая сложные процедуры предварительного разделения компонентов.

Значительное внимание уделяется методу ТСХ для разделения и идентификации сложных соединений, таких как каротиноиды. Преимущества этого метода (экспрессность, простота, доступность, возможность препаративного разделения и малое количество анализируемого вещества) делают его незаменимым при исследовании этого сложного класса веществ [1,3]. В ТСХ на процесс хроматографирования влияют существенным образом растворитель [15], сорбент и условия анализа, причем наиболее сильным может оказаться влияние растворителя [6]. Развитие возможности количественной интерпретации данных ТСХ [16] может способствовать дальнейшему распространению этого метода, как альтернативного ВЭЖХ, обладающего всеми преимуществами хроматографического анализа.

В связи с вышесказанным, целью исследования являлась разработка методики идентификации  $\beta$ -каротина методом ТСХ, как одного из наиболее фармакологически активных веществ группы каротиноидов.

На первом этапе работы был выбран детектирующий реагент – вещество, взаимодействующее с определяемым компонентом с образованием окрашенных продуктов, которые можно визуально или инструментально идентифицировать. Для этой цели были исследованы различные проявители, рекомендуемые в литературе [1,3,7,17], а также подобранные нами самостоятельно. Критерием отбора проявителей являлась высокая чувствительность реакции и образование устойчивого интенсивного окрашивания продуктов взаимодействия каротиноидов с детектирующим реагентом, а также контрастностью хроматографических зон и фона, что может позволить проводить дальнейший количественный анализ с применением сканирующих устройств. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика детектирующих реагентов для определения  $\beta$ -каротина в тонком слое сорбента

№ п/п	Детектирующий реагент	Эффект
1	5 % спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК)	Не обладает достаточной чувствительностью
2	10 % спиртовый раствор ФМК с добавлением конц. хлороводородной кислоты (25 : 1) [1,17]	
3	Конц. хлороводородная кислота	Появляется быстроисчезающее темно-синее окрашивание на белом фоне
4	Конц. азотная кислота	
5	Конц. хлорная кислота [1]	
6	Конц. серная кислота [1]	Обугливание пластинки
7	Без проявителя [7]	Обнаруживаются желто-оранжевые четкие зоны на белом фоне

В виду того, что  $\beta$ -каротин имеет яркий желто-оранжевый цвет, обусловленный наличием в структуре его молекулы системы сопряженных двойных связей, идентификацию на хроматограмме возможно проводить визуально, без применения каких-либо детектирующих реагентов.

Наибольшее влияние на поведение веществ в тонком слое сорбента оказывает растворитель, поэтому на следующем этапе проведена работа по подбору элюентов для определения  $\beta$ -каротина в тонком слое сорбента. Были исследованы системы, предложенные в литературе [1,3,7], а также изучены новые хроматографические системы. Новые хроматографические системы подбирались таким образом, чтобы суммарная полярность подвижной фазы ( $P'$ ) примерно соответствовала рекомендуемой в литературе [1,3,7]. Элюенты готовили смешением компонентов в указанных соотношениях (табл. 2) непосредственно перед использованием. В процессе приготовления смешанных элюентов необходимо учитывать точную дозировку веществ, поскольку даже небольшие изменения состава смеси могут привести к изменению величины  $R_f$  [15]. Для каждой элюирующей системы были рассчитаны полярность ( $P'$ ) [18]; относительная скорость перемещения  $\beta$ -каротина (величина  $R_f$ ); высота, эквивалентная теоретической тарелке ( $H$ ); число теоретических тарелок ( $N$ ). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Хроматографические параметры  $\beta$ -каротина в различных элюирующих системах

№ п/п	Элюент	$R_f$	$H$ , мм	$N$	$K$	$P'$
1	Хлороформ [1,3]	0,98±0,01	0,95	103,2	0,01	4,40
2	Бензол [1,3]	0,97±0,01	0,347	221,76	0,01	3,00
3	Гексан	0,193±0,01	0,94	93,62	4,58	0
4	Гексан – бензол (1 : 1)	0,95±0,01	1,513	55,54	0,05	1,50



5	Бензол – ацетон (25 : 1) [7]	0,98±0,01	0,76	115,5	0,01	3,09
6	Гексан – бензол (14 : 1)	0,69±0,02	0,43	193,02	0,45	0,20
7	Гексан – бензол (5 : 1)	0,98±0,01	0,41	214,6	0,01	0,5
8	Гексан – бензол (9 : 1)	0,74±0,02	0,28	275	0,35	0,3
9	Гексан – хлороформ (2 : 1) [17]	0,98±0,01	1,15	76,5	0,01	1,47
10	Гексан – хлороформ (3 : 1)	0,98±0,01	0,74	118,92	0,01	1,10
11	Гексан – бензол (19 : 1)	0,575±0,01	0,783	102,17	0,754	0,15
12	Гексан – бензол (29 : 1)	0,376±0,01	0,78	108,97	1,703	0,10

Хроматограммы, полученные в описанных выше системах, представлены на рис. 1.

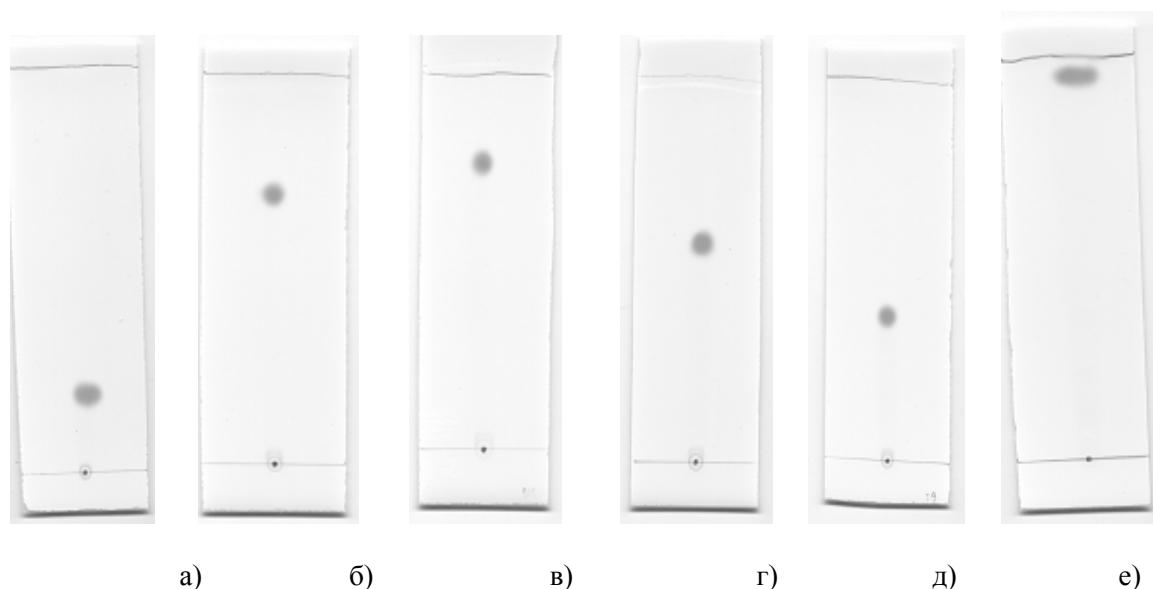


Рис. 1. Хроматограммы, полученные в элюирующих системах: а) гексан; б) гексан – бензол (14 : 1); в) гексан – бензол (9 : 1); г) гексан – бензол (19 : 1); д) гексан – бензол (29 : 1); е) хлороформ

Оптимальным для практической ТСХ является интервал значений  $R_f$  от 0,3 до 0,5. Определив величину  $R_f$ , можно рассчитать другой важный хроматографический параметр, характеризующий селективность сорбента и исследуемого вещества - фактор удерживания (К). Эффективность процесса хроматографирования характеризует высота, эквивалентная теоретической тарелке (Н) и число теоретических тарелок (N) [15].

Как видно из табл. 2, оптимальная величина  $R_f$  получена в системах № 6,8,11 и12; N – в системах № 2, 6 – 8; Н – в системах № 2, 6 - 8. Следовательно, эффективность хроматографического процесса достигается в данных элюентах. Важной характеристикой любого хроматографического процесса является изотерма сорбции. В адсорбционной хроматографии она носит название изотермы адсорбции. Вид изотермы сорбции влияет на форму хроматографической зоны [15]. Различают три основных формы изотермы: линейную, выпуклую и вогнутую. Связь между изотермой сорбции и формой пятна в ТСХ представлена на рис. 2.

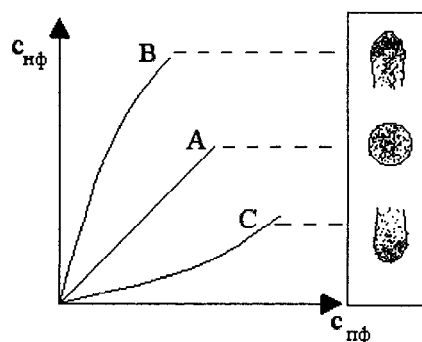


Рис. 2. Связь между изотермой сорбции и формой пятна в ТСХ [15]

В практической работе нелинейность изотерм является нежелательным фактором, поскольку приводит к изменению формы зон и влияет на эффективность хроматографического процесса и возможность дальнейшей интерпретации данных. Однако, только в системах № 6, 8, 11 и 12 зоны имели округлую форму, что свидетельствует о линейной изотерме сорбции  $\beta$ -каротина в данных условиях. В результате, по совокупности представленных параметров ( $R_f$ , линейность изотермы сорбции,  $H$ ,  $N$ ) и качеству хроматографических зон для определения  $\beta$ -каротина в тонком слое сорбента была выбрана элюирующая система № 12.

На основе данных таблицы 2 была построена зависимость величины относительной подвижности компонента ( $R_f$ ) (рис. 3) от полярности системы ( $P'$ ).

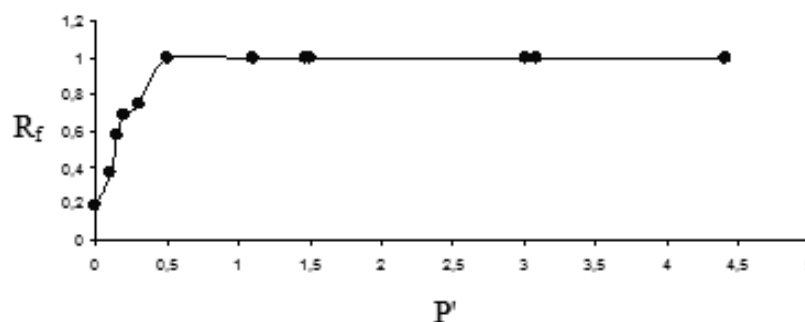


Рис. 3. Зависимость величины  $R_f$  от значения полярности элюента

Установлено, что в интервале от 0 до 0,2 ед. полярности зависимость носит линейный характер (рис. 4). Проведена статистическая оценка параметров линейной зависимости путем расчета величины коэффициента корреляции ( $r$ ) [19]. Для полученной зависимости  $|r| = 0,9864$  (рис. 4).

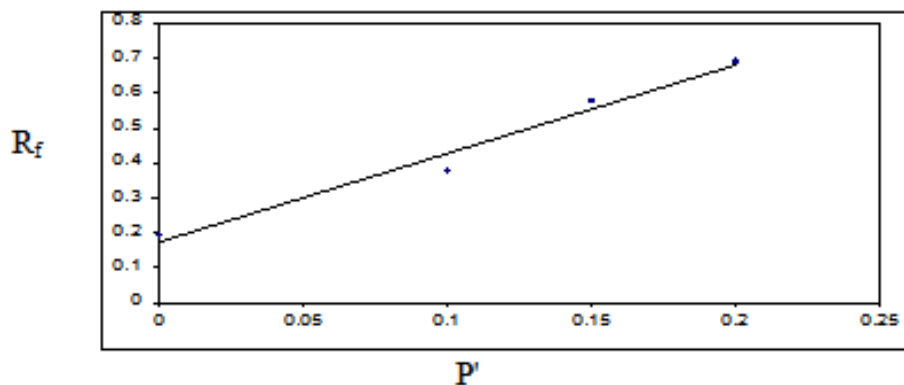


Рис. 4. Линейная зависимость величины  $R_f$  от значения полярности элюента

Уравнение линейной зависимости имеет вид:  $R_f = 2,54P' + 0,17$ . С помощью установленной зависимости можно подбирать различные системы для определения  $\beta$ -каротина в тонком слое сорбента, таким образом, чтобы величина  $R_f$  укладывалась в оптимальные значения. Следовательно, интервал полярностей элюента может варьировать от 0,05 до 0,168.

По совокупности полученных нами результатов были выбраны оптимальные условия определения  $\beta$ -каротина методом хроматографии в тонком слое сорбента:

- Хроматографические пластинки марки «Sorbfil» размером 5×10 см с алюминиевой или полимерной подложкой;
- Элюент : гексан – бензол (29 : 1);
- Проявитель – не требуется;
- Время насыщения камеры парами элюента: 15 – 20 мин;
- Время экспонирования: 30 мин;
- Объем наносимой пробы : 10 мкл раствора с содержанием  $\beta$ -каротина 1 мг/мл.

Кроме этого, следует отметить, что развитие хроматограмм предпочтительно проводить в затемненном помещении или защищая хроматографическую камеру от действия прямого яркого света во избежание обесцвечивания хроматографических зон, что обусловлено высокой фотоллабильностью  $\beta$ -каротина. Пластинку необходимо помещать в хроматографическую камеру, не дожидаясь полного высыхания пробы. Просмотр и обработка хроматограмм проводится сразу после испарения элюента при комнатной температуре.

В целом, метод ТСХ достаточно чувствителен, экономичен и не требует сложного оборудования. Время анализа с его использованием сокращается в несколько раз по сравнению с хроматографией на бумаге и колоночной хроматографией. В связи с этим, метод ТСХ, как нам представляется, наиболее приемлем для серийных анализов многокомпонентных биологических объектов, в том числе и растительных масел (РМ).

На завершающем этапе работы, разработанная методика идентификации  $\beta$ -каротина была апробирована на натуральных РМ, богатых каротиноидами [20-22], таких как масло шиповника и масло плодов облепихи.

Для проведения ТСХ анализа, готовили растворы изучаемых объектов в хлороформе марки х.ч. в соотношении масло – растворитель (1:2). В описанных выше условиях осуществляли хроматографирование проб объемом 5 мкл. Полученная хроматограмма представлена на рис. 5.



Рис. 5. Вид хроматограммы растворов РМ: точка 1 – масло плодов облепихи; точка 2 – масло шиповника.

Рис. 5 показывает, что кроме зоны  $\beta$ -каротина, идентифицированной по величине  $R_f$  (табл. 3), обнаружены и другие хроматографические зоны каротиноидов (имели желто-оранжевое окрашивание, постепенно исчезающее под действием света). На хроматограмме допускается пятно на линии старта в месте нанесения пробы. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Идентификация  $\beta$ -каротина и параметры хроматографического разделения каротиноидов в растительных маслах.

№ пятна	Величина $R_f$	K	$L = K_1/K_2$
Облепиховое масло (точка 1)			
1 - $\beta$ -каротин	0,37±0,01	1,703	2,35
2	0,58±0,01	0,724	
3	0,72±0,01	0,39	1,86
4	0,87±0,001	0,15	2,6
Масло шиповника			
1 - $\beta$ -каротин	0,36±0,005	1,78	1,78
2	0,5±0,02	1,00	
3	0,8±0,02	0,25	4,00

Из данных табл. 3 следует, что изучаемые РМ имеют различный каротиноидный состав, что согласуется с литературными данными [20-22]. В использованной элюирующей системе наблюдается удовлетворительное разделение хроматографических зон каротиноидов, так как значение селективности сорбции ( $L = K_n/K_{n+1}$ ), т.е. отношение коэффициентов распределения (K) двух веществ больше единицы (табл. 3). Чем больше величина L, тем лучше будет разделение, так как зоны компонентов располагаются друг от друга на большом расстоянии [15]. Разработанная методика может быть включена в НД в качестве способа экспресс-анализа  $\beta$ -каротина в РМ.

Таким образом, в результате данной работы предложена методика определения  $\beta$ -каротина методом ТСХ, которая может быть использована в фармацевтической, косметологической и пищевой промышленности. Разработанная методика может найти применение для серийных анализов растительных масел на предмет фальсификации и каротиноидного состава.

### Список литературы

1. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. Том 2. М., Мир, 1980г. 610 С.
2. Лутцева А. И., Маслов Л. Г., Середенко В. И. Методы контроля и стандартизации лекарственных препаратов, содержащих жирорастворимые витамины. // Хим.-фарм. журн. 2001. Т. 35. № 10. С. 41 – 45.
3. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. М., Мир, 1981г. С. 402 – 407.
4. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Инкрементный подход в анализе каротиноидов методом ОФ ВЭЖХ. Разделение диэфиров ксантофиллов. // Журн. Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т. 6. Вып. 3. С. 366-375.
5. Беляев Д.С., Фан Винь Тхинь, Хорохордина Е.А., Подолина Е.А., Рудаков О.Б. Экспресс-анализ триглицеридов и биологически активных компонентов растительных масел

методом микроколоночной ВЭЖХ с УФ-детектором. // Тез.докл. 3-ей Всеросс. Научно-методической конф. «Фармообразование – 2007». Воронеж. 2007. С. 66 – 68.

6. Ключев С. А. Определение витаминов А и Е методом ВЭЖХ с предварительным равновесным распределением в двух несмешивающихся жидких фаза. // Журн. Аналитической химии. М., Наука. 1996. Т. 51, № 9, С. 961 – 963.

7. ВФС 42-3128-98, «Драже бета-каротина 0,0025».

8. ФС 42-3182-95, «Аекол».

9. НД 42-42-10179-99, «Масло шиповника».

10. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей.

11. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. // Рос. хим. журн., 2002, Т. XLVI, № 4, С. 52 – 56.

12. Hui Ni, Guo-qing, Hui Ruan, Qi-he Chen, Feng Chen. Application of derivative ratio spectrophotometry for determination of  $\beta$ -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* extract. // J Zhejiang Univ Sci B. 2005 June, 6(6), pp. 514-522.

13. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. // FASEB J. 1995, 9, pp. 1551-1558.

14. Ong ASH, Tee ES. Natural sources of carotenoids from plants and oils. // Meth Enzymol. 1992, 213, pp. 142-167.

15. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. Т. 1, М., Мир, 1999г., 405 С.

16. Герасимов А.В. Применение программной обработки сканированных изображений хроматограмм в количественной планарной хроматографии. // Журн. Аналитической химии. М., Наука. 2004. Т. 59, № 4, С. 392 – 397.

17. Рыбакова О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Выбор оптимальных условий для определения витамина А методом хроматографии в тонком слое сорбента. // Тез. докл. III Всеросс. конф. «Фармообразование – 2007г». Воронеж. 2007. С. 301-303.

18. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филиппов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. // Воронеж., Изд-во «Водолей». 2004 г., 528 С.

19. ГФ XI изд. Вып. 1, М., Медицина, 1987 г., С. 217-220.

20. Кислухина О.В., Румянцев В.Ю., Малахов А.Е., Соболева К.Е. Витаминизированные масла из плодов кустарниковых пород. // Хранение и переработка сельхозсырья. 2003. №5, С. 60 – 62.

21. Гнусарева Р.В., Шленская Т.В., Грузинов Е.В. Пигментный комплекс плодов облепихи, районированной в Приморском крае. // Хранение и переработка сельхозсырья. 2005. № 5, С. 52-53.

22. Тимофеева В.Н., Черепанова А.В., Полякова Т.А., Лачева Н.В. Зависимость химического состава плодов шиповника от степени их зрелости и сортовых особенностей. // Хранение и переработка сельхозсырья. 2004. № 12, С. 49-50.



## Свойства фосфорнокислой мембраны в растворах аминокислот

Козадерова О.А., Кривоустова Н.Н., Шапошник В.А.

*Воронежский государственный университет, Воронеж*

### Аннотация

Контактно-разностным методом измерена электропроводность фосфорнокислой катионообменной мембраны МК-41 в растворах глицина, аланина и фенилаланина, найдены подвижности катионов исследуемых аминокислот в мембране. Получена зависимость кинетических характеристик катионов аминокислот от радиусов их ионов

### Введение

Наиболее эффективным методом выделения аминокислот из смесей с электролитами и неэлектролитами является электродиализ с ионообменными мембранами [1-4]. Для понимания сущности процессов, протекающих при электродиализе, а также математического моделирования электродиализа с целью его оптимизации необходимы кинетические характеристики ионообменных мембран в растворах аминокислот. В настоящее время нет удовлетворительных способов их независимого расчета, и существует необходимость проведения измерений.

Задачи данной работы:

- измерение электропроводности катионообменной фосфорнокислой мембраны МК-41 в растворах аминокислот;
- расчет электрических подвижностей катионов аминокислот в мембране.

### Эксперимент

В проведенных экспериментах была использована серийная катионообменная гетерогенная мембрана МК-41, изготовленная на основе катионообменника КФ-1. Этот катионообменник получают путем фосфорилирования сополимера стирола и дивинилбензола треххлористым фосфором в соответствующих условиях [5]. Мембрана была изготовлена предприятием ОАО «Щекиноазот» в виде опытно-промышленной партии (ТУ 6-05-1203-73).

Ионогенная –  $\text{PO}_3\text{H}_2$  группа мембраны имеет две степени диссоциации: сильнокислотную с  $\text{pK}_1=3,5$  [6] и слабокислотную с  $\text{pK}_2=7$ , т.е. содержит два неравноценных иона водорода, способных обмениваться на различные катионы. Именно по этой причине водородные ионы в этой мембране имеют наименьшие величины электрических подвижностей по сравнению с другими однозарядными катионами [7].

Мембраны готовили к эксперименту в соответствии со стандартной методикой [8]. Навеску мембраны в водородной форме помещали в раствор аминокислоты, в котором ами-

нокислота находилась в форме биполярного иона. Измеряли электропроводность системы, помещая мембраны в ячейку для измерения электропроводности мембран контактно-разностным методом [9]. Ячейка содержала подвижный, закрепленный на штоке и неподвижный у основания платиновые электроды. Измерения проводили на частоте 10 кГц импедансметром Tesla-570 при 25°C.

Навеску несколько раз помещали в дистиллированную воду, с целью десорбции обменно- сорбированной аминокислоты, а затем измеряли электросопротивления образцов.

Удельную электропроводность мембран  $\bar{\kappa}$  получали по формуле

$$\bar{\kappa} = \frac{d}{\bar{R} \cdot S}, \quad (1)$$

где  $d$  – толщина мембраны,  $\bar{R}$  – электрическое сопротивление разности двух и одной мембран,  $S$  – площадь мембраны или электрода.

Электрические подвижности аминокислоты в мембране  $\bar{u}_i$  рассчитывали по уравнению:

$$\bar{u}_i = \frac{\bar{\kappa}_i}{\bar{C}_i \cdot F} = \frac{\bar{\lambda}_i}{F}, \quad (2)$$

где  $\bar{C}_i$  - концентрация сорбированной аминокислоты,  $\bar{\lambda}_i$  - молярная электропроводность.

Сорбция аминокислот проводилась в статических условиях из растворов, в которых аминокислота находилась в виде биполярного иона. Концентрация растворов изменялась от 0,05 до 0,15 моль/л. Количественное определение глицина и аланина проводили фотометром КФК-2 по методике, в основе которой лежит свойство алифатических аминокислот образовывать комплексы с медью [10]. Фенилаланин анализировали спектрофотометром СФ-46. Количество сорбированной аминокислоты находили как по разности концентраций исходного и равновесного растворов, так и по десорбции аминокислоты соляной кислотой.

## Обсуждение результатов

В таблице 1 приведены концентрации аминокислот в мембране, полученные при сорбции из 0,1 М растворов. При дальнейшем увеличении концентрации равновесного раствора, возрастания количества сорбированной аминокислоты не происходит, поэтому величины сорбции, указанные в таблице 1, мы считаем максимальными. Вытеснение катиона водорода в раствор не происходило (это подтверждено потенциометрически), т.е. протекала реакция протонирования аминокислоты, и биполярный ион, не способный к электрической проводимости, превращался в катион.

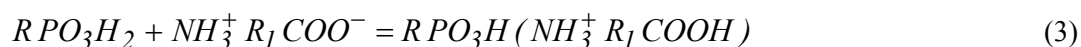


Таблица 1. Сорбция аминокислот мембраной МК-41 из 0,1 М растворов

Аминокислота	Количество сорбированной аминокислоты, ммоль/г
Глицин	0,71 ± 0,05
Аланин	0,65 ± 0,05
Фенилаланин	0,90 ± 0,04

На рис. 1(а) показана удельная электропроводность мембраны МК-41 как функция концентрации равновесного раствора аминокислоты.

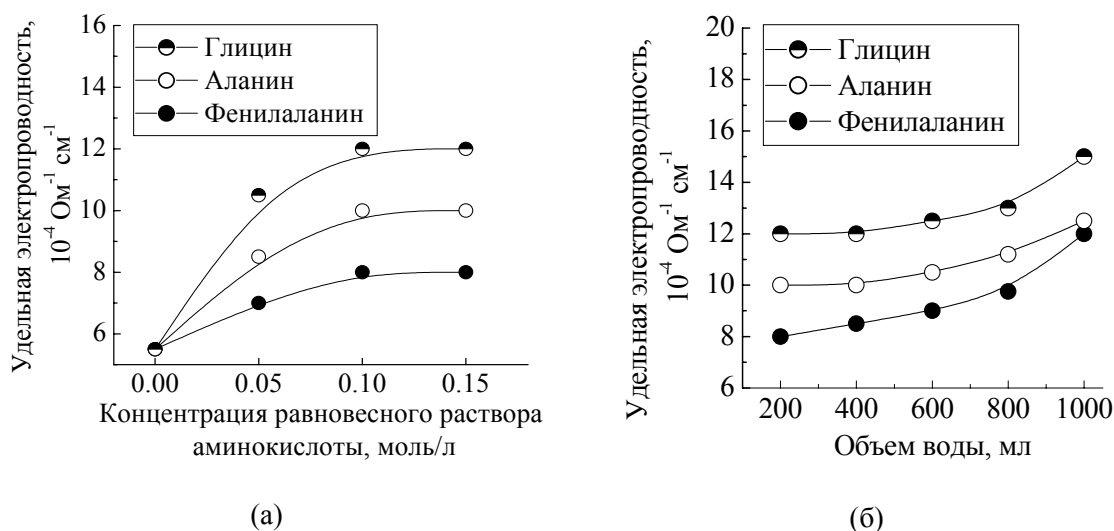


Рис. 1. (а) – Зависимость удельной электропроводности мембраны МК-41 от равновесного раствора аминокислоты  
(б) – Изменение удельной электропроводности мембраны МК-41 после приведения ее в контакт с водой

При сорбции аминокислоты электропроводность увеличивается по экспоненциальной зависимости

$$\kappa = 1 - \exp(-KC),$$

так как мембрана из кислой формы переходит в солевую, сильно ионизированную, в которой противоионом является катион аминокислоты. Получение постоянных значений электропроводности объясняется достижением предельной сорбционной емкости мембраны по аминокислоте.

После насыщения мембраны аминокислотой мы приводили ее в контакт с водой для извлечения необменно сорбированной аминокислоты. Каждые сутки контактирующий раствор заменяли свежей порцией дистиллированной воды из расчета 200 мл на грамм ионообменника. На рис.1(б) представлена зависимость удельной электропроводности мембраны от суммарного объема воды, с которым контактировала мембрана. Рост удельной электропроводности образцов объясняется вымыванием необменно сорбированной аминокислоты, а также протеканием реакции депротонирования, в результате которой аминокислота превращается опять в биполярный ион, и высвобождается протон. Аминокислоты экранируют функциональные группы мембраны, поэтому связывания протона в слабодиссоциированную группу не происходит, и он вносит заметный вклад в общую электропроводность системы. Отметим, что в [11] аналогичная зависимость получена для сульфокатионообменной мембраны МК-40.

В отличие от мембраны МК-40, для которой при сорбции аминокислот полная обменная емкость достигается уже для 0,1 М равновесных растворов [11], степень заполнения мембраны МК-41 аминокислотами составляет 25-35% (таблица 1). Это осложняет определение кинетических характеристик исследуемых аминокислот, поскольку мы получаем значение удельной электропроводности мембраны в смешанной форме аминокислота-водород.

Для того чтобы получить молярную электропроводность аминокислот в мембране  $\bar{\lambda}_{AK}$ , мы рассматривали электропроводность мембраны в смешанной форме как сумму электропроводности водородных ионов и аминокислоты:

$$\bar{\kappa} = \bar{\kappa}_H + \bar{\kappa}_{AK} = \bar{\lambda}_H \bar{C}_H + \bar{\lambda}_{AK} \bar{C}_{AK} \quad (4)$$

Зная электропроводность мембраны в чистой водородной форме, мы получаем значение молярной электропроводности водородных ионов  $\bar{\lambda}_H$ , величины  $\bar{C}_H$  и  $\bar{C}_{AK}$  опреде-



ляем из данных по сорбции. Полученные значения  $\bar{\lambda}_{AK}$  позволяют рассчитать электрические подвижности по уравнению (2). Результаты расчета представлены в таблице 2.

Таблица 2. Кинетические характеристики ионообменной мембраны МК-41 в растворе 0.1 М аминокислоты

Катион аминокислоты	Радиус аминокислоты, А	МК-41		МК-40 [11]
		$\lambda, \text{см}^2 / \text{Ом моль}$	$u, 10^{-5} \text{см}^2 / \text{В} \cdot \text{с}$	$u, 10^{-5} \text{см}^2 / \text{В} \cdot \text{с}$
Глицин	2.95	1.18	1.22	1.48
Аланин	3.19	0.88	0.91	1.15
Фенилаланин	3.69	0.47	0.48	0.0620

При сравнении характеристик аминокислот и неорганических ионов [12] в мембране МК-41 можно сделать вывод, что величины кинетических характеристик катионов аминокислот в мембране близки к кинетическим характеристикам однозарядных ионов металлов в мембране. Подвижности катионов исследуемых аминокислот в МК-41 выше, чем подвижность водородных ионов ( $0.22 \cdot 10^{-5} \text{см}^2 \text{В}^{-1} \text{с}^{-1}$  [12]). Это объясняется природой функциональной группы катионообменника, которая является остатком слабой кислоты.

Радиусы аминокислот находили по формуле

$$r = 0.72 \sqrt[3]{V} \quad (5)$$

в которой  $V$  – молекулярный объем [13], рассчитанный для исследуемых аминокислот в программе Chem3D Ultra 7.0. Зависимость электрической подвижности катионов аминокислот от радиуса аминокислоты является линейной (рис. 2) с коэффициентом регрессионной корреляции 0.9877. Это дает возможность прогнозировать подвижность аминокислоты, радиус которой известен. Так как функциональные группы у этих аминокислот одинаковые, то меньший радиус глицина в соответствии с законом Стокса [14]

$$u_i = \frac{F k T}{6 \pi r \eta} \quad (6)$$

( $\eta$  – вязкость) должен приводить к большей величине его подвижности по сравнению с аланином и фенилаланином, что и получено в работе. Таким образом, электрические подвижности глицина, аланина и фенилаланина обратно пропорциональны их радиусам и уменьшаются в ряду: Gly > Ala > Phe. Отметим, что аналогичная последовательность получена для мембраны МК-40 [11].

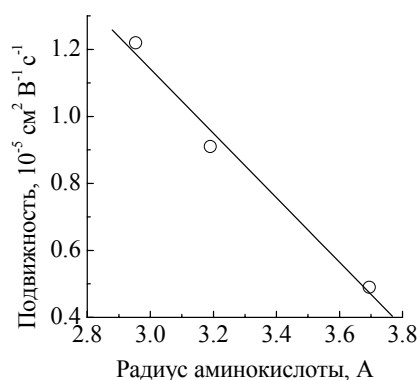


Рис. 2. Зависимость электрических подвижностей катионов аминокислот в мембране МК-41 от радиуса аминокислоты

В фосфорнокислой мембране электрические подвижности исследуемых аминокислот имеют более близкие друг к другу значения по сравнению с сульфокатионообменной мем-

браной, что объясняется неполной сорбцией аминокислот и природой функциональной группы МК-41.

### Заключение

1. Сорбция глицина, аланина и фенилаланина фосфорнокислой мембраной из нейтральных 0,1 М растворов аминокислот протекает одновременно с реакцией протонирования аминокислоты в фазе мембраны, степень заполнения мембраны аминокислотами составляет 25-35%.

2. Электропроводность мембраны МК-41 в форме катионов исследуемых аминокислот выше, чем электропроводность водородной формы фосфорнокислой мембраны.

3. Зависимость электрических подвижностей глицина, аланина и фенилаланина от их радиуса линейная. Подвижности уменьшаются в ряду Gly>Ala>Phe.

4. Электрические подвижности катионов аминокислот близки по порядку величин к электрическим подвижностям ионов щелочных металлов в фосфорнокислой мембране.

### Список литературы

1. Шапошник В.А. Выделение аминокислот из смесей веществ электродиализом с ионообменными мембранами / В.А. Шапошник, Т.В. Елисеева, А.Ю. Текучев, И.Г. Лущик // Теория и практика сорбционных процессов. – 1999. – вып. 25. – С.53-62.

2. Богер А.М. Исследование возможности применения электродиализа для получения чистых аминокислот / А.М. Богер // Мембранные процессы разделения жидких смесей: 1 Всес. шк.-симп. молодых ученых и спец., Юрмала. – 1989. – Тез. докл. - Рига, 1989. – С.43-44.

3. Выделение глутаминовой кислоты и ее хлоргидрата методом электродиализа / Д.Е. Емельянов, Е.Н. Харьянов, В.В. Котов и др. // Воронеж, с.-х. ин-т. – Воронеж, 1990. – Деп. В ОНИИТЕХИМ. - г. Черкассы. – 1990. – 313с.

4. Никитина Т.А. Разделение L- $\alpha$ -аминокислот и их D- ацетилпроизводных электродиализом / Г.А. Никитина, З.В. Гольцева, А.И. Рязанов // Тр. ВНИИ хим. Реактивов и особо чистых веществ. 1970. – вып. 32. – С.389-392.

5. Салдадзе К.М., Копылова-Валова В.Д.. Комплексообразующие иониты. М.: Химия, 1980. С.24.

6. Лурье А.А. Сорбенты и хроматографические носители (справочник). М.: Химия, 1972. С.29,91.

7. Шапошник В.А. Кинетика электродиализа. – Воронеж: изд-во ВГУ, 1989. С.20-23.

8. Глазкова И. Н., Глухова Л. П. Методы исследования физико-химических свойств ионитовых мембран. – М.: ЦНИИатоминформ, 1981. – 96 с.

9. Исаев Н.И., Шапошник В.А. // Заводская лаборатория. 1965. Т. 31. № 10. С. 1213-1215.

10. Определение аминокислот в виде комплексов с медью / Е.Р. Рошаль и др. // Хим.-фарм. журн. – 1988. - № 6, С.30.

11. Козадерова, О.А. Кинетические характеристики ионообменной мембраны в растворах аминокислот / О.А.Козадерова, В.А.Шапошник // Электрохимия 2004 .— Т. 40, № 7 .— С. 798-804.

12. Козадерова, О.А. Подвижности ионов в гетерогенной мембране МК-41 / О.А.Козадерова, В.А.Шапошник // Сорбционные и хроматографические процессы. 2003 .— Т. 3, вып. 3 .— С. 356-361.

13. Робинсон Р., Стокс Р. Растворы электролитов. М.:ИЛ, 1963, С. 64.

14. Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Цирлина Г.А. Электрохимия: Учебник для вузов. – М.: Химия, 2001. С.140.



## **Влияние структуры фенола на межфазное натяжение в экстракционных системах гексан - хлороформ - водно-солевой раствор**

Хорохордина Е.А., Фан Винь Тхинь, Рудаков О.Б.

*Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж*

Подолова Е.А.

*Электростальский политехнический институт (филиал) Московского института стали и сплавов, Электросталь*

---

### **Аннотация**

Определено межфазное натяжение в системах гексан – хлороформ – алкилфенол – водно-солевой раствор. Рассмотрено влияние природы алкилфенолов на характер изотерм межфазного натяжения и коэффициенты распределения в изученных экстракционных системах

---

### **Введение**

Поверхностное натяжение – основная термодинамическая характеристика поверхностного слоя жидкости на границе с газовой фазой или другой жидкостью. Величина поверхностного натяжения входит во многие уравнения физической и коллоидной химии. Оно определяет величины капиллярного давления, давления насыщенного пара над искривлённой поверхностью жидкости, краевого угла смачивания в контакте жидкости с поверхностью твёрдого тела, адсорбции ПАВ, электрокапиллярного эффекта, и т.д.

Поверхностное натяжение является мерой некомпенсированности межмолекулярных сил в поверхностном слое. Для подвижных жидкостей она характеризует избыток свободной энергии в поверхностном слое по сравнению со свободной энергией в объёме. Величина  $\sigma$  определяется характером межмолекулярных сил, размером и геометрией молекул, их ориентацией в поверхностном слое, т.е. природой растворителя, его поверхностной активностью или поверхностной активностью находящихся в нём других веществ [1].

В случае поверхностного натяжения на границе жидкость – жидкость, наличие над слоем первой жидкости слоя другой, несмешивающейся с ней жидкости, приводит к понижению межфазного поверхностного натяжения, поскольку молекулы второй жидкости притягивают к себе молекулы первой и таким образом уменьшают действие некомпенсированных сил на поверхности первой жидкости. Понижение межфазного поверхностного натяжения, очевидно, тем значительнее, чем меньше различие в полярностях обеих жидкостей [2]. Жидкости, близкие по полярности, смешиваются друг с другом во всех отношениях, и поэтому поверхностное натяжение между ними равно нулю.

Если жидкости не смешиваются или ограниченно растворимы друг в друге, то межфазное натяжение, как правило, равно разности между двумя поверхностными натяжениями несмешивающихся жидкостей. Это так называемое правило Антона [3]:

$$\sigma_{AB} = \sigma_B - \sigma_A,$$

если  $\sigma_B > \sigma_A$ ,

где  $\sigma_B$  – поверхностное натяжение жидкости В,  $\sigma_A$  – поверхностное натяжение слоя жидкости А (в нашем случае смеси гексан - хлороформ),  $\sigma_{AB}$  – межфазное поверхностное натяжение на границе раздела жидкость А - жидкость В.

Целью данной работы явилось изучение межфазного натяжения в экстракционных системах «бинарный органический растворитель – водно-солевой раствор» в присутствии фенолов различного строения для определения влияния наличия и структуры фенолов на этот параметр.

В качестве бинарного экстракта взяли систему гексан - хлороформ, которую часто применяют как подвижную фазу в жидкостной тонкослойной и высокоэффективной хроматографии фенолов. Остается не выясненной природа наблюдаемых синергетических эффектов при экстракции фенолов смешанными растворителями.

Теоретически и экспериментально обоснованные экстракционные бинарные составы, близкие к составам подвижных фаз в хроматографических методах, перспективны для осуществления пробоподготовки в хроматографическом анализе фенолов, содержащихся в водных, органических средах или твердых полимерных материалах.

## Эксперимент

В качестве объектов исследования взяли фенол, 4-метил-2,6-ди-*трет*-бутилфенол (ионол), 2-*трет*-бутилфенол, *о*, *м*, *п*- крезолы, квалификации «х.ч.» («Мерск», Германия). Объемные соотношения бинарных смесей гексан – хлороформ варьировали от 0:1 до 1:0.

Экспериментальные значения поверхностного натяжения  $\sigma_A$  и  $\sigma_B$ , где  $\sigma_A$  – поверхностное натяжение смесей гексан - хлороформ, а  $\sigma_B$  – поверхностное натяжение водно-солевого раствора, были получены методом максимального давления в пузырьке воздуха на приборе Ребиндера [3]. Для этого находили константу ячейки  $k$ , которую рассчитывали по значениям максимального давления  $\Delta p_{ст}$  и поверхностного натяжения  $\sigma_{ст}$  для стандартных жидкостей:

$$k = \sigma_{ст} / \Delta p_{ст}$$

Определив коэффициент  $k$  для исследуемой жидкости, находили значение  $\sigma_{ж-г} = k \Delta p_{макс}$ . Применение этого метода хорошо минимизирует ошибки, обусловленные изменением состава из-за испарения.

Определение межфазного натяжения между органической и водно-солевой фазой  $\sigma_{AB}$  осуществляли следующим образом: навеску фенола массой около 0,1 г взвешивали на аналитических весах с точностью  $\pm 0,0002$  г, помещали в делительную воронку и добавляли 100 мл дистиллированной воды и в течение 15 минут встряхивали на вибросмесителе. Затем отбирали 10 мл водного раствора и добавляли сульфат аммония до насыщения; в насыщенный водно-солевой раствор добавляли серной кислоты до pH 2. После растворения соли в полученный раствор добавляли 1 мл гексана, хлороформа или их смеси и в течение 30 мин перемешивали на магнитной мешалке. После расслоения органической и водно-солевой фаз производили измерения  $\sigma_A$  и  $\sigma_B$  на приборе Ребиндера. Для этого исследуемую жидкость наливали в ячейку до уровня, при котором кончик капилляра погружается в нее, не более чем на 1 мм. Ячейку соединяли отводной трубкой с аспиратором и краном микроманометра. Устанавливали мениск в манометрической трубке против нулевой отметки. После чего открывали кран аспиратора. В установке создавалось разрежение, в результате чего манометрическая жидкость поднималась в трубке. Сформировавшийся на конце капилляра пузырёк воздуха при достижении  $\Delta p_{макс}$ , пробивал поверхностный слой. В этот момент давление в системе снижалось, манометрическая жидкость опускалась, затем в результате образования нового пузырька она снова поднималась, что вызывало колебание

уровня манометрической жидкости. Для уменьшения пульсации жидкости в измерительной трубке, добивались равномерного проскока пузырька, с интервалом 20-30 с. Время образования и отрыва пузырьков воздуха регулировали путём изменения скорости вытекания воды из аспиратора. Показание манометра регистрировали, если  $\Delta p_{\text{макс}}$  в течение 2-3 мин не изменялись.

## Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены результаты измерений поверхностного и межфазного натяжения для системы, в которой отсутствует добавка фенола, а на рис. 2-4 даны измерения для систем с добавлением некоторых алкилфенолов. Из экспериментальных данных видно, что при отсутствии в системе фенольных добавок для межфазного натяжения характерен вогнутый вид изотерм  $\sigma_{AB} = f(\varphi_2)$ , добавление в систему того или иного фенола приводит к изменению характера изотерм, в частности, меняется знак отклонения от аддитивности и они приобретают вид выпуклых кривых.

Для количественного описания найденных изотерм использовали модифицированные биномиальные зависимости типа

$$\sigma_{12} = \sigma_1 + \alpha \sigma_1 \varphi_2 + (\sigma_2 - \alpha \sigma_1 - \sigma_1) \varphi_2^2, \quad (1)$$

где  $\sigma_{12} - \sigma_{AB}$  для бинарной смеси,  $\sigma_1 - \sigma_{AB}$  для системы не содержащей хлороформа,  $\sigma_2 - \sigma_{AB}$  для системы не содержащей гексан. Как показано ранее, уравнением (1) адекватно описываются изотермы поверхностного натяжения для многих бинарных смесей [4]. Можно предположить применимость этого уравнения и для разности поверхностных натяжений  $\sigma_{AB} = \sigma_B - \sigma_A$

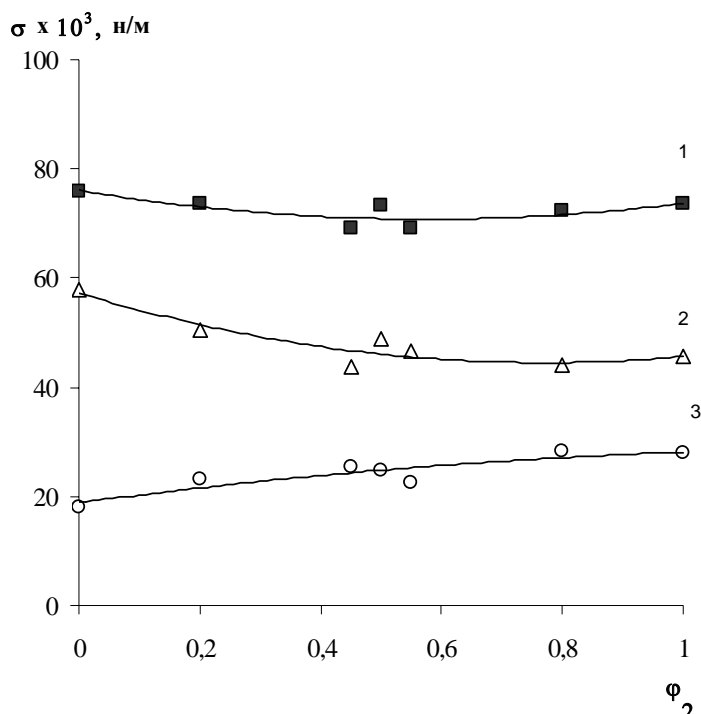


Рис. 1. Изотермы поверхностного и межфазного натяжения для двухфазной системы гексан – хлороформ – водно-солевой раствор: 1 –  $\sigma_B$ , 2 –  $\sigma_{AB}$ , 3 –  $\sigma_A$ ,  $\varphi_2$  – объёмная доля хлороформа в системе гексан - хлороформ

Действительно, как следует из данных в табл. 1, уравнение (1) описывает экспериментальные кривые с хорошим коэффициентом корреляции  $R = 0,93-0,99$ .

Рассмотрим отклонения  $\sigma_{12}$  от  $\sigma_{add}$ , найденные по уравнениям

$$\sigma_{ad} = \sigma_2 \cdot \varphi_2 + \sigma_1(1 - \varphi_2). \quad (2)$$

$$\delta = (1 - \sigma_{12} / \sigma_{aod}) 100.$$

(3)

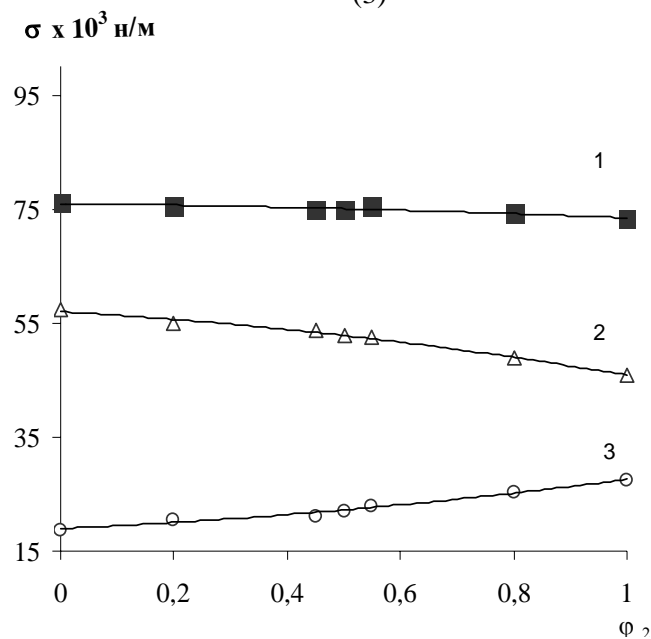


Рис. 2. Изотермы поверхностного и межфазного натяжения для системы гексан – хлороформ – фенол – водно-солевой раствор: 1 -  $\sigma_B$ , 2 -  $\sigma_{AB}$ , 3 -  $\sigma_A$

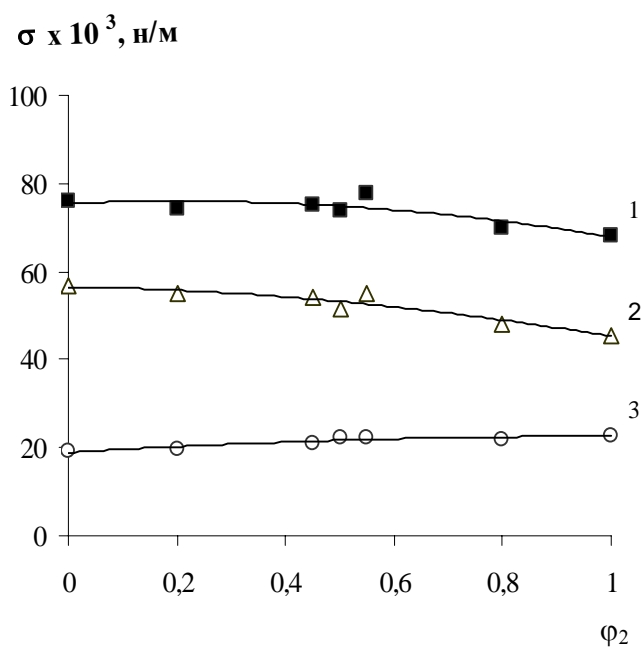


Рис. 3. Изотермы поверхностного и межфазного натяжения для системы гексан – хлороформ – ионол – водно-солевой раствор: 1 –  $\sigma_B$ , 2 –  $\sigma_{AB}$ , 3 –  $\sigma_A$

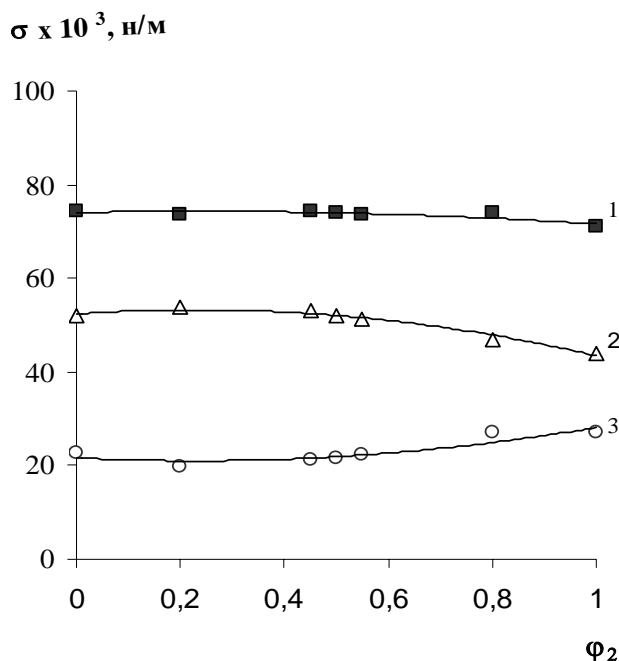


Рис. 4. Изотермы поверхностного и межфазного натяжения для системы гексан – хлороформ - *o*-крезол - водно-солевой раствор: 1 -  $\sigma_B$ , 2 -  $\sigma_{AB}$ , 3 -  $\sigma_A$

Таблица 1. Значения эмпирических коэффициентов  $\alpha$  в уравнение (1) для определения  $\sigma_{12}$  по изотермам межфазного натяжения в системах гексан – хлороформ – алкилфенол – водно-солевой раствор,  $T=298$  К

Система	$\sigma_1$	$\sigma_2$	$\alpha$	Коэффициент корреляции R
Без фенола	57,63	45,57	$-0,595 \pm 0,063$	0,9320
фенол	57,24	45,88	$-0,112 \pm 0,014$	0,9948
<i>o</i> -крезол	51,97	44,11	$0,159 \pm 0,031$	0,9764
<i>m</i> -крезол	47,66	47,99	$0,099 \pm 0,019$	0,7944
<i>n</i> -крезол	55,51	43,71	$-0,080 \pm 0,025$	0,9836
<i>o</i> -трет-бутилфенол	63,02	46,10	$-0,152 \pm 0,030$	0,9892
ионол	56,90	45,50	$-0,126 \pm 0,026$	0,9893

Таблица 2. Максимальное отклонение  $\delta$  от аддитивности для межфазного натяжения  $\sigma_{AB}$  в системах гексан – хлороформ – алкилфенол – водно-солевой раствор при 298 К

Алкилфенол	$\phi_2$	$\delta$	$\log P$
Без фенола	0,53	10,8	-
фенол	0,53	-2,4	1,48
<i>o</i> -крезол	0,53	-8,4	1,92
<i>m</i> -крезол	0,50	-2,3	1,97
<i>n</i> -крезол	0,53	-3,7	1,97
<i>o</i> -трет-бутилфенол	0,53	-3,4	3,20
ионол	0,53	-2,1	5,43

Как видно из табл. 2 максимальные отклонения от аддитивности для  $\sigma_{AB}$  наблюдаются в области  $\phi_2=0,50-0,53$  и составляют величину 2-8%. Ожидалось обнаружение зависимости величины отклонений  $\delta$  от гидрофобности фенолов. К сожалению, между величиной  $\delta$  и  $\log P$  фенолов корреляции не выявлены. Это можно объяснить тем, что в опытах не удалось добиться одинаковой концентрации фенолов в изучаемых системах. В

тоже время величина  $\delta$  позволяет выявить наличие синергетического эффекта в смешанных растворителях.

Таблица 3. Коэффициенты распределения извлекаемых фенолов в системе водно-солевой раствор – бинарная смесь:  $n=5$ ;  $P=0,95$

Извлекаемый фенол	объемные соотношения гексан-хлороформ						
	10:0	8:2	5,5:4,5	5:5	4,5:5,5	2:8	0:10
	$D$						
фенол	13,90	33,30	30,10	25,80	18,60	15,90	8,10
<i>o</i> -крезол	16,10	53,30	42,70	35,50	28,60	16,90	12,50
<i>m</i> -крезол	16,40	56,20	45,60	37,70	31,60	19,20	14,00
<i>n</i> -крезол	22,50	71,00	63,00	53,80	45,60	26,60	19,20
<i>o</i> -трет-бутилфенол	174	200	194	190	185	178	171
инол	196	242	229	225	218	210	183

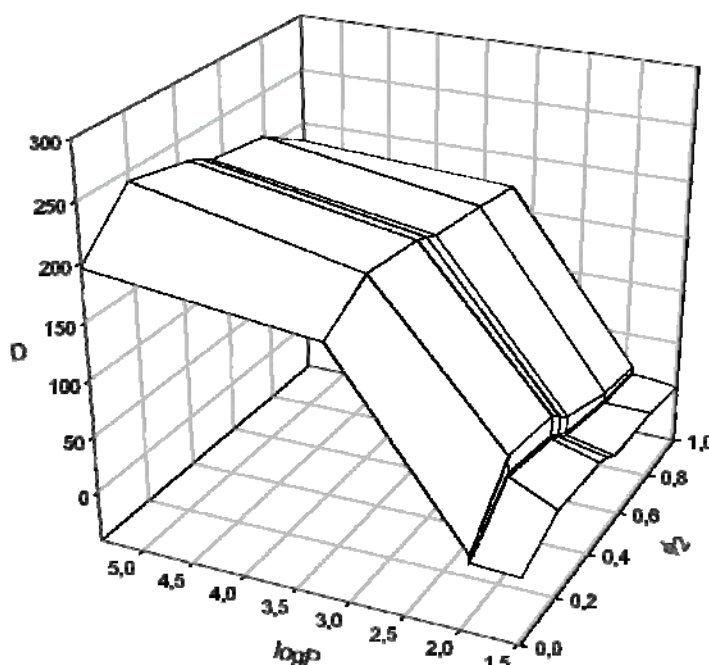


Рис. 5. Зависимость коэффициентов распределения ( $D$ ) фенолов от объемной доли хлороформа  $\varphi_2$  и параметра гидрофобности фенолов ( $\log P$ )

На рис. 5 дана трехмерная диаграмма зависимости коэффициентов распределения фенолов  $D$  от объемной доли хлороформа и параметра гидрофобности фенолов  $\log P$ , из которого следует, что с ростом  $\log P$ , т. е. с увеличением гидрофобности фенолов коэффициент распределения  $D$  возрастает во всех использованных системах.

Что касается синергетического эффекта, то он наблюдается в диапазоне  $\varphi_2 = 0,2-0,5$  и затухает при  $\varphi_2 > 0,5$ . Зависимости  $D = f(\varphi_2)$  носят сложный характер и не могут быть описаны биномиальными моделями. Для описания этих зависимостей использовали рациональную математическую модель [5]:

$$D_{12} = (D_1 + (D_2(1 + A_2 + B_2) - D_1)\varphi_2) / (1 + A_2\varphi_2 + B_2\varphi_2^2), \quad (4)$$

где  $D_{12}$  – коэффициент распределения фенолов,  $A_2$  и  $B_2$  – эмпирические коэффициенты, значения которых приведены в табл. 4.



Таблица 4. Эмпирические коэффициенты  $A_2$  и  $B_2$  уравнения (4) для систем гексан - хлороформ – алкилфенол – водно-солевой раствор и

Извлекаемый фенол	$A_2$	$B_2$	Коэффициент корреляции R
фенол	-3,66	7,59	0,9698
<i>o</i> -крезол	-4,19	10,21	0,9964
<i>m</i> -крезол	-4,10	10,37	0,9972
<i>n</i> -крезол	-3,90	8,87	0,9986
<i>o</i> -трет-бутилфенол	25,48	6,71	0,9905
инол	4,12	3,55	0,9730

Следует отметить, что в отличие от поверхностного натяжения между органической фазой и воздухом, где при добавлении фенолов наблюдается уменьшение поверхностного натяжения, добавка фенолов в случае межфазного натяжения на границе гексан – хлороформ – водно-солевой раствор приводит к увеличению  $\sigma_{AB}$ . Это явление обладает синергизмом. Можно предположить, что найденное нелинейное (неаддитивное) изменение  $\sigma_{AB}$  для смешанных систем отчасти обуславливает аналогичное изменение коэффициентов межфазного распределения фенолов, в соответствии с принципом Ле Шателье, согласно которому равновесные процессы смещаются в сторону уменьшения внешнего воздействия, то есть отмечаемое неаддитивное увеличение  $\sigma_{AB}$  в близких к эквиобъемному составу системах сопровождается увеличением в них коэффициентов распределения фенолов  $D$  (см. табл. 3).

Таким образом, наблюдаемый синергетический эффект в системах гексан – хлороформ – алкилфенол – водно-солевой раствор, как и в системах гексан - кетон – алкилфенол - вода [5], может быть адекватно описан уравнением (4). Можно заключить, что абсолютное увеличение  $D$  определяется гидрофобностью (структурой) фенола, а максимум эффекта – составом смешанного растворителя.

### Список литературы

1. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М.: Химия, 1976. 512 с.
2. Айвазов Б.В. Практикум по химии поверхностных явлений и адсорбции. М.: Высшая школа, 1973. 208 с.
3. Фролов Ю.Г., Гродский А.С., Назаров В.В. Лабораторные работы и задачи по коллоидной химии. М.: Химия, 1985. 216 с.
4. Рудаков О.Б., Беляев Д.С., Хорохордина Е.А., Подолина Е.А. Поверхностное натяжение бинарных подвижных фаз для жидкостной хроматографии. // Журнал физической химии, 2007. Т. 81, № 3. С. 438-441.
5. Рудаков О.Б., Подолина Е.А., Хорохордина Е.А., Харитонова Л.А. Влияние состава бинарных растворителей на экстракцию фенолов из водных сред // Журнал физической химии, 2007. Т.81, № 12. С.2278-2283.