

ISSN 2220-637X

Вісник
Харківського
Національного
Університету

№ 1123

СЕРІЯ «ХІМІЯ»

Вип. 23 (46)

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123.
Chemical series. Issue 23 (46).

Заснований 1935 року як
“Труди інституту хемії при Харківському державному університеті”

Харків 2014

Вісник містить статті, присвячені різним аспектам теоретичної хімії, хімічного аналізу, органічної хімії, спектроскопії, фізико-хімії розчинів та поверхневих явищ, електрохімії, хімічного матеріалознавства.

Для науковців і фахівців. Видання є фаховим в галузі хімічних наук.

Затверджено до друку рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (протокол № 8 від 29 серпня 2014 р.)

Редакційна колегія:

М. В. Базилевский	д.х.н., проф., Центр фотохімії РАН, Москва, Росія
І. М. В'юник	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
А. О. Дорошенко	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
В. В. Іванов	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
О. М. Калугін	к.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
О. І. Коробов	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна (відповідальний редактор)
В. І. Ларін	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
В. І. Лебідь	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
Л. П. Логінова	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
А. В. Лузанов	д.ф.-м.н., проф., НТК «Інститут монокристалів», Україна
М. О. Мчедлов-Петросян	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
А. Ю. Назаренко	PhD, Prof., Buffalo State College, USA
В. Д. Орлов	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
О. В. Преждо	PhD, Prof., University of Rochester, USA
Г. П. Радченкова	(відповідальний секретар)
Ю. В. Холін	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
В. О. Черановський	д.ф.-м.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
С. А. Шаповалов	д.х.н., с.н.с., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна
О. І. Юрченко	д.х.н., проф., ХНУ імені В. Н. Каразіна, Україна

Адреса редакційної колегії: Україна, 61022, Харків, майдан Свободи, 4,
ХНУ імені В. Н. Каразіна, хімічний факультет; тел.: +38 057 707 51 29.

E-mail: chembull@inbox.ru a.korobov@karazin.ua

<http://chembull.univer.kharkov.ua>

Статті пройшли внутрішнє та зовнішнє рецензування.

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 11825-696 ПП від 04.10.2006.

© Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна, оформлення, 2014

СОДЕРЖАНИЕ

- 5 Кинетика щелочного гидролиза дилаурилфлуоресцеина в водно-этанольной смеси и мицеллярном растворе цетилтриметиламмоний бромида. **Т. А. Чейпеш, Ю. В. Таранец, Н. О. Мчедлов-Петросян**
- 14 Дифференцирующее действие мицеллярных растворов катионного димерного ПАВ и наночастиц пирогенного кремнезема, модифицированных катионным димерным ПАВ, на кислотную ионизацию сульфопфталеиновых индикаторов. **Е. В. Пушкаревская, Т. Г. Бейник, Н. А. Водолазкая**
- 24 Мицеллярные эффекты в кинетике реакции щелочного гидролиза *l*-нитрофенилпальмитата. **Е. В. Рощина, Ю. Л. Литвинова, С. В. Ельцов**
- 32 Политермическое исследование процесса карбогалогенирования расплава эвтектики KBr-LiBr (0.4:0.6). **В. Л. Чергинец, Т. П. Реброва, В. А. Науменко, Т. В. Пономаренко**
- 39 Влияние мицеллярной среды этония на спектральные и протолитические свойства ряда индикаторных красителей. **Н. Н. Камнева, О. С. Быкова**
- 47 Різномірна асоціація катіонних барвників з гуміновими кислотами у водних розчинах. **Я. О. Свіщова, С. А. Шаповалов**
- 54 Влияние мицеллярной среды *n*-додецилсульфата натрия на протолитические свойства D,L-метионина, D,L-серина и их 2,4-динитрофенильных производных. **О. С. Чернышева, Я. А. Маслова**
- 61 Разделение и определение пищевых красителей E 110 и E 122 методом гель-электрофореза. **О. Ю. Коновалова, В. В. Тимченко, Н. А. Никитина**
- 73 Оценка вариабельности относительных времен удерживания ряда флавоноидов на хроматографических колонках C18. **И. В. Кудрис, А. Ю. Куликов, О. С. Чернышёва**
- 81 Фазовые равновесия в системах поли-N-винилпирролидон – неорганическая соль – вода. **Г. Д. Юхно, А. П. Красноперова, В. Д. Трифонов**
- 89 Профессор Олег Валерьевич Шишкн. **В. А. Чебанов, С. М. Десенко**

CONTENTS

- 5 Kinetics of alkaline hydrolysis of dilaurylfluorescein in aqueous ethanol and micellar solution of cetyltrimethylammonium bromide. **T. A. Cheipesh, Yu. V. Taranets, N. O. Mchedlov–Petrossyan**
- 14 The differentiating impact of micellar solution of dimeric surfactant and fumed silica nanoparticles modified by cationic dimeric surfactant on acidic ionization of sulfonephthalein indicators. **E. V. Pushkarevskaya, T. G. Beynik, N. A. Vodolazkaya**
- 24 Micellar effects in kinetics of reaction of alkaline hydrolysis *p*-nitrophenylpalmitate. **K. V. Roshchyna, U. L. Litvinova, S. V. Eltsov**
- 32 Polythermal investigation of carbohalogenation process of molten KBr–LiBr (0.4:0.6) eutectic. **V. L. Cherginets, T. P. Rebrova, V. A. Naumenko, T. V. Ponomarenko**
- 39 The influence of the micellar medium of aethonium on the spectral and protolytic properties of a set of indicator dyes. **N. N. Kamneva, O. S. Bykova**
- 47 Dissimilar association of cationic dyes with humic acids in aqueous solutions. **Ya. A. Svisheva, S. A. Shapovalov**
- 54 Effect of sodium n-dodecyl sulfate micellar medium on protolytic properties of D,L-methionine, D,L-serine and their 2,4-dinitrophenyl derivatives. **O. S. Chernysheva, J. A. Maslova**
- 61 Separation and determination of food dyes E 110 and E 122 by gel electrophoresis. **O. Yu. Konovalova, V. V. Timchenko, N. A. Nikitina**
- 73 The relative retention time variability evaluation for flavonoids retention on C18 chromatography columns. **I. V. Kudris, A. Yu. Kulikov, O. S. Chernyshova**
- 81 Phase equilibrium in systems poly-N-vinylpyrrolidone – inorganic salts – water. **G. D. Yukhno, A. P. Krasnopyorova, V. D. Trifonov**
- 89 Professor Oleg Valeryevich Shishkin. **V. A. Chebanov, S. M. Desenko**

УДК 544.4+541.182

КИНЕТИКА ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА ДИЛАУРИЛФЛУОРЕСЦЕИНА В ВОДНО-ЭТАНОЛЬНОЙ СМЕСИ И МИЦЕЛЛЯРНОМ РАСТВОРЕ ЦЕТИЛТРИМЕТИЛАММОНИЙ БРОМИДА

Т. А. Чейпеш, Ю. В. Таранец, Н. О. Мчедлов-Петросян

Спектрофотометрическим методом определены константы скорости двух последовательных реакций гидролиза дилаурилфлуоресцеина в смеси вода – этанол (50% масс.) и мицеллярном растворе цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ). В обеих системах скорость гидролиза второй сложноэфирной группы превышает скорость гидролиза первой приблизительно в 4 раза, что можно объяснить значительной стабилизацией лактонной нейтральной структуры индикатора в неводных средах.

Ключевые слова: дилаурилфлуоресцеин, щелочной гидролиз, константа скорости, мицеллы ЦТАБ, диэфир.

Гидролиз сложных диэфиров флуоресцеина, в частности, диацетилфлуоресцеина, часто применяется при исследовании активности ферментов в биологических средах [1–3] или организованных растворах [4,5], а также при оценке активности микроорганизмов в различных природных объектах [6–9].

Реакции неферментативного гидролиза производных флуоресцеина изучались реже, однако можно предположить, что их скорость значительно зависит от микроокружения красителя. Помимо диэлектрических и реологических свойств среды, в случае организованных растворов важную роль играет концентрация гидроксильных ионов в области локализации индикатора, которая может существенно отличаться от соответствующего значения этой величины в объемной фазе [10–13]. Поэтому применение подобных реакций как инструмента для выявления особенностей различных наноразмерных агрегатов, например, мицелл поверхностно-активных веществ, может оказаться весьма полезным.

Для исследования кинетики реакций этого типа чаще всего регистрируют изменение оптических свойств индикаторов. Действительно, гидролиз сложноэфирных групп, расположенных в хромофорной ксантеновой части красителей, приводит к значительным изменениям их спектральных свойств, что позволяет проследить ход реакции.

Для сравнения активности ферментов в различных образцах часто оказывается удобным и достаточным зафиксировать степень превращения диэфира в конечный продукт, флуоресцеин, применяя, например, метод Шнюрера и Россваля [14]. При этом через определенный промежуток времени после начала реакции реакцию замедляют добавлением ацетона и измеряют поглощение при длине волны 490 нм, соответствующей максимуму спектра дианиона флуоресцеина в водных растворах. Данный подход реализован, например, при исследовании почв в работах Тейлора [6] и Грина [7] или с небольшими модификациями в работах других авторов [9,15]. Для этих целей также можно контролировать интенсивность флуоресценции дианиона флуоресцеина [16].

Другие исследователи фиксировали зависимость интенсивности флуоресценции от времени, которая имеет линейный характер в случае как ферментативного, так и неферментативного гидролиза [17–19].

Следует подчеркнуть, что во всех упомянутых выше работах гидролиз диэфиров флуоресцеина рассматривается как одностадийный процесс. Однако, учитывая наличие двух сложноэфирных групп, необходимо рассматривать реакцию как совокупность двух последовательных стадий [20–22] (здесь **R** – ацильная группа):



Так как эксперимент в большинстве случаев проводится в условиях избытка щелочи или в буферном растворе, то убылью концентрации OH^- в ходе реакции можно пренебречь и представить процесс как последовательные реакции псевдопервого порядка [20,21]. В этом случае

константы скорости реакций псевдопервого порядка будут связаны с истинными константами скорости следующим соотношением:

$$k'_i = k_i c_{\text{OH}^-} \quad (1)$$

В этом случае текущие концентрации (в мольных долях от общей концентрации красителя, α_i) частиц – участников реакции в каждый момент времени, t , можно выразить в виде уравнений (2–4) [23]:

$$\alpha_{\text{R}_2\text{FI}} = \frac{[\text{R}_2\text{FI}]}{c_{\text{R}_2\text{FI}}^0} = e^{-k'_1 t} \quad (2)$$

$$\alpha_{\text{RFI}^-} = \frac{[\text{RFI}^-]}{c_{\text{R}_2\text{FI}}^0} = \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} (e^{-k'_1 t} - e^{-k'_2 t}) \quad (3)$$

$$\alpha_{\text{FI}^{2-}} = \frac{[\text{FI}^{2-}]}{c_{\text{R}_2\text{FI}}^0} = 1 - \frac{k'_2}{k'_2 - k'_1} e^{-k'_1 t} + \frac{k'_1}{k'_2 - k'_1} e^{-k'_2 t} \quad (4)$$

Здесь $c_{\text{R}_2\text{FI}}^0$ – исходная концентрация красителя, в квадратных скобках даны текущие концентрации соответствующих частиц.

Ранее были предприняты попытки определить значения k'_1 и k'_2 для гидролиза диацетилфлуоресцеина в водных растворах. Так, Зонтаг определял эти значения, исходя из зависимости интенсивности флуоресценции при 516 нм от времени, т.е. контролируя лишь образование ярко флуоресцирующего дианиона FI^{2-} [20]. Расчет двух значений констант скорости, исходя лишь из одной кинетической кривой, может быть источником значительных неопределенностей при недостаточном количестве измерений.

Гофман и Зернец [22] предложили другой метод определения k'_1 и k'_2 , основанный на изменении интенсивности флуоресценции в растворах диацетата и моноацетата флуоресцеина в присутствии фосфатных буферных растворов. При этом уменьшение длины волны возбуждения ($\lambda_{\text{ex}} = 365$ нм) позволило авторам изучить гидролиз по первой ступени, в условиях, когда флуоресценция дианиона флуоресцеина пренебрежимо мала. В этой работе также отмечено, что неферментативный гидролиз является реакцией первого порядка. Определение же k'_2 было затруднено, вследствие быстрого гидролиза моноацетата флуоресцеина и невозможности получить раствор этого вещества без примеси интенсивно флуоресцирующего флуоресцеина.

Перспективным для отдельного определения констант скорости гидролиза может оказаться метод электронной спектроскопии. В ходе реакции в хромофорной части красителя происходят значительные структурные изменения, следовательно, спектры поглощения разных форм значительно различаются (рисунок 1). В самом деле, растворы диэфиров флуоресцеина в условиях эксперимента существуют в форме лактона, который не поглощает свет в видимой области. Для дианиона флуоресцеина характерна интенсивная полоса поглощения с максимумом в области 490 – 500 нм. Так как в ходе реакции промежуточная форма – моноэфир флуоресцеина – образуется в небольшом количестве, то получить в чистом виде спектр этой частицы не представляется возможным. Однако можно предположить, что ее полоса поглощения совпадает со спектром моноанионов метоксифлуоресцеина или флуоресцеина, которые имеют сходное строение хромофорной ксантеновой части красителя и могут быть измерены экспериментально. Можно допустить, что моноанионная форма существует также в виде бесцветного лактона. Однако доказательств его существования в водных растворах для метоксифлуоресцеина и флуоресцеина нами найдено не было. Результаты подробного исследования этой проблемы будут опубликованы в следующей работе.

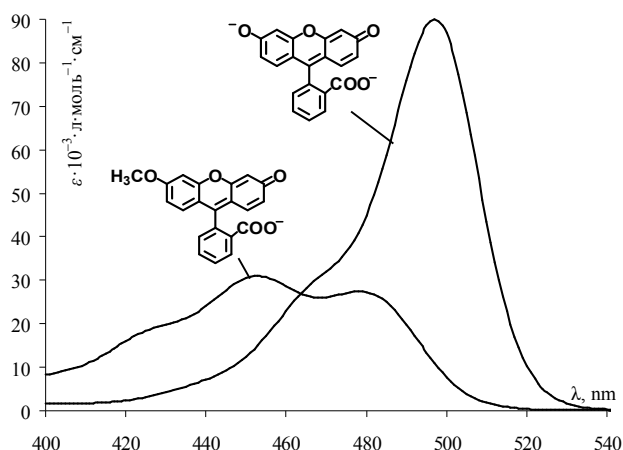
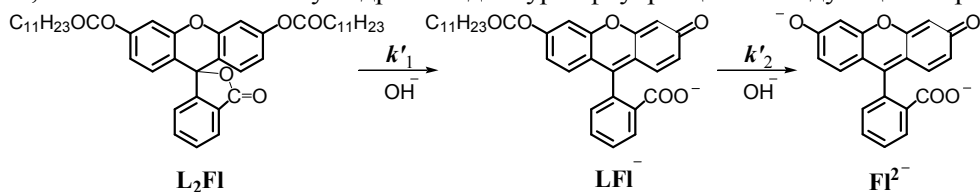


Рисунок 1. Спектры поглощения дианиона флуоресцеина и моноаниона метоксифлуоресцеина в смеси вода – этанол (50 % масс.).

В данной работе спектрофотометрический метод был применен для исследования кинетики гидролиза дилаурилфлуоресцеина как в истинных (водно-этанольных), так и мицеллярных растворах. Выбор водно-этанольного растворителя был обусловлен высокой гидрофобностью дилаурилфлуоресцеина и, как следствие, его низкой растворимостью в водных растворах с одной стороны и необходимостью создания микроокружения зонда, подобного мицеллярному, с другой.

Дилаурилфлуоресцеин является гидрофобным соединением и полностью связывается мицеллярной псевдофазой в водных растворах. Это обстоятельство позволяет рассматривать этот индикатор в качестве перспективного зонда для исследования различных мицеллоподобных агрегатов. Учитывая отсутствие лактонной структуры моноаниона и бесцветность молекулярной формы, можно записать схему гидролиза дилаурилфлуоресцеина следующим образом:



Как видно из рисунка 1, имеется диапазон длин волн, в котором два спектра частиц FI^{2-} и LFI^- практически не перекрываются. Это обстоятельство можно использовать для оценки значений k'_1 и k'_2 раздельно. Предположим также, что скорость внутримолекулярной перегруппировки, которая приводит к превращению лактонной структуры LFI^- в карбоксилатную, очень высока.

Экспериментальная часть

Измерения оптического поглощения проводились при помощи спектрофотометра Hitachi U-2000, оснащенного термостатируемым кюветным отделением. Для измерения ЭДС цепи с переносом со стеклянным электродом компенсационным методом использовали потенциометр постоянного тока П 37-1, класс точности 0.01, и рН-метр милливольтметр рН-121 в качестве нуля-инструмента. Калибровка электрода проводилась по стандартным буферным растворам (рН 9.18; 6.86; 4.01; 1.68) Для термостатирования рабочих растворов использовали водяной ультратермостат УТ-15 с точностью термостатирования $\pm 0.05^\circ\text{C}$.

Исходный раствор дилаурилфлуоресцеина в ацетоне смешивали с этанолом (96% об.) или раствором ЦТАБ, выдерживали 15 – 20 мин для установления рабочей температуры и добавляли боратный буферный раствор, предварительно нагретый до той же температуры. Время добавления буферного раствора считали временем начала реакции. В рабочем растворе объемная доля ацетона не превышала 1 – 2 %. Кислотность раствора определяли потенциометрически.

Концентрации индикатора рабочем растворе составляли $(5 - 10) \cdot 10^{-6}$ моль/л. Концентрации ЦТАБ и индикатора выбирались таким образом, чтобы концентрация мицелл вдвое превышала концентрацию субстрата.

При исследовании фиксировали зависимости оптического поглощения рабочего раствора от времени при одной длине волны, либо получали полный спектр раствора. Время измерения спектра составляло 29 с, учет которого незначительно изменял результаты расчета. Эксперимент проводили в условиях термостатирования при 25 °С.

Результаты и обсуждение

Располагая набором спектров поглощения растворов дилаурилфлуоресцеина в щелочной среде, измеренных через разные промежутки времени от начала реакции, с учетом бесцветности дилаурилфлуоресцеина, можно рассчитать текущие концентрации всех форм по уравнениям:

$$\frac{A_{\lambda_i} \varepsilon_{\lambda_i, \text{FI}^{2-}}}{A_{\lambda_i, \infty}} = \alpha_{\text{LFI}^-} \varepsilon_{\lambda_i, \text{LFI}^-} + \alpha_{\text{FI}^{2-}} \varepsilon_{\lambda_i, \text{FI}^{2-}} \quad (5)$$

$$\alpha_{\text{L}_2\text{FI}} + \alpha_{\text{LFI}^-} + \alpha_{\text{FI}^{2-}} = 1 \quad (6)$$

где A_{λ_i} и $A_{\lambda_i, \infty}$ – светопоглощение при i -й длине волны в данный момент времени и в условиях полного превращения красителя в дианион соответственно, ε_{λ_i} – коэффициент молярного поглощения соответствующей частицы при той же длине волны, которые были получены экспериментально для частицы FI^{2-} и смоделированы спектром метоксифлуоресцеина или моноаниона флуоресцеина для частицы LFI^- . Далее, исходя из зависимостей мольных долей трех частиц от времени, по уравнениям (2 – 4), можно рассчитать константы скорости реакций псевдопервого порядка.

Анализируя серии спектров поглощения в процессе протекания реакции при нормировании спектров к поглощению в области максимума поглощения (рисунок 2), можно увидеть, что соотношение поглощения при длинах волн 500 и 440 нм изменяется с течением времени, что подтверждает образование обнаружимого количества промежуточного аниона LFI^- в ходе реакции. Об этом также свидетельствует наличие максимума на зависимости поглощения при 430 нм от времени (рисунок 3).

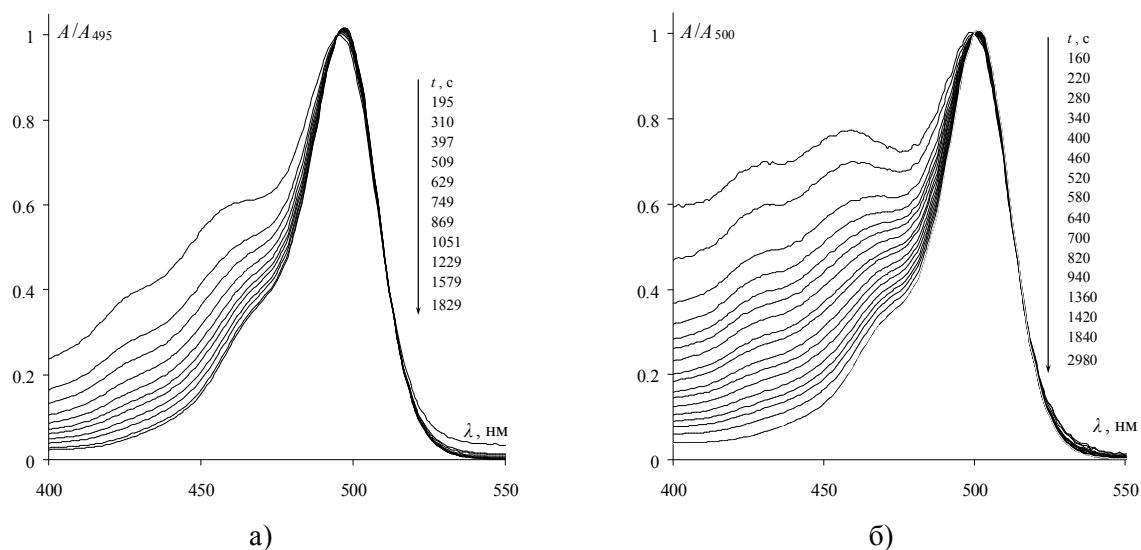


Рисунок 2. Нормированные спектры поглощения раствора дилаурилфлуоресцеина в ходе реакции гидролиза в боратном буферном растворе в смеси вода – этанол (50 % масс., $\text{pH} = 10.8$) (а) и растворе цетилтриметиламмоний бромид ($c = 3 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $\text{pH} = 9.0$) (б). На рисунке t – время от начала реакции.

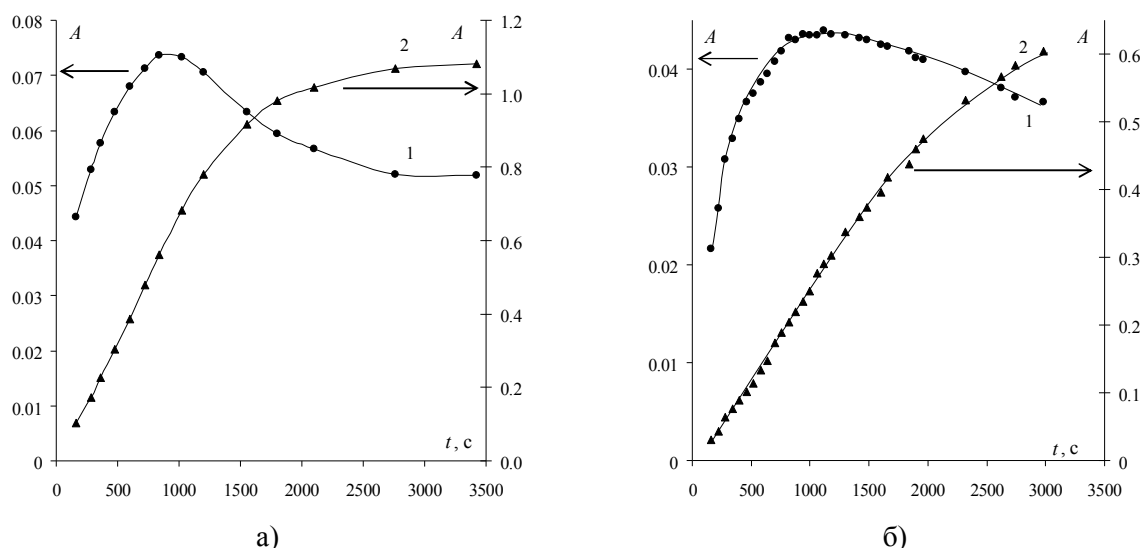


Рисунок 3. Зависимость светопоглощения раствора дилаурилфлуоресцеина в смеси вода – этанол (50 % масс.) (а) и растворе цетилтриметиламмоний бромида ($c = 3 \cdot 10^{-3}$ моль/л) (б) от времени при 430 нм (1) и 500 нм (2).

В результате расчетов получены зависимости мольных долей трех частиц от времени (рисунок 4). Положение максимума кривой (2) зависит от значений k'_1 и k'_2 [23]:

$$t_{\max} = \frac{\ln k'_2 - \ln k'_1}{k'_2 - k'_1} \quad (7)$$

$$\alpha_{\text{LFI}^-}_{\max} = \left(\frac{k'_2}{k'_1} \right)^{\frac{k'_2/k'_1}{1-k'_2/k'_1}} \quad (8)$$

О справедливости сделанных допущений и расчетов свидетельствует линейный характер зависимости логарифма доли дилаурилфлуоресцеина от времени, который можно прогнозировать, исходя из уравнения (2). Исходя из данной зависимости, можно рассчитать значение k'_1 . Аналогично была исследована кинетика гидролиза в мицеллярной среде ЦТАБ в водных растворах дилаурилфлуоресцеина (рисунки 2–4).

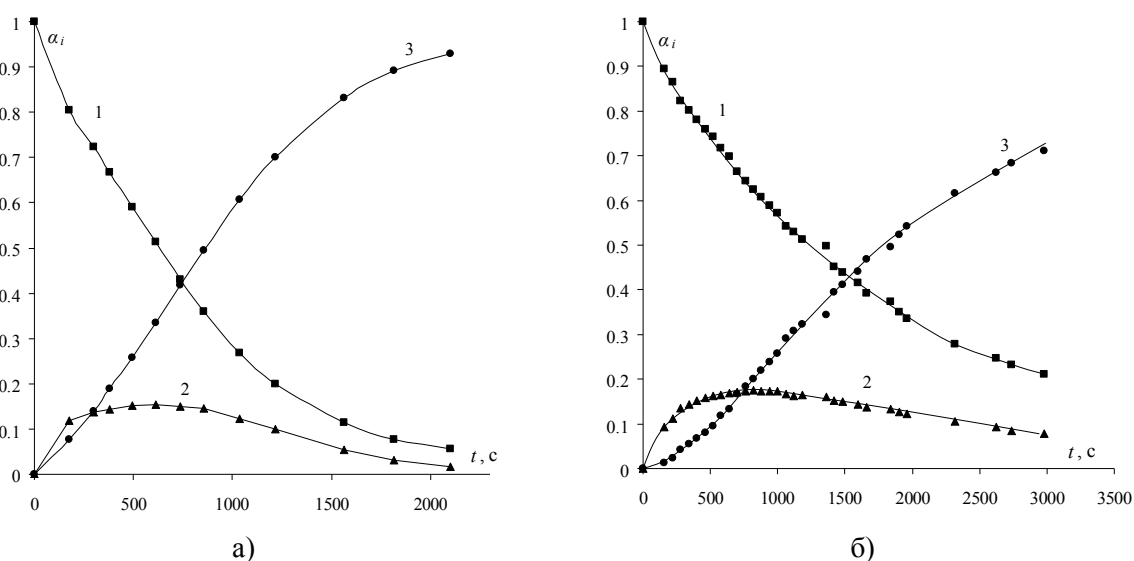


Рисунок 4. Зависимость мольной доли дилаурилфлуоресцеина L_2FI (1), аниона монолаурилфлуоресцеина LFI^- (2) и дианиона флуоресцеина FI^{2-} (3) от времени в процессе реакции щелочного гидролиза в смеси вода – этанол (50 % масс.) (а) и растворе цетилтриметиламмоний бромида ($c = 3 \cdot 10^{-3}$ моль/л) (б)

Таблица 1. Константы щелочного гидролиза дилаурилфлуоресцеина в различных средах.

Среда	$k'_1, \text{с}^{-1}$	$k'_2, \text{с}^{-1}$	k'_2 / k'_1
Смесь вода – этанол (50 % масс.) $p\alpha_{\text{H}^+}^* = 10.6$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$5.6 \cdot 10^{-3}$	4.3
Мицеллярный раствор ЦТАБ pH = 9.0	$5.5 \cdot 10^{-4}$	$2.0 \cdot 10^{-3}$	3.6

Как видно из таблицы 1, гидролиз по второй ступени в водно-этанольной среде проходит быстрее, чем по первой. Для субстрата, локализованного в слое Штерна мицелл ЦТАБ, данная тенденция сохраняется. Качественно это согласуется с полученными ранее результатами для гидролиза диацетилфлуоресцеина в водных растворах в присутствии фосфатного буфера, однако в этом случае скорость гидролиза по второй ступени лишь в 1.5 раза превышает скорость гидролиза по первой ($k'_1 = 1.5 \cdot 10^{-4} \text{с}^{-1}$, $k'_2 = 2.5 \cdot 10^{-4} \text{с}^{-1}$ при pH = 7) [22].

Такое ускорение второй ступени гидролиза, по сравнению с первой, кажется странным, если учесть, что в результате гидролиза по первой ступени образуется отрицательно заряженная частица, и взаимодействие с гидроксид-ионом должно быть затруднено. Действительно, в литературе описаны методы получения моноэфиров дикарбоновых кислот, в том числе и янтарной, при гидролизе соответствующих диэфиров с выходом 70 % и более [24,25]. Также в качестве примера можно привести омыление диметилфталата в водной среде, для которого значение k'_1 превышает k'_2 по меньшей мере в 10 раз [26,27].

Наблюдаемое поведение субстрата можно объяснить стабилизацией нейтральной лактонной формы, которая хорошо выражена в неполярной или малополярной неводной среде. Так, с уменьшением полярности растворителя доля нейтрального лактонного таутомера увеличивается, по сравнению с хиноидным, что затрудняет депротонирование моноаниона. В конечном счете, это приводит в некоторых случаях к инверсии констант ступенчатой диссоциации [28]. В данном случае хорошо прослеживается аналогия между протолитическими равновесиями и кинетикой гидролиза производных флуоресцеина.

Литература

1. Li X., Higashikubo R., Taylor J.-S. Use of multiple carboxylates to increase intracellular retention of fluorescent probes following release from cell penetrating fluorogenic conjugates // *Bioconjug. Chem.* – 2008. – Vol. 19. – № 1. – P. 50–56.
2. Swisher R., Carroll G.C. Fluorescein diacetate as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces // *Microb. Ecol.* – 1980. – Vol. 6. – № 3. – P. 217–226.
3. Sontag W. Changes of fluoresceindiacetate hydrolysis and transport in mammalian cells after ultra-violet and gamma irradiation // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1977. – Vol. 14. – № 1. – P. 13–20.
4. Малеваний С.В., Водолазкая Н.А., Мчедлов-Петросян Н.О., Орлов В.Д. Стабилизация холинэстеразы в мицеллярной среде цвиттерионного поверхностно-активного вещества // *Доп. НАН України.* – 2003. – № 1. – С. 145–148.
5. Малеваний С.В., Водолазкая Н.А., Мчедлов-Петросян Н.О., Орлов В.Д. Диацетилфлуоресцеин как флуорогенный субстрат холинэстеразы // *Вісник ХНУ.* – 2000. – № 495, вип. 6 (29). – С. 34–39.
6. Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., Burns R.G. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques // *Soil Biol. Biochem.* – 2002. – Vol. 34. – № 3. – P. 387–401.
7. Green V.S., Stott D.E., Diack M. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples // *Soil Biol. Biochem.* – 2006. – Vol. 38. – № 4. – P. 693–701.
8. Battin T.J. Assessment of fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total esterase activity in natural stream sediment biofilms // *Sci. Total Environ.* 1997. Vol. 198, № 1. P. 51–60.
9. Adam G., Duncan H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils // *Soil Biol. Biochem.* – 2001. – Vol. 33. – № 7-8. – P. 943–951.

10. Blaskó A., Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S. Burns R.G. Micellar rate effects on reactions of hydroxide ion with phosphate and thiophosphinate esters // *J. Phys. Org. Chem.* – 1991. – Vol. 4. – № 10. – P. 618–628.
11. Bunton C.A. Micellar rate effects: assumptions and approximations // *Arkivoc.* – 2011 (vii). – P. 490–504.
12. Mchedlov-Petrosyan N.O. Protolytic equilibrium in lyophilic nanosized dispersions: Differentiating influence of the pseudophase and salt effects // *Pure Appl. Chem.* – 2008. – Vol. 80. – № 7. – P. 1459–1510.
13. Bunton C.A., Nome F., Quina F.H. Romsted L.S. Ion binding and reactivity at charged aqueous interfaces // *Acc. Chem. Res.* – 1991. – Vol. 24. – № 12. – P. 357–364.
14. Schnürer J., Rosswall T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1982. – Vol. 43. – № 6. – P. 1256–1261.
15. Breeuwer P., Drocourt J.-L., Bunschoten N., Zwietering M.H., Rombouts F.M., Abee T. Characterization of uptake and hydrolysis of fluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate by intracellular esterases in *Saccharomyces cerevisiae*, which result in accumulation of fluorescent product. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61. – № 4. – P. 1614–1619.
16. Vitecek J., Petrova J., Adam V. Havel L., Kramer K.J., Babula P., Kizek R.A. A fluorimetric sensor for detection of one living cell // *Sensors.* – 2007. – Vol. 7. – № 3. – P. 222–238.
17. Ge F.-Y., Chen L.-G., Zhou X.-L., Pan H.-Y., Yan F.-Y. Bai G.-Y. Yan X.-L. Synthesis and study on hydrolytic properties of fluorescein esters // *Dyes and Pigments* – 2007. – Vol. 72. – № 3. – P. 322–326.
18. Eshghi H., Mirzaie N., Asoodeh A. Synthesis of fluorescein aromatic esters in the presence of P₂O₅/SiO₂ as catalyst and their hydrolysis studies in the presence of lipase // *Dyes and Pigments* – 2011. – Vol. 89. – № 2. – P. 120–126.
19. Rotman B., Papermaster B.W. Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1966. – Vol. 55. – № 1. – P. 134–141.
20. Sontag W. A Comparative kinetic study on the conversion of fluoresceindiacetate to fluorescein in living cells and in vitro // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1977. – Vol. 14. – № 1. – P. 1–12.
21. Anzo K., Harada M., Okada T. Enhanced kinetics of pseudo first-order hydrolysis in liquid phase coexistent with ice // *J. Phys. Chem. A.* – 2013. – Vol. 117. – № 41. – P. 10619–10625.
22. Hofmann J., Sernetz M. A Kinetic study on the enzymatic hydrolysis of fluoresceindiacetate and fluorescein-di-β-D-galactopyranoside // *Anal. Biochem.* – 1983. – Vol. 131. – № 1. – P. 180–186.
23. Эмануэль Н.М., Кнорре Д.Г. Курс химической кинетики. – М: Высш. шк., 1984. – С. 251 – 254.
24. Niwayama S. Highly efficient selective monohydrolysis of symmetric diesters // *J. Org. Chem.* – 2000. – Vol. 65. – № 18. – P. 5834–5836.
25. Niwayama S., Wang H., Hiraga Y., Clayton J.C. Influence of co-solvents in the highly efficient selective monohydrolysis of a symmetric diester // *Tetrahedron Lett.* – 2007. – Vol. 48. – № 48. – P. 8508–8510.
26. Bahram M. Mean centering of ratio spectra as a new method for determination of rate constants of consecutive reactions. // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 603. – № 1. – P. 13–19.
27. Tjahjono M., Huiheng Ch., Widjaja E., Sa-ei K., Garland M. Combined on-line transmission FTIR measurements and BTEM analysis for the kinetic study of a consecutive reaction in aqueous-organic phase medium // *Talanta.* – 2009. – Vol. 79. – № 3. – P. 856–862.
28. Mchedlov-Petrosyan N.O., Mayorga R.S. Extraordinary character of the solvent influence on protolytic equilibria: inversion of the fluorescein ionization constants in H₂O-DMSO mixtures // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1992. – Vol. 88. – № 20. – P. 3025–3032.

References

1. Li X., Higashikubo R., Taylor J.-S. Use of multiple carboxylates to increase intracellular retention of fluorescent probes following release from cell penetrating fluorogenic conjugates // *Bioconjug. Chem.* – 2008. – Vol. 19. – № 1. – P. 50–56.

2. Swisher R., Carroll G.C. Fluorescein diacetate as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces // *Microb. Ecol.* – 1980. – Vol. 6. – № 3. – P. 217–226.
3. Sontag W. Changes of fluoresceindiacetate hydrolysis and transport in mammalian cells after ultra-violet and gamma irradiation // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1977. – Vol. 14. – № 1. – P. 13–20.
4. Maljovany S.V., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Orlov V.D. Stabilizaciya holinesterazy' v micellyarnoy srede cvitterionnogo poverhnostno-aktivnogo vesch'estva // *Dop. NAN Ukrainy.* – 2003. – № 1. – P. 145–148 [in Russian].
5. Maljovany S.V., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Orlov V.D. Diacetylfluorescein kak fluorogenny'y substrat holinesterazy' // *Visn. Hark. nac. univ., № 495, Ser. Him., issue 6(29), P. 34–39* [in Russian].
6. Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., Burns R.G. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques // *Soil Biol. Biochem.* – 2002. – Vol. 34. – № 3. – P. 387–401.
7. Green V.S., Stott D.E., Diack M. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples // *Soil Biol. Biochem.* – 2006. – Vol. 38. – № 4. – P. 693–701.
8. Battin T.J. Assessment of fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total esterase activity in natural stream sediment biofilms // *Sci. Total Environ.* – 1997. – Vol. 198. – № 1. – P. 51–60.
9. Adam G., Duncan H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils // *Soil Biol. Biochem.* – 2001. – Vol. 33. – № 7-8. – P. 943–951.
10. Blaskó A., Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., Burns R.G. Micellar rate effects on reactions of hydroxide ion with phosphate and thiophosphinate esters // *J. Phys. Org. Chem.* – 1991. – Vol. 4. – № 10. – P. 618–628.
11. Bunton C.A. Micellar rate effects: assumptions and approximations // *Arkivoc.* – 2011 (vii). – P. 490–504.
12. Mchedlov-Petrosyan N.O. Protolytic equilibrium in lyophilic nanosized dispersions: Differentiating influence of the pseudophase and salt effects // *Pure Appl. Chem.* – 2008. – Vol. 80. – № 7. – P. 1459–1510.
13. Bunton C.A., Nome F., Quina F.H., Romsted L.S. Ion binding and reactivity at charged aqueous interfaces // *Acc. Chem. Res.* – 1991. – Vol. 24. – № 12. – P. 357–364.
14. Schnürer J., Rosswall T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1982. – Vol. 43. – № 6. – P. 1256–1261.
15. Breeuwer P., Drocourt J.-L., Bunschoten N., Zwietering M.H., Rombouts F.M., Abee T. Characterization of uptake and hydrolysis of fluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate by intracellular esterases in *Saccharomyces cerevisiae*, which result in accumulation of fluorescent product. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61. – № 4. – P. 1614–1619.
16. Vitecek J., Petrlova J., Adam V., Havel L., Kramer K.J., Babula P., Kizek R.A. A fluorimetric sensor for detection of one living cell // *Sensors.* – 2007. – Vol. 7. – № 3. – P. 222–238.
17. Ge F.-Y., Chen L.-G., Zhou X.-L., Pan H.-Y., Yan F.-Y., Bai G.-Y., Yan X.-L. Synthesis and study on hydrolytic properties of fluorescein esters // *Dyes and Pigments* – 2007. – Vol. 72. – № 3. – P. 322–326.
18. Eshghi H., Mirzaie N., Asoodeh A. Synthesis of fluorescein aromatic esters in the presence of P₂O₅/SiO₂ as catalyst and their hydrolysis studies in the presence of lipase // *Dyes and Pigments* – 2011. – Vol. 89. – № 2. – P. 120–126.
19. Rotman B., Papermaster B.W. Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1966. – Vol. 55. – № 1. – P. 134–141.
20. Sontag W. A Comparative kinetic study on the conversion of fluoresceindiacetate to fluorescein in living cells and in vitro // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1977. – Vol. 14. – № 1. – P. 1–12.
21. Anzo K., Harada M., Okada T. Enhanced kinetics of pseudo first-order hydrolysis in liquid phase coexistent with ice // *J. Phys. Chem. A.* – 2013. – Vol. 117. – № 41. – P. 10619–10625.
22. Hofmann J., Sernetz M. A Kinetic study on the enzymatic hydrolysis of fluoresceindiacetate and fluorescein-di-β-D-galactopyranoside // *Anal. Biochem.* – 1983. – Vol. 131. – № 1. – P. 180–186.

23. Emanuel N. M., Knorre D. G. Kurs himicheskoy kinetiki. – Moskow: Vy'sshaya shkola, 1984. – P. 251 – 254 [in Russian].
24. Niwayama S. Highly efficient selective monohydrolysis of symmetric diesters // J. Org. Chem. – 2000. – Vol. 65. – № 18. – P. 5834–5836.
25. Niwayama S., Wang H., Hiraga Y., Clayton J.C. Influence of co-solvents in the highly efficient selective monohydrolysis of a symmetric diester // Tetrahedron Lett. – 2007. – Vol. 48. – № 48. – P. 8508–8510.
26. Bahram M. Mean centering of ratio spectra as a new method for determination of rate constants of consecutive reactions. // Anal. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 603. – № 1. – P. 13–19.
27. Tjahjono M., Huiheng Ch., Widjaja E., Sa-ei K., Garland M. Combined on-line transmission FTIR measurements and BTEM analysis for the kinetic study of a consecutive reaction in aqueous-organic phase medium // Talanta. – 2009. – Vol. 79. – № 3. – P. 856–862.
28. Mchedlov-Petrosyan N.O., Mayorga R.S. Extraordinary character of the solvent influence on protolytic equilibria: inversion of the fluorescein ionization constants in H₂O-DMSO mixtures // J. Chem. Soc., Faraday Trans. – 1992. – Vol. 88. – № 20. – P. 3025–3032.

Поступила в редакцию 11 мая 2014 г.

Т. О. Чейпеш, Ю. В. Таранец, М. О. Мчедлов-Петросьян. Кинетика лужного гідролізу дилаурилфлуоресцеїну в водно-етанольній суміші та мицелярному розчині цетилтриметиламоній броміду.

Спектрофотометричним методом визначені константи швидкості двох послідовних реакцій гідролізу дилаурилфлуоресцеїну в суміші вода – етанол (50% мас.) та мицелярному розчині цетилтриметиламоній броміду (ЦТАБ). В обох системах швидкість гідролізу другої естерної групи перевищує швидкість гідролізу першої приблизно у 4 рази, що можна пояснити значною стабілізацією лактонної нейтральної форми індикатора в малополярних середовищах.

Ключові слова: дилаурилфлуоресцеїн, гідроліз, константа швидкості, мицели ЦТАБ, діестер.

T. A. Cheipesh, Yu. V. Taranets, N. O. Mchedlov–Petrosyan. Kinetics of alkaline hydrolysis of dilaurylfluorescein in aqueous ethanol and micellar solution of cetyltrimethylammonium bromide.

The rate constants of two consecutive reactions of dilaurylfluorescein hydrolysis in the aqueous ethanol (50% wt.) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) micellar solutions were determined by spectrophotometrical method. In both systems, the rate of hydrolysis of the second ester group exceeds the rate of hydrolysis of the first one ca. in 4-fold, due to the significant stabilization of the neutral lactone form of indicator in low-polar media.

Key words: dilauryl fluorescein, hydrolysis, rate constant, CTAB micelles, diester.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 543.42.062+544.77+547.633.6

ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ КАТИОННОГО ДИМЕРНОГО ПАВ И НАНОЧАСТИЦ ПИРОГЕННОГО КРЕМНЕЗЕМА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ КАТИОННЫМ ДИМЕРНЫМ ПАВ, НА КИСЛОТНУЮ ИОНИЗАЦИЮ СУЛЬФОФТАЛЕИНОВЫХ ИНДИКАТОРОВ

Е. В. Пушкаревская, Т. Г. Бейник, Н. А. Водолазкая

Изучено влияние мицеллярных растворов димерного бис-четвертичного аммониевого ПАВ (16-4-16) и наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем этого ПАВ, на кислотно-основное равновесие ряда сульфоталеиновых индикаторов. Обнаружено дифференцирующее действие изученных лиофильных дисперсий по отношению к кислотной ионизации сульфоталеинов, выраженное в большей степени, чем в мицеллах катионного ПАВ с одной углеводородной цепочкой.

Ключевые слова: кислотно-основное равновесие, сульфоталеиновый индикатор, мицелла димерного ПАВ, наночастица кремнезема, покрытая бислоем димерного ПАВ, «кажущаяся» константа ионизации, дифференцирующее действие.

Хорошо известно, что идеальными зондами для исследования сольватационных свойств организованных растворов являются индикаторные красители [1-6], спектральные и кислотно-основные свойства которых чувствительно реагируют на локальное окружение.

К настоящему времени имеется множество работ, посвященных изучению протолитических равновесий органических электролитов, в частности индикаторов, в мицеллярных растворах обычных ПАВ разных типов [4] и в других типах организованных сред [5]. Однако данные о таких исследованиях в лиофильных дисперсиях, содержащих мицеллы димерных ПАВ или наночастицы пирогенного кремнезема, поверхность которых покрыта бислоем этого ПАВ, в литературе практически отсутствуют.

Димерные ПАВ (Gemini surfactants) представляют собой поверхностно-активные вещества, имеющие две углеводородные цепочки и две полярные головные группы, которые связаны между собой спейсерной группой [1,2,7-10]. По сравнению с ПАВ, содержащими одну углеводородную цепочку, димерные аналоги обладают рядом специфических свойств: низкими значениями критической концентрации мицеллообразования (ККМ) и температуры Крафта, высокой поверхностной активностью и сольбилизирующей способностью, многообразием образующихся по форме агрегатов [1,2,7,9,10]. Одной из наиболее изученных, с точки зрения физико-химических свойств, групп димерных ПАВ являются бис-четвертичные аммониевые соли [2,3,7].

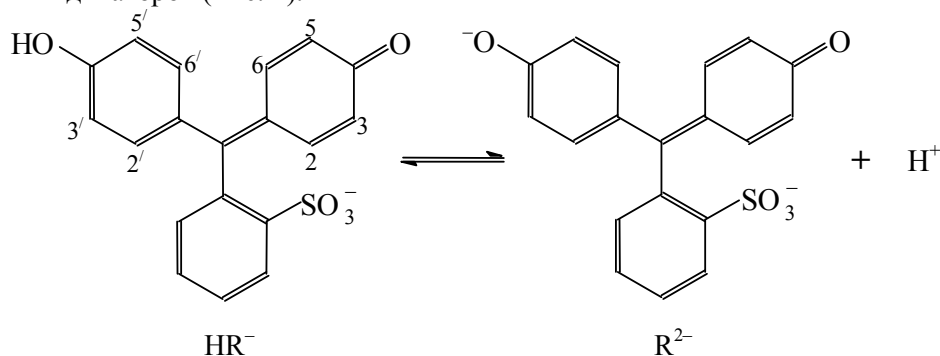
Дисперсный нанопористый аморфный нанокремнезем благодаря своим уникальным химическим и физическим свойствам широко используется в различных отраслях промышленности [11-13], в том числе входит в фармакопии многих стран мира в качестве вспомогательного вещества в производстве лекарственных препаратов [14-16]. Расширение сфер использования нанокремнезема приводит к потребности целенаправленного изменения свойств его поверхности посредством различных видов модифицирования [5,17-19], в частности, различными ПАВ. Поверхность наночастиц кремнезема, полученных в результате обжига некоторых веществ (например, тетраоксида кремния), представлена смесью силанольных ($-\text{SiOH}$) и силоксановых ($-\text{Si-O-Si-}$) групп в результате чего достаточно гидрофобна [20]. Поэтому актуальным вопросом при использовании такого рода частиц является модификация их поверхности посредством коллоидных ПАВ [21-23].

Ранее [24] нами были исследованы кислотно-основные равновесия некоторых сульфоталеиновых индикаторов в мицеллярных растворах катионного димерного ПАВ. Ключевой характеристикой индикатора в организованных растворах является определяемая спектрофотометрически с потенциометрическим контролем рН так называемая «кажущаяся» константа ионизации, K_a^a [4,5]:

$$pK_a^a = pH_w + \lg \frac{\sum [HR^z]}{\sum [R^{z-1}]} \quad (1)$$

где значение pH_w относится к непрерывной водной фазе, а равновесные концентрации сопряженных форм индикатора $[HR^z]$ и $[R^{z-1}]$ отнесены к общему объему раствора. Знак суммы означает, что при данном подходе учитываются равновесные концентрации как связанных, так и не связанных псевдофазой форм индикатора.

В настоящей работе нами было использовано димерное бис-четвертичное аммониевое ПАВ ($Br^-, C_{16}H_{33}(CH_3)_2N^+-(CH_2)_4-^+N(CH_3)_2C_{16}H_{33}, Br^-$, 16-4-16) [24], аналогичное по структуре «мономерному» ПАВ цетилтриметиламмоний бромиду, а также наночастицы пирогенного кремнезема, покрытые бислоем этого ПАВ, для изучения влияния лиофильных дисперсий, содержащих частицы такого рода, на спектральные и кислотно-основные свойства ряда сульфоталеиновых индикаторов (Рис. 1).



Индикатор	2,2'	3,3'	5,5'	6,6'
Феноловый красный (ФК)	H	H	H	H
Бромфеноловый синий (БФС)	H	Br	Br	H
Бромкрезоловый зеленый (БКЗ)	CH ₃	Br	Br	H
Бромтимоловый синий (БТС)	H	CH(CH ₃) ₂	Br	CH ₃
o-Крезоловый красный (o-КК)	H	H	CH ₃	H
Тимоловый синий (ТС)	H	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃
Бромфеноловый красный (БФК)	H	Br	H	H
Бромкрезоловый пурпурный (БКП)	H	Br	CH ₃	H

Рисунок 1. Структурные формулы сульфоталеиновых индикаторов и схема их ионизации.

Экспериментальная часть

Использовали димерное ПАВ (16-4-16), которое ранее было синтезировано в нашей лаборатории [24]. Значение ККМ, предварительно определенное нами кондуктометрическим методом, составляет $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л [24].

Пирогенный кремнезем «Асил-300» с массовой долей диоксида кремния 99.9% в пересчете на прокаленное вещество и удельной поверхностью $328 \text{ м}^2/\text{г}$, который был любезно предоставлен нам д.х.н., профессором В. А. Тёртых.

Сульфоталеиновые индикаторы (Шосткинский завод химреактивов) использовались без дополнительной очистки.

Хлорид натрия, фосфорная, уксусная и хлороводородная кислоты были квалификации ХЧ; тетраборат натрия перекристаллизовывали из воды при температуре $60 \text{ }^\circ\text{C}$, затем сушили на воздухе.

Для приготовления буферных растворов использовался раствор NaOH, защищенный от CO₂. Значения pH варьировали при помощи боратных, фосфатных и ацетатных буферных растворов, а также растворов HCl и NaOH. Ионная сила, *I*, в мицеллярных растворах ПАВ составляла 0.05 М (NaCl + компоненты буферного раствора или HCl). В растворах, содержащих частицы кремнезема, покрытые бислоем димерного ПАВ, *I* = 0.03 М [5]. Кислотность варьировали от pH = 12 до 1 М HCl, при pH < 1.3 ионная сила превышала значение 0.05 М.

Известно, что растворы димерных ПАВ при высоких концентрациях электролитов или увеличении концентрации самого ПАВ склонны к мицеллярным перестройкам [11]. Так, в нашем случае при концентрации 1 М HCl растворы ПАВ (1·10⁻⁴ М) становились очень вязкими и появлялся белый осадок, вероятно, вследствие полиморфных превращений. Следует отметить, что растворы, содержащие наночастицы кремнезема, модифицированные димерным катионным ПАВ, устойчивы как при достаточно низких, так и при высоких значениях pH.

В ходе исследования было найдено оптимальное соотношение концентрации наночастиц пирогенного кремнезема (радиус частицы SiO₂ составляет примерно 4 нм) и димерного ПАВ, при котором на поверхности наночастиц формируется бислоем молекул димерного ПАВ и не образуются мицеллы ПАВ в объемной фазе. Это соотношение составляет 0.01 г SiO₂ на 3·10⁻⁵ молей димерного ПАВ в литре раствора.

Исходную суспензию кремнезема готовили с концентрацией 0.25 г/л при обработке ультразвуком в течение 20 минут. При приготовлении рабочих растворов для исследования протолитических равновесий индикаторов в суспензии наночастиц кремнезема, модифицированных димерным ПАВ, строго соблюдался порядок добавления компонентов. Так, в первую очередь смешивались суспензия кремнезема и раствор ПАВ. После тщательного перемешивания и по истечении 20 минут в раствор вводились буферные компоненты и, наконец, раствор красителя.

Рабочие растворы готовили объемным методом путем отбора аликвот исходных растворов при термостатировании (25.0±0.1 °С).

Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре UV-Vis Varian Cary 50 и Hitachi U-2000 в кварцевых кюветках с длиной поглощающего слоя 1 см и с точностью 1 нм при температуре 25 °С. Исходные растворы красителей готовили в воде; их концентрация в рабочих растворах была порядка 10⁻⁵ М.

Значения pH определяли при 25 °С с помощью pH-метра Professional Meter PP-20 фирмы Sartorius (градуировка стеклянного электрода была произведена с помощью стандартных буферных растворов 1.68, 4.01, 6.86, 9.18).

Результаты и обсуждение

Значение pK_a^a , характеризующее равновесие ионизации сульфоталеиновых красителей в лиофильных дисперсиях, рассчитывали по уравнению [5,24]:

$$pK_a^a = pH_w + \lg \frac{A_{R^{2-}} - A}{A - A_{HR^-}}, \quad (2)$$

где *A* – поглощение красителя при соответствующем значении pH; *A*_{R²⁻}, *A*_{HR⁻} – значения *A* при полном превращении красителя в форму R²⁻ и HR⁻ соответственно.

В таблицах 1 и 2 приведены значения pK_a^a и λ_{max} изученных красителей в мицеллах димерного ПАВ (16-4-16) и в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ.

На рис. 2 представлены спектры поглощения сопряженных форм бромкрезолового пурпурного и тимолового синего в мицеллах димерного ПАВ и в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ. Гипсохромное смещение полосы поглощения моноаниона и батохромный сдвиг дианиона сульфоталеинов являются характерными при переходе от воды к неводному окружению, в том числе для мицеллярных растворов катионных ПАВ [4]. Во всех случаях положения максимумов спектров поглощения сопряженных форм сульфоталеиновых индикаторов в мицеллах димерного ПАВ практически совпадают с величинами, полученными для мицеллярных систем обычных катионных ПАВ [4].

Таблица 1. Значения pK_a^a и λ_{\max} сульфопфталеиновых индикаторов в мицеллах димерного ПАВ ($1 \cdot 10^{-4}$ М), $I = 0.05$ М, 25°C

Индикатор	pK_a^a (ΔpK_a^a) ^a	ΔpK_a^a , ЦТАБ ^б , 0.05 М КВr [4]	λ_{\max} , нм ($\Delta\lambda_{\max}$) ^a	
			HR ⁻	R ²⁻
ТС	9.28±0.06 (0.08)	-0.15	438 (0)	604 (7)
БТС [24]	6.88±0.05 (-0.42)	-0.35	417 (-18)	627 (11)
о-КК	7.89±0.03 (-0.57)	-0.94 ^б	423 (-10)	585 (13)
ФК [24]	7.29±0.03 (-0.71)	-0.92 ^б	423 (-7)	572 (14)
БФК	5.13±0.06 (-0.83)	—	439 (-8)	586 (14)
БКП	5.33±0.05 (-1.07)	-1.32 ^б	415 (-15)	600 (12)
БКЗ [24]	3.59±0.01 (-1.31)	-0.84	423 (-21)	628 (11)
БФС [24]	2.19±0.06 (-2.01)	-1.37	427 (-11)	604 (13)

^a $\Delta pK_a^a = pK_a^a - pK_a^w$; $\Delta\lambda_{\max} = \lambda_{\max}$ (в мицеллах ПАВ) - λ_{\max} (в воде). ^б ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид. ^в в системе ЦПХ (цетилпиридиний хлорид), 0.05 М КСl.

Таблица 2. Значения pK_a^a и λ_{\max} сульфопфталеиновых индикаторов в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ, $I = 0.03$ М (NaCl + компоненты буферного раствора), 25°C

Индикатор	pK_a^a (ΔpK_a^a) ^a	ΔpK_a^a , 0.28 г/л SiO ₂ + 3·10 ⁻⁴ М ЦТАБ ^б [5, 25, 26]	λ_{\max} , нм ($\Delta\lambda_{\max}$) ^б	
			HR ⁻	R ²⁻
ТС	9.1±0.1 (-0.23) ^г	-0.35	438 (0)	597 (0)
БТС	7.05±0.04 (-0.25)	-0.79	415 (-21)	625 (9)
о-КК	7.73±0.01 (-0.70)	—	433 (0)	585 (13)
ФК	7.18±0.08 (-0.82)	-0.66	430 (0)	573 (15)
БФК	4.98±0.08 (-0.98)	—	439 (-8)	590 (18)
БКП	5.21±0.06 (-1.19)	-1.30	415 (-15)	600 (12)
БКЗ	3.56±0.09 (-1.34)	-1.51	424 (-20)	628 (11)
БФС	2.50±0.09 (-1.70)	-1.82	426 (-12)	605 (14)

^a $\Delta pK_a^a = pK_a^a - pK_a^w$; ^б частицы SiO₂ получены с помощью синтеза Штобера, диаметр наночастиц 85 нм; ^в $\Delta\lambda_{\max} = \lambda_{\max}$ (в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ) - λ_{\max} (в воде); ^г система с «дрейфом» величин pK_a^a в серии растворов с переменными значениями pH.

Однако интересно отметить, что в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ, для моноаниона ФК, ТС и о-КК, а в случае ТС и для дианиона, не наблюдается изменения положения λ_{\max} по сравнению с водным раствором (табл. 2). Возможно, это объясняется тем, что с повышением pH степень диссоциации силанольных групп на поверхности частиц кремнезема увеличивается; считается, что они полностью диссоциируют при pH = 6–7 [5, 19]. Именно для этих трех сульфопфталеинов значения pK_a^a находятся в этой об-

ласти pH и выше, соответственно форма моноаниона этих красителей будет преобладать в диапазоне pH = 6 и ниже. Следовательно, дополнительный отрицательный заряд, возникающий на поверхности наночастиц кремнезема в обозначенной области pH, препятствует связыванию моноаниона, а в случае ТС, у которого $pK_a^a = 9.1$, и дианиона. Исключением в этом случае является самый гидрофобный в ряду изученных сульфоталеиновых индикаторов – БТС, моно- и дианион которого связываются модифицированными димерным ПАВ наночастицами кремнезема за счет гидрофобных взаимодействий.

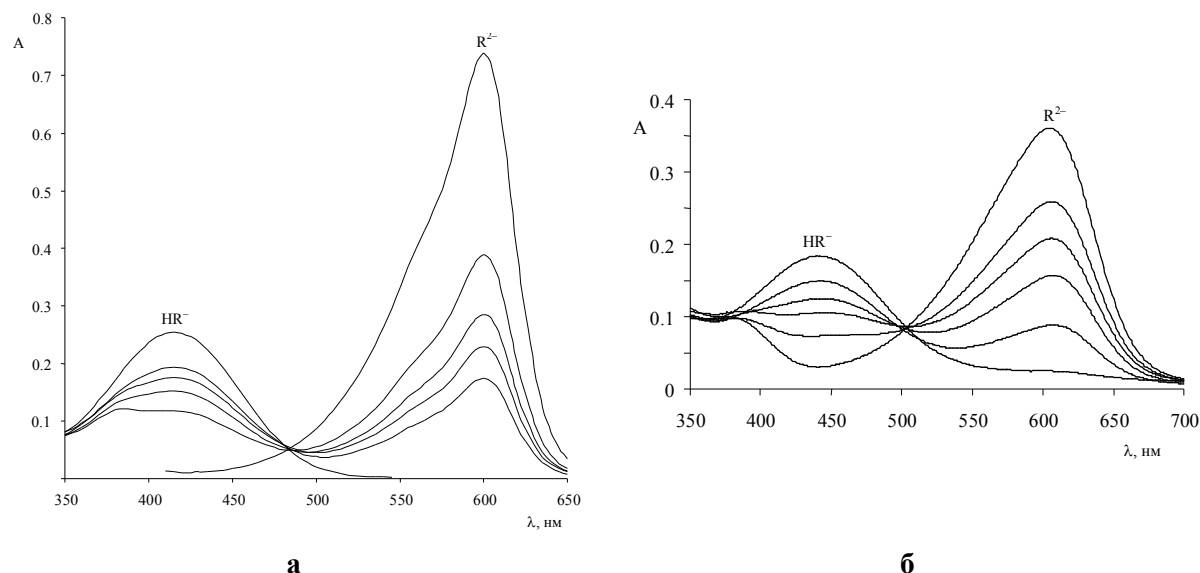


Рисунок 2. Спектры поглощения бромкрезолового пурпурного (а) в мицеллах димерного ПАВ ($1 \cdot 10^{-4}$ M), $I = 0.05$ M и тимолового синего (б) в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного ПАВ, $I = 0.03$ M; 25°C

Хорошо известно, что мицеллярные растворы катионных ПАВ проявляют значительное дифференцирующее действие, по своему действию напоминающее действие смесей воды с диполярными апротонными растворителями [4]. Дифференцирующее действие мицелл катионных ПАВ по отношению к ионизации сульфоталеинов, весьма сходно с действием ДМСО, ацетонитрила, ацетона и их смесей с водой [4]. Одним из критериев оценки дифференцирующего действия среды принята зависимость значений pK_a реагентов в исследуемой системе от их значений pK_a^w в воде [4, 27]:

$$pK_a = a \times pK_a^w + b. \quad (3)$$

Как правило, в случае отсутствия дифференцирующего действия наклон зависимости (3) близок к единице, а в дифференцирующих растворителях $a > 1$ [4].

На рис. 3 приведена зависимость значений pK_a^a сульфоталеиновых индикаторов в мицеллах димерного ПАВ от pK_a^w в воде. Как видно из полученной зависимости коэффициент $a = 1.34$, что демонстрирует дифференцирование кислотной силы индикаторов в мицеллярной среде катионного димерного ПАВ.

Как видно из данных таблицы 1 и 2, как мицеллярные растворы димерного ПАВ, так и суспензия наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем этого ПАВ, проявляют аналогичное мицеллярным растворам катионных ПАВ и суспензии ($SiO_2 + 3 \cdot 10^{-4}$ M ЦТАБ) влияние на кислотную ионизацию сульфоталеиновых индикаторов. Этот факт подтверждает и корреляция значений ΔpK_a^a сульфоталеинов в мицеллах димерного катионного ПАВ и мономерного катионного ПАВ (ЦПХ), которая дает зависимость с угловым коэффициентом, практически равным единице (рис. 4).

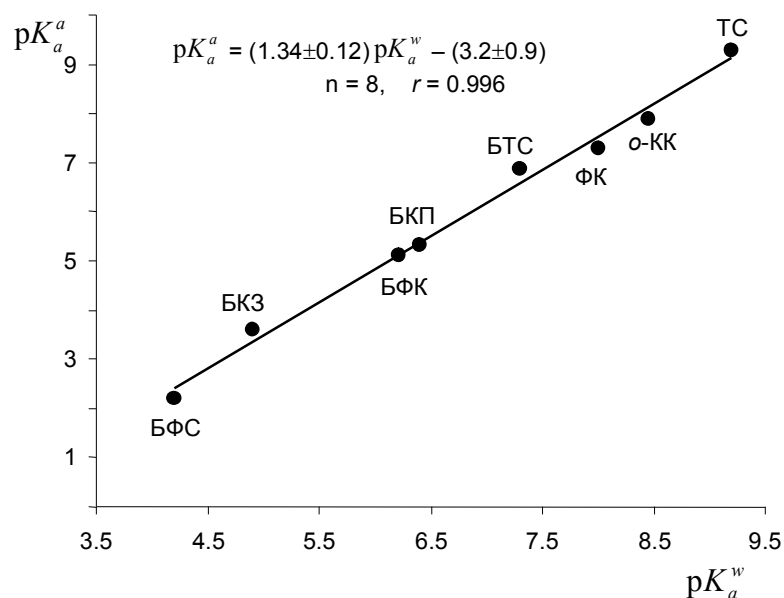


Рисунок 3. Зависимость значений pK_a^a сульфоталениновых индикаторов в мицеллах димерного ПАВ ($1 \cdot 10^{-4}$ М) от pK_a^w , $I = 0.05$ М, 25°C

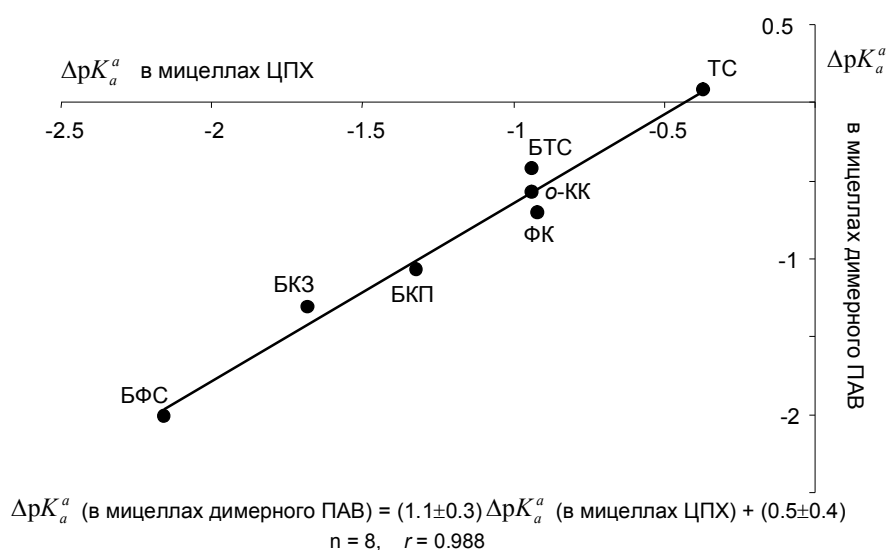


Рисунок 4. Зависимость значений ΔpK_a^a сульфоталениновых индикаторов в мицеллах димерного катионного ПАВ от ΔpK_a^a в мицеллах мономерного катионного ПАВ (ЦПХ), $I = 0.05$ М, 25°C

Корреляционные уравнения, полученные из зависимостей значений pK_a^a и ΔpK_a^a сульфоталениновых индикаторов в суспензии наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем димерного катионного ПАВ, от pK_a^w в воде и ΔpK_a^a в мицеллах димерного ПАВ соответственно, демонстрируют ярко выраженное дифференцирующее действие суспензии наночастиц кремнезема, модифицированных димерным катионным ПАВ: $pK_a^a = (1.25 \pm 0.12)pK_a^w - (2.6 \pm 1.0)$, $n = 8, r = 0.994$; и одинаковое дифференцирующее действие этой суспензии и мицелл димерного катионного ПАВ: $\Delta pK_a^a = (0.79 \pm 0.22)\Delta pK_a^a - (0.2 \pm 0.2)$, $n = 8, r = 0.960$.

Однако стоит отметить, что значения ΔpK_a^a сульфоталеиновых индикаторов в мицеллах димерного ПАВ в большинстве случаев превышают таковые для мицелл ЦТАБ, то есть связывание сопряженных форм сульфоталеинов мицеллами димерного ПАВ при концентрациях вблизи ККМ приводит к некоторому усилению ионизации моноаниона и смещению кислотно-основного равновесия в сторону дианионной формы. Такое влияние на значения pK_a^a объясняется наличием у димерной молекулы ПАВ второй положительно заряженной головной группы, которая дополнительно влияет на связывание анионов красителей, и, таким образом, наблюдается бóльший вклад электростатической составляющей в величины pK_a^a согласно общепринятой электростатической модели, описывающей протолитические равновесия в мицеллярных системах [4,5]:

$$pK_a^{ac} = pK_a^w + \lg \frac{\gamma_R}{\gamma_{HR}} + \lg \frac{f_R^m}{f_{HR}^m} - \frac{\Psi F}{2.303RT} \quad (4)$$

где pK_a^{ac} – значение pK_a^a в условиях полного («complete») связывания сопряженных форм псевдофазой; pK_a^w – показатель термодинамической константы ионизации в водном растворе; γ_i – коэффициент активности переноса i -ой частицы из водной фазы в псевдофазу, который отражает характер её сольватации; f_i^m – концентрационный коэффициент активности i -ой частицы; значения f_i^m обычно принимают равными единице. Фактически это может означать, что эффекты, отражающие изменения ионного состава области Штерна, включаются в значения γ_i [4,5]; Ψ – электростатический потенциал в области локализации связанных ионов или молекул. Первые три слагаемых правой части уравнения (4) обозначают через pK_a^i (K_a^i – «внутренняя» («intrinsic») константа ионизации).

Таким образом, в данной работе изучено влияние мицеллярных растворов димерного бисчетвертичного аммониевого ПАВ (16-4-16) и наночастиц пирогенного кремнезема, покрытых бислоем этого ПАВ, на кислотно-основные равновесия ряда сульфоталеиновых индикаторов. Обнаружено дифференцирующее действие изученных лиофильных дисперсий по отношению к кислотной ионизации сульфоталеинов, выраженное в бóльшей степени, чем в мицеллах катионного ПАВ с одной углеводородной цепочкой. Хотя эффекты среды в суспензии наночастиц, модифицированных мономерным или димерным катионными ПАВ, практически одинаковы, концентрация же димерного ПАВ в этом случае на порядок меньше ($3 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Благодарности

Авторы выражают благодарность н.с. С. В. Шеховцову за синтез димерного катионного ПАВ, д.х.н., профессору В. А. Тёртых за предоставление пирогенного кремнезема, а также профессору Н. О. Мчедлову-Петросяну за плодотворное обсуждение результатов.

Литература

1. Menger F.M., Littau C.A. // J. Am. Chem. Soc. – 1993. – Vol. 115. – P. 10083-10090.
2. Карпичев Е.А. // Вопросы химии и химической технологии. – 2009. – №5. – С. 140-145.
3. Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K. // J. Colloid Interface Sci. – 2012. – Vol. 376. – P. 112-118.
4. Мчедлов-Петросян Н.О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. – Х.: Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, 2004. – 326 с.
5. Водолазкая Н. А., Мчедлов-Петросян Н. О. Кислотно-основные равновесия индикаторных красителей в организованных растворах. – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2014. – 460 с.
6. Shahir A.A., Rashidi-Alavijeh M., Javadian S., Kakeman J., Yousefi A. // Fluid Phase Equilibria. – 2011. – Vol. 305. – P. 219-226.

7. Gemini surfactants. Synthesis, interfacial and solution-phase behavior, and applications. Surfactant Science Series / Ed. R. Zana, J. Xia. – Marcel Dekker, 2004. – 331 p.
8. Trzebiecka B., Dworak A., Hawranke J., Kuliszewska E., Hordyjewicz-Baran Z. Micellization of Gemini surfactants in aqueous solutions // In: Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions and Usage. – 2013. – N. Y.: Nova Publishers, 2013. – 321 p. (Chapter 4. – P. 179-226.)
9. Rosen M.J., Tracy D.J. // J. Surf. Deterg. – 1998. – Vol. 1. – P. 547-554.
10. Shukla D., Tyagi V.K. // J. Oleo Sci. – 2006. – Vol. 55. – P. 381-390.
11. Zarko V.I., Gun'ko V.M., Voronin E.F., Pakhlov E.M. // Fundamental and Applied aspects of Chemically Modified Surfaces / Ed. J.P. Blitz, Ch.B. Little, Royal Society of Chemistry. – 1999. – P. 147-153.
12. Гузенко Н.В., Пахлов Е.М., Липковская Н.А., Воронин Е.Ф. // Журн. Прикл. Химии. – 2001. – Т. 74, №12. – С. 1957-1961.
13. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Turov V.V., Voronin E.F., Mironyuk I.F., Chuiko A.A. // Colloidal silsca: fundamentals and applications / ed. By H.E. Bergna, W.O. Roberts – Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York, 2006. – P. 499-530.
14. Воронін Є.П., Пахлов Є.М., Власова Н.М., Сільченко С.С., Головкова Л.П., Чуйко О.О. // Фармацевт. журнал. – 1999, №4. – С. 61-64.
15. Пат. №52744 Україна. Спосіб одержання лікарської форми на основі аморфного діоксиду кремнію / О.О. Чуйко, М.Б. Луцюк, Є.П. Воронін, Є.М. Пахлов, І.І. Геращенко, О.О. Пентюк, Й.Р. Салдан. – №99116177. М. Кл.6 А 61К 9/10, С01И33/18; заявл. 12.11.1999; опубл. 15.01.2003, Бюл. №1.
16. Пат. 30690 Україна, МПК А 61 К 31/00. Застосування препарату на основі високодисперсного кремнезему як антитоксину / О.В. Ніцак, І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, Л.І. Казак, Є.П. Воронін; опубл. 11.03.08; Бюл. №5.
17. Пат. №87126 Україна. Спосіб модифікування високодисперсного діоксиду кремнію / Є.П. Воронін, Л.В. Носач, Є.М. Пахлов, Н.В. Гузенко; опубл. 25.06.2009, Бюл. №12.
18. Носач Л.В., Воронін Є.П. // Фізика і хімія твердого тіла. – 2006. – №3. – С. 540-543.
19. Bochkova O.D., Mustafina A.R., Fedorenko S.V., Konovalov A.I. // J. Physics: Conference Series. – 2011. – Vol. 291. – P. 1-14.
20. Atkin R., Craig V.S.J., Wanless E.J., Biggs S. // Adv. in Coll. and Interface Sci. – 2003. – Vol. 103. – P. 219-304.
21. Parida S.K., Dash S., Patel S., Mishra B.K. // Adv. Colloid Interfaces Sci. – 2006. – Vol. 121. – P. 77-110.
22. Aguirre C.M., Kaspar T.R., Radloff C., Halas N.J. // Nanoletters. – 2003. – Vol. 3. – P. 1707-1711.
23. Binks B.P., Rodrigues J.A., Frith W.J. // Langmuir. – 2007. – Vol. 23. – P. 3626-3636.
24. Пушкаревская Е.В., Шеховцов С.В., Водолазкая Н.А. // Вісник Харківського національного університету. – 2013. – № 1085, вип. 22 (45). – С. 99-105.
25. Bryleva E.Yu., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Samokhina L.V., Matveevskaya N.A. // Functional Materials. – 2006. – Vol. 13, No. 4. – P. 662-668.
26. Bryleva E.Yu., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Samokhina L.V., Matveevskaya N.A., Tolmachev A.V. // J. Colloid Interface Sci. – 2007. – Vol. 316. – P. 712-722.
27. Быкова Л.Н., Петров С.И. // Усп. химии. – 1970. – Т. 39, № 9. – С. 1631-1660.

References

1. Menger F.M., Littau C.A. // J. Am. Chem. Soc. – 1993. – Vol. 115. – P. 10083-10090.
2. Karpichev E.A. // Voprosy' himii i himicheskoy tehnologii. – 2009. – №5. – S. 140-145.
3. Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K. // J. Colloid Interface Sci. – 2012. – Vol. 376. – P. 112-118.
4. Mchedlov-Petrosyan N.O. Differencirovanie sily' organicheskikh kislot v istinny'h i organizovanny'h rastvorah. – H. : Har'kovskiy nacional'ny'y universitet imeni V.N. Karazina, 2004. – 326 s.
5. Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O. Kislotno-osnovny'e ravnovesiya indikatory'h krasteley v organizovanny'h rastvorah. – H. : HNU imeni V. N. Karazina, 2014. – 460 s.

6. Shahir A.A., Rashidi-Alavijeh M., Javadian S., Kakeman J., Yousefi A. // Fluid Phase Equilibria. – 2011. – Vol. 305. – P. 219-226.
7. Gemini surfactants. Synthesis, interfacial and solution-phase behavior, and applications. Surfactant Science Series / Ed. R. Zana, J. Xia. – Marcel Dekker, 2004. – 331 p.
8. Trzebicka B., Dworak A., Hawranke J., Kuliszewska E., Hordyjewicz-Baran Z. Micellization of Gemini surfactants in aqueous solutions // In: Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions and Usage. – 2013. – N. Y.: Nova Publishers, 2013. – 321 p. (Chapter 4. – P. 179-226.)
9. Rosen M.J., Tracy D.J. // J. Surf. Deterg. – 1998. – Vol. 1. – P. 547-554.
10. Shukla D., Tyagi V.K. // J. Oleo Sci. – 2006. – Vol. 55. – P. 381-390.
11. Zarko V.I., Gun'ko V.M., Voronin E.F., Pakhlov E.M. // Fundamental and Applied aspects of Chemically Modified Surfaces / Ed. J.P. Blitz, Ch.B. Little, Royal Society of Chemistry. – 1999. – P. 147-153.
12. Guzenko N.V., Pahlov E.M., Lipkovskaya N.A., Voronin E.F. // Journ. Prikl. Himii. - 2001. - T. 74, №12. - S. 1957-1961.
13. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Turov V.V., Voronin E.F., Mironyuk I.F., Chuiko A.A. // Colloidal silsca: fundamentals and applications / Ed. by H.E. Bergna, W.O. Roberts – Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York, 2006. – P. 499-530.
14. Voroni'n E".P., Pahlov E".M., Vlasova N.M., Si'l'chenko S.S., Golovkova L.P., Chuyko O.O. // Farmaceut. jurnal. – 1999, №4. – S. 61-64.
15. Pat. №52744 Ukrai`na. Sposi'b oderjannya li'kars'koi` formi na osnovi' amorfnogo di'oksidu kremni'yu / O.O. Chuyko, M.B. Lucyuk, E".P. Voroni'n, E".M. Pahlov, I'.I'. Gerasch'enko, O.O. Pentyuk, Y.R. Saldan. - №99116177. M. Kl.6 A 61K 9/10, S01I33/18; zayavl. 12.11.1999; opubl. 15.01.2003, Byul. №1.
16. Pat. 30690 Ukrai`na, MPK A 61 K 31/00. Zastosuvannya preparatu na osnovi' visokodispersnogo kremnezemu yak antitoksinu / O.V. Ni'cak, I'.S. Chekman, N.O. Gorchakova, L.I'. Kazak, E".P. Voroni'n; opubl. 11.03.08; Byul. №5.
17. Pat. №87126 Ukrai`na. Sposi'b modifi'kuvannya visokodispersnogo di'oksidu kremni'yu / E".P. Voroni'n, L.V. Nosach, E".M. Pahlov, N.V. Guzenko; opubl. 25.06.2009, Byul. №12.
18. Nosach L.V., Voroni'n E".P. // Fi'zika i' hi'mi'ya tverdogo ti'la. – 2006. – №3. – S. 540-543.
19. Bochkova O.D., Mustafina A.R., Fedorenko S.V., Konovalov A.I. // J. Physics: Conference Series. – 2011. – Vol. 291. – P. 1-14.
20. Atkin R., Craig V.S.J., Wanless E.J., Biggs S. // Adv. in Coll. and Interface Sci. – 2003. – Vol. 103. – P. 219-304.
21. Parida S.K., Dash S., Patel S., Mishra B.K. // Adv. Colloid Interfaces Sci. – 2006. – Vol. 121. – P. 77-110.
22. Aguirre C.M., Kaspar T.R., Radloff C., Halas N.J. // Nanoletters. – 2003. – Vol. 3. – P. 1707-1711.
23. Binks B.P., Rodrigues J.A., Frith W.J. // Langmuir. – 2007. – Vol. 23. – P. 3626-3636.
24. Pushkarevskaya E.V., Shehovcov S.V., Vodolazkaya N.A. // Vi'snik Harki'vs'kogo naci'on-al'nogo uni'versitetu. – 2013. – № 1085, vip. 22 (45). – S. 99-105.
25. Bryleva E.Yu., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Samokhina L.V., Matveevskaya N.A. // Functional Materials. – 2006. – Vol. 13, No. 4. – P. 662-668.
26. Bryleva E.Yu., Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O., Samokhina L.V., Matveevskaya N.A., Tolmachev A.V. // J. Colloid Interface Sci. – 2007. – Vol. 316. – P. 712-722.
27. By'kova L.N., Petrov S.I. // Usp. himii. – 1970. – T. 39, № 9. – S. 1631-1660.

Поступила в редакцию 13 мая 2014 г.

О. В. Пушкаревська, Т. Г. Бейник, Н. О. Водолазька. Диференціююча дія міцеллярних розчинів катіонної димерної ПАВ і наночастинок пірогенного кремнезему, які модифіковані катіонною димерною ПАВ, на кислотно-основну іонізацію сульфогфталейнових індикаторів.

Досліджено вплив міцеллярних розчинів димерної біс-четвертинної амонієвої ПАВ (16-4-16) і наночастинок пірогенного кремнезему, які покриті бішаром цієї ПАВ, на кислотно-основні рівноваги ряду сульфогфталейнових індикаторів. Виявлено диференціюючу дію досліджених ліофільних дисперсій по

відношенню до кислотної іонізації сульфопфталеїнів, яка виражена у більшому ступені, ніж у міцелах катіонної ПАР з одним вуглеводневим ланцюжком.

Ключові слова: кислотно-основна рівновага, сульфопфталеїновий індикатор, міцела димерної ПАР, наночастинка кремнезему, яка покрита бішаром димерної ПАР, «уявна» константа іонізації, диференціююча дія.

E. V. Pushkarevskaya, T. G. Beynik, N. A. Vodolazkaya. The differentiating impact of micellar solution of dimeric surfactant and fumed silica nanoparticles modified by cationic dimeric surfactant on acidic ionization of sulfonephthalein indicators.

The influence of micellar solutions of dimeric bis-quaternary ammonium surfactant (16-4-16) and fumed silica nanoparticles covered by bilayer of this surfactant on acid-base equilibria of sulfonephthalein indicators has been investigated. Differentiating impact of investigated lyophilic dispersions toward acidic ionization of sulfonephthalein indicators was found. This action is more expressed than in usual cationic surfactant micelles.

Key words: acid-base equilibria, sulfonephthalein indicator, micelle of dimeric surfactant, silica nanoparticle, apparent ionization constant, differentiating impact.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 544.4+541.182

МИЦЕЛЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ В КИНЕТИКЕ РЕАКЦИИ ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА *п*-НИТРОФЕНИЛПАЛЬМИТАТА

Е. В. Рощина, Ю. Л. Литвинова, С. В. Ельцов

Определены константы скорости реакции щелочного гидролиза *п*-нитрофенилпальмитата (PNPP) с гидроксид ионом в системах содержащих: Тритон X-100 (неионогенное ПАВ), 3-(диметилдодециламмоний)-пропан-сульфонат (ДМДАПС, цвиттерионное ПАВ), цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ, катионное ПАВ), додецилсульфат натрия (ДСН, анионное ПАВ). Также было проведено исследование влияния добавок сильного электролита бромида натрия на протекание данной реакции. Установлено, что при увеличении концентрации мицелл неионогенных ПАВ константа скорости реакции практически не меняется, а в присутствии бромида натрия – снижается в несколько раз. Увеличение концентрации мицелл ЦТАБ приводит к незначительному увеличению константы скорости, присутствие в системе бромида натрия приводит к снижению константы скорости на порядок. Цвиттерионное ПАВ по своему действию на скорость реакции подобно ЦТАБ. Присутствие мицелл анионного ПАВ приводит к резкому торможению данной реакции. Полученные зависимости констант скорости реакции от типа ПАВ могут быть объяснены на основе представлений об изменении концентрации OH^- ионов в слое Штерна мицелл в зависимости от заряда их поверхности. Снижение константы скорости реакции в присутствии бромида натрия происходит за счет конкуренции гидроксид и бромид ионов в поверхностном слое мицелл.

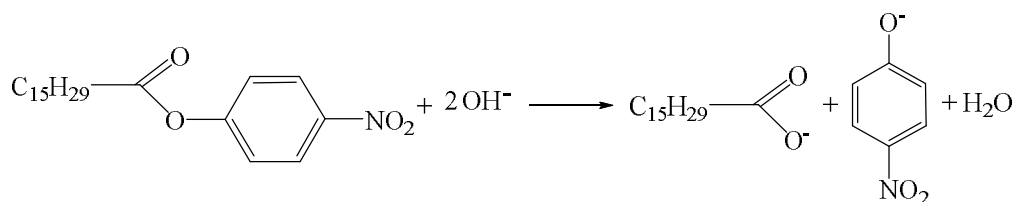
Ключевые слова: поверхностно-активное вещество, мицелла, *п*-нитрофенилпальмитат, реакция гидролиза, константа скорости.

Введение

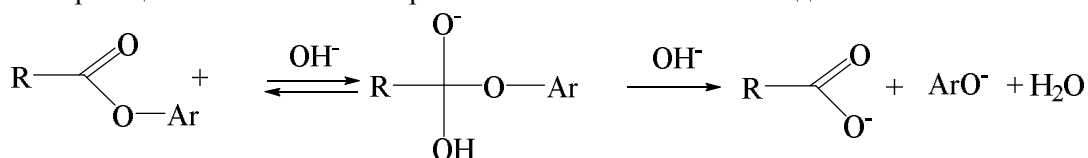
Присутствие в растворе мицелл поверхностно-активных веществ (ПАВ) влияет на положение равновесия, а также скорость химических реакций. Одной из причин огромного интереса исследователей к изучению физико-химических процессов, протекающих в мицеллярных растворах ПАВ, является то, что они, в известной степени, моделируют процессы, наблюдаемые в биологических системах [1,2]. Одним из хорошо известных примеров таких процессов являются реакции гидролиза сложных эфиров карбоновых кислот, которые, с одной стороны, широко распространены в биологических системах, с другой – могут быть легко проведены в растворах, содержащих мицеллы ПАВ [3].

В качестве примера модельного соединения для изучения кинетики реакций гидролиза может быть выбран *п*-нитрофенилпальмитат (PNPP). Это вещество практически нерастворимо в воде, поэтому изучение его гидролиза, как правило, проводят в органических растворителях или в организованных растворах, содержащих агрегаты коллоидных ПАВ. Кинетика щелочного гидролиза PNPP ранее была исследована в системе вода–этанол в присутствии полиэлектролитов и в мицеллярных растворах ЦТАБ [4], каталитический гидролиз PNPP – в растворах ЦТАБ и везикулах дидодецилдиметиламмония бромида [5], а также в *n*-гептане [6]. Данная работа посвящена изучению кинетики реакции гидролиза *п*-нитрофенилпальмитата (PNPP) в щелочной среде в растворах, содержащих поверхностно-активные вещества различного типа: неионные, катионные, анионные и цвиттерионные.

В принципе, гидролиз сложных эфиров карбоновых кислот является обратимой реакцией, которая ускоряется как ионами водорода, так и гидроксид ионами. Положение равновесия в кислой среде определяется соотношением начальных концентраций реагентов и продуктов реакции, в то время как в щелочной среде реакция протекает практически необратимо из-за нейтрализации образующейся кислоты. Если эфир образован фенолом, то кроме соли карбоновой кислоты в щелочной среде также образуется и фенолят ион, что приводит к необратимому протеканию реакции [7]. Поэтому уравнение реакции омыления *п*-нитрофенилпальмитата может быть записано в виде



Механизм реакций гидролиза сложных эфиров ранее был предметом весьма обширных исследований [8–10]. Установлено, что в водных растворах в большинстве случаев кинетическое уравнение реакции омыления имеет первый порядок по каждому реагенту. Наиболее вероятный механизм реакции омыления PNPP кратко может быть записан в виде схемы



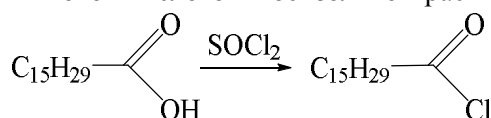
в которой стадия образования тетраэдрического интермедиата протекает медленно, а стадия его преобразования в продукты реакции – быстро. В соответствии с этой схемой, общая скорость процесса определяется наиболее медленной стадией присоединения иона OH^- к дипольной молекуле эфира.

В ряде работ, например, [4,11–13] было установлено, что экспериментальные данные по скорости реакций омыления различных сложных эфиров жирных кислот в условиях избытка щелочи подчиняются кинетическому уравнению псевдопервого порядка в растворах, содержащих мицеллы ПАВ различного типа. Это позволяет предположить, что механизм и порядок реакции омыления данных соединений не изменяется при переходе от водных растворов к мицеллярным системам.

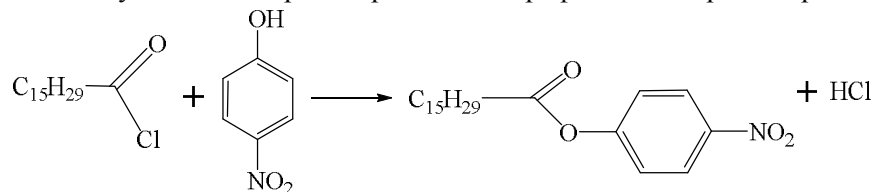
Экспериментальная часть

Реагенты. Для приготовления растворов ПАВ использовали навески чистых сухих препаратов (98-99% чистого вещества), производства "Sigma" и "Merk", которые были использованы без предварительной очистки. Взятые навески растворялись доведением бидистиллированной водой до метки в мерных колбах. Раствор гидроксида натрия готовили и хранили так, как описано нами ранее [14].

*Синтез *n*-нитрофенилпальмитата.* PNPP был синтезирован по двухстадийной схеме, включающей следующие реакции: 1) получение хлорангидрида пальмитиновой кислоты по реакции хлористого тионила с пальмитиновой кислотой в бензольном растворе



2) конденсация полученного хлорангидрида с *n*-нитрофенолом в среде пиридина



Полученный продукт дважды очищали перекристаллизацией из метанола. По внешнему виду эфир представлял собой светло-бежевые перламутровые чешуйки. Идентификация полученного вещества и проверка его чистоты были проведены по спектрам ЯМР ^1H . Синтез эфира был проведен С. В. Шеховцовым (кафедра физической химии ХНУ имени В. Н. Каразина), которому авторы выражают свою искреннюю признательность.

Определение констант скорости. Кинетическое исследование реакции щелочного гидролиза PNPP проведено в рабочих растворах, которые готовили из исходного раствора эфира в ацетонитриле, что обусловлено его крайне низкой растворимостью в воде; вследствие этого в рабочих растворах содержание ацетонитрила составляло 4 % по объему. Концентрация всех

ПАВ в рабочих растворах всегда превышала величины их ККМ, концентрация PNPP в этих растворах составляла $\approx 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Концентрация щелочи в растворах, содержащих Тритон X-100, ДМДАПС и ДСН составляла $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, что соответствует концентрационному значению рН 11.7, в растворах ЦТАБ значение рН = 9.5 поддерживалось боратым буферным раствором.

Критические концентрации мицеллообразования (ККМ) использованных в работе ПАВ в воде при 25 °С составляют (моль/л): ЦТАБ – $9.8 \cdot 10^{-4}$ [15], ДСН – $8.2 \cdot 10^{-3}$ [15], Тритон X-100 – $2.4 \cdot 10^{-4}$ [16], ДМДАПС – $2.7 \cdot 10^{-3}$ [17].

В соответствии с приведенной выше схемой механизма реакции омыления PNPP, скорость этого процесса будет определяться выражением

$$v = k [PNPP][OH^-], \quad (1)$$

где k – константа скорости второго порядка, в квадратных скобках записаны текущие концентрации реагирующих частиц.

Если эта реакция протекает в условиях $[OH^-] \gg [PNPP]$, то её скорость будет описываться кинетическим уравнением псевдопервого порядка

$$v = k' [PNPP], \quad (2)$$

где k' – константа скорости реакции псевдопервого порядка,

$$k' = k [OH^-]. \quad (3)$$

В этих условиях кинетическое уравнение реакции имеет вид

$$-\frac{d[PNPP]}{dt} = k' [PNPP], \quad (4)$$

а его решением является

$$k' = \frac{1}{t} \ln \frac{[PNPP]_0}{[PNPP]_t} = \frac{1}{t} \ln \frac{[PNPP]_0}{[PNPP]_0 - [PNP]_t}, \quad (5)$$

где $[PNPP]_0$ и $[PNPP]_t$ – начальная и текущая концентрации эфира в растворе, $[PNP]_t$ – текущая концентрация *n*-нитрофенолята.

Так как в результате реакции весь эфир переходит в нитрофенолят, то $[PNPP]_0 = [PNP]_\infty$, где $[PNP]_\infty$ – концентрация PNP после окончания реакции. Это позволяет записать выражение (5) в виде

$$k' = \frac{1}{t} \ln \frac{[PNP]_\infty}{[PNP]_\infty - [PNP]_t}, \quad (6)$$

Нитрофенолят ион имеет интенсивную окраску с максимумом поглощения на длине волны 400 нм, в то время как эфир и пальмитат ион не поглощают в видимой области. Поэтому в ходе протекания реакции светопоглощение раствора, в котором протекает омыление *n*-нитрофенилпальмитата, возрастает, что легко фиксируется спектрофотометрически.

Значения концентрации нитрофенолят иона в различные моменты времени могут быть определены исходя из закона Бугера–Ламберта–Бера

$$[PNP] = A/(\varepsilon l) \quad (7)$$

где A – оптическое поглощение раствора, ε – молярный коэффициент поглощения PNP, l – длина поглощающего слоя раствора.

Подстановка выражения (7) в уравнение (6) позволяет преобразовать уравнение (6) к виду

$$\ln(A_\infty - A_t) = \ln A_\infty - k't, \quad (8)$$

где A_∞ – оптическое поглощение раствора после окончания реакции, A_t – оптическое поглощение в момент времени t . Из уравнения (8) видно, что величина $\ln(A_\infty - A_t)$ является линейной функцией от времени, причем тангенс угла наклона графика в координатах $\ln(A_\infty - A_t) - t$, равен $-k'$. Это дает возможность рассчитать величину константы скорости реакции псевдопервого порядка.

Для измерения светопоглощения использовался спектрофотометр Hitachi U-2000 с термостатируемой кюветой. В ходе эксперимента поддерживалась постоянная температура 25 °С. При измерениях использовалась кювета с толщиной поглощающего слоя 1 см.

По результатам эксперимента было установлено, что во всех исследованных системах зависимости $\ln(A_\infty - A_t)$ от времени имеют линейный характер. Это свидетельствует о том, что изучаемая реакция подчиняется кинетическому уравнению псевдопервого порядка для необратимой реакции. Константы скорости псевдопервого порядка были найдены, как угловой коэффициент полученных зависимостей в координатах $\ln(A_\infty - A_t) - t$.

Относительная погрешность определения констант скорости реакции находится в пределах 5 %.

Результаты и их обсуждение

Константы скорости реакции, полученные в работе, определены в растворах в присутствии мицелл ПАВ и являются эффективными константами, поскольку получены в виде отношения общей скорости процесса, усредненной по всему объему раствора, к общей концентрации эфира. Такие константы скорости могут быть также названы «кажущимися» [18]. Подобные константы скорости в общем случае зависят от степени связывания красителя с мицеллами, типа ПАВ и знака заряда мицеллярной поверхности, а также концентрации ПАВ в растворе. В случае реакции омыления PNPP, протекающей в мицеллярных средах, связывание молекул эфира является полным, поскольку данное соединение практически нерастворимо в воде.

Результаты эксперимента по определению констант скорости реакции омыления PNPP в растворах, содержащих мицеллы Тритон X-100, ДМДАПС и ЦТАБ при $t = 25$ °С представлены на рисунках 1 и 2. Присутствие мицелл анионного ПАВ ДСН приводит к практически полному торможению реакции гидролиза *n*-нитрофенилпальмитата. Скорость данной реакции настолько мала, что делает невозможным точное определение константы скорости.

Сравнение констант скорости реакции, полученных для мицеллярных растворов ПАВ разного типа без добавок сильного электролита, свидетельствует, что наибольшая скорость наблюдается в мицеллярных растворах катионного ПАВ, наименьшая – в растворах анионного ПАВ, тогда как в растворах неионогенного и цвиттерионного ПАВ имеют промежуточное значение. Добавки бромида натрия к изученным мицеллярным растворам ($c = 0.2$ моль/л), во всех случаях, кроме ДСН, где точные данные отсутствуют, приводят к снижению скорости реакции гидролиза PNPP.

Анализ полученных кинетических данных может быть проведен на основании следующих положений.

1) Реакция омыления PNPP – это реакция между полярной молекулой эфира и ионом OH^- . Так как переходное состояние в этом процессе образуется в результате присоединения иона к молекуле, то здесь заряд иона будет распределен в большем объеме по сравнению с исходными частицами, следовательно, активированный комплекс будет менее полярным, чем исходные вещества. Согласно правилу Хьюза–Ингольда [19], снижение диэлектрической проницаемости локального микроокружения молекулы эфира должно приводить к незначительному ускорению реакции. Этот вывод также следует и из уравнения, полученного Лейдлером и Эйрингом для константы скорости реакций молекул с ионами [20].

2) Так как PNPP нерастворим в воде, то в мицеллярном растворе он будет полностью связан с мицеллами ПАВ. При связывании молекулы эфира она локализуется в слое Штерна на поверхности мицеллы [21]. Взаимодействие молекулы с гидроксид ионом происходит в месте локализации молекулы эфира. При увеличении концентрации ПАВ в растворе концентрация мицелл возрастает, а количество молекул эфира, приходящееся на одну мицеллу, – снижается.

3) Ионы OH^- распределяются между объемной фазой раствора и слоем Штерна в мицелле ионогенного ПАВ. При постоянной общей концентрации гидроксид ионов в растворе их концентрация на поверхности мицелл анионного ПАВ ДСН будет ниже, чем их концентрация на поверхности мицелл неионогенного ПАВ Тритон X-100 вследствие отталкивания от одноименно заряженной поверхности. В то же время, вследствие притяжения ионов OH^- к положительно

заряженной поверхности мицелл ЦТАБ здесь их локальная концентрация будет выше, чем в объёмной фазе раствора или на поверхности мицелл неионогенного ПАВ.

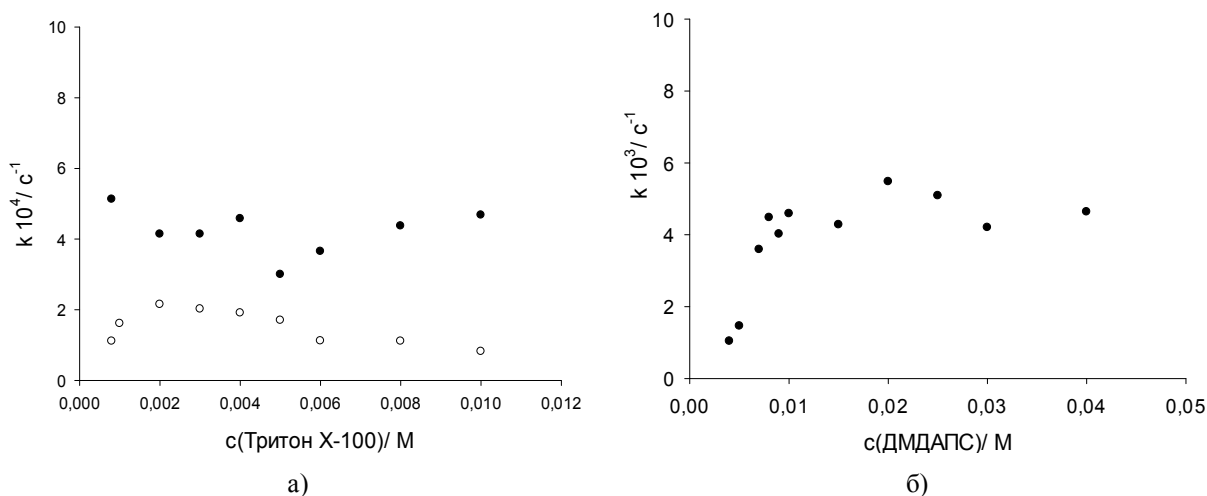


Рисунок 1. Зависимость констант скорости реакции омыления *n*-нитрофенилпальмитата от концентрации ПАВ при pH 11.7:

а) система с Тритон X-100 (● – без добавок соли, ◦ – в присутствии NaBr 0.2 М), б) система с ДМДАПС.

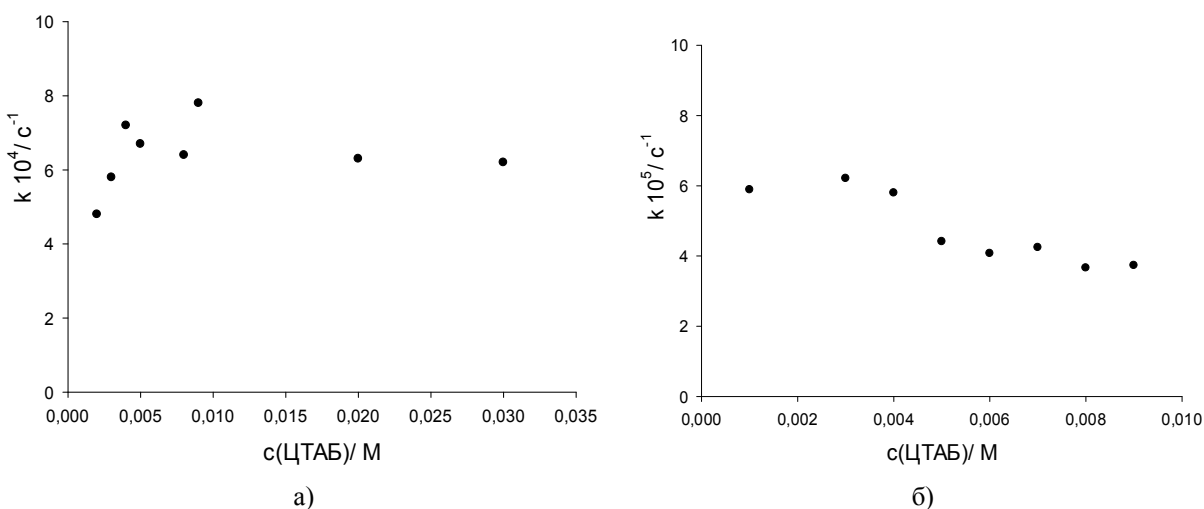


Рисунок 2. Зависимость констант скорости реакции омыления *n*-нитрофенилпальмитата от концентрации ПАВ при pH 9.5: а) система с ЦТАБ, б) система с ЦТАБ с добавлением NaBr ($c = 0.2$ моль/л).

4) Добавление сильного электролита в раствор, содержащий мицеллы ионогенного ПАВ, будет приводить к экранированию поверхностного потенциала мицеллы и сжатию двойного электрического слоя, что в свою очередь, будет снижать абсолютное значение потенциала поверхности в месте локализации молекулы эфира. В соответствии с этим концентрация OH^- ионов в слое Штерна мицелл катионного ПАВ будет уменьшаться. С другой стороны, в соответствии с теорией солевых эффектов Бренстеда–Бьеррума, добавление сильного электролита в раствор увеличивает его ионную силу, что способствует стабилизации реагирующих OH^- ионов и дестабилизации менее полярного переходного состояния.

5) Влияние цвиттерионного ПАВ на скорость данной реакции зависит от знака заряда фрагмента поверхности мицеллы в месте локализации красителя в слое Штерна.

Влияние неионогенного ПАВ. Данные, приведенные на рисунке 1а свидетельствуют, что при увеличении концентрации мицелл Тритон X-100 константа скорости реакции практически не меняется. В присутствии бромида натрия наблюдается снижение константы скорости реакции в 2-3 раза, что согласуется с теорией солевых эффектов Бренстеда–Бьеррума.

Влияние катионного ПАВ. Присутствие мицелл ЦТАБ при $\text{pH} = 11.7$ приводило к настолько резкому ускорению реакции гидролиза, что пожелтение растворов, свидетельствующее о протекании реакции, наблюдалось уже в момент их приготовления. Поэтому при исследовании этой системы был использован боратный буфер с $\text{pH} = 9.5$. На рисунке 2а показана зависимость константы скорости реакции от концентрации ЦТАБ. Данные свидетельствуют, что с ростом концентрации ПАВ наблюдается увеличение константы скорости реакции, однако при больших концентрациях ЦТАБ происходит незначительное ее снижение. Полученная нами зависимость качественно подобна зависимостям скорости гидролиза *n*-нитрофенилгексаноата и *n*-нитрофениллаурата в растворах различных катионных ПАВ [11]. Снижение скорости реакции, наблюдаемое при больших концентрациях ЦТАБ, связано с конкуренцией OH^- и Br^- ионов в слое Штерна мицелл. Присутствие бромида натрия в данной системе (рис. 2б) приводит к снижению константы скорости на порядок. Эти данные могут быть объяснены конкуренцией гидроксильных и бромид ионов, а также стабилизацией OH^- ионов при такой ионной силе $c(\text{NaBr}) = 0.2 \text{ M}$.

Влияние анионного ПАВ. Наблюдаемое полное торможение реакции гидролиза PNPP в мицеллах ДСН, вероятно, связано с наличием отрицательного заряда на поверхности мицелл, приводящего к снижению гидроксильных ионов в месте локализации молекулы эфира.

Влияние цвиттерионного ПАВ. Зависимость константы скорости от концентрации ДМДАПС (рис. 1б) свидетельствует, что при увеличении концентрации мицелл цвиттерионного ПАВ константа скорости реакции увеличивается. В присутствии бромида натрия наблюдается резкое снижение константы скорости реакции вплоть до полного торможения. Этот факт согласуется с результатами исследований кислотно-основных равновесий индикаторов в мицеллах цвиттерионного ПАВ цетилдиметиламмонийпропансульфоната (ЦДАПС), где было установлено, что в присутствии солей, содержащих объёмные анионы (Br^- , Γ^- , ClO_4^-), характеризующиеся высоким сродством к поверхности мицелл, эффект ЦДАПС на константы диссоциации индикаторов подобен таковому, наблюдаемому для мицелл анионных ПАВ [22,23].

Литература

1. Savelli G., Germani R., Brinchi L. Reactivity control by aqueous amphiphilic self-assembling systems. // In: Reactions and synthesis in surfactant systems / ed. by J. Texter. N.Y.: Marcel Dekker, 2001. P. 188–259.
2. Dwars T., Paetzold E., Oehme G. // Angew. Chem. Int. Ed. 2005. Vol. 44. P.7174–7199.
3. Fendler J. H., Fendler E. J. Catalysis in micellar and macromolecular systems. N.Y.: Academic press, 1975. 545 p.
4. Okubo T., Ise N. J. // J. Org. Chem. 1973. Vol. 38, No. 18. P.3120–3122.
5. Kunitake T., Sakamoto T. // J. Am. Chem. Soc. 1978. Vol. 100, No. 14. P.4615–4617.
6. Pencreac'h G., Baratti J. C. // Enzyme and Microbial Technology. 1996. Vol. 18, No. 6. P. 417–422.
7. Carey F.A., Sundberg R.J. Advanced organic chemistry. Part A: Structure and mechanisms. 5th edition. N. Y.: Springer, 2007. 1199 p.
8. Ингольд К. Теоретические основы органической химии. М.: Мир, 1973. 1055 с.
9. Johnson S. L. General base and nucleophilic catalysis of ester hydrolysis and related reactions. // Adv. Phys. Org. Chem. Vol. 5. Academic Press, 1967. P.237–330.
10. Bruckner R. Advanced organic chemistry. Reaction mechanisms. Elsevier, 2002. 636 p.
11. Romsted L. R., Cordes E. H. // J. Am. Chem. Soc. 1968. Vol. 90, No. 16. P. 4404–4409.
12. Correia V. R., Cuccovia I. M., Chaimovich H. // J. Phys. Org. Chem. 1991. Vol. 4, No. 1. P. 13-18.
13. Funasaki N. // J. Phys. Org. Chem. 1979. Vol. 83, No. 15. P.1998–2003.
14. Рощина Е. В., Ельцов С. В. // Вісник Харківського національного університету. 2013. №1085. Хімія. Вип. 22 (45). С.119–126.
15. Rosen M. J., Kunjappu J. T. Surfactants and interfacial phenomena. 4th ed. John Wiley & Sons, 2012. 600 p.
16. Zhang X., Jackson J. K., Burt H. M. // J. Biochem. Biophys. Methods. 1996. Vol. 31. P. 145-150.
17. McLachlan A. A., Marangoni D. G. // J. Coll. Interface Sci. 2006. Vol. 295. P. 243–248.

18. Martinek K., Yatsimirski A. K., Levashov A. V., Berezin I. V. The kinetic theory and the mechanism of micellar effects on chemical reactions. // In: Micellization, solubilization, and microemulsions. / Ed. by K. L. Mittal. Vol. 2. N.Y.: Plenum press, 1977. P.489–508.
19. Connors K. A. Chemical kinetics. The study of reaction rates in solutions. – VCH Publishers, 1990. – 480 p.
20. Reichardt C., Welton T. Solvents and solvent effects in organic chemistry. 4th ed. WILEY-VCH, 2011. 692 p.
21. Buurma N. J. Kinetic medium effects on organic reactions in aqueous colloidal solutions. // Adv. Phys. Org. Chem. Academic Press, 2009. Vol. 43. P. 1–37.
22. Mchedlov-Petrosyan N. O., Vodolazkaya N. A., Kamneva N. N. Acid-base equilibrium in aqueous micellar solutions of surfactants // In: Micelles: Structural biochemistry, formation and functions and usage. 2013. N. Y.: Nova Publishers, 2013. P.1–71.
23. Водолазкая Н. А., Мчедлов-Петросян Н. О. Кислотно-основные равновесия индикаторных красителей в организованных растворах. Харьков: ХНУ имени В. Н. Каразина, 2014. 460 с.

References

1. Savelli G., Germani R., Brinchi L. Reactivity control by aqueous amphiphilic self-assembling systems. // In: Reactions and synthesis in surfactant systems / Ed. by J. Texter. N.Y.: Marcel Dekker, 2001. P. 188–259.
2. Dwars T., Paetzold E., Oehme G. // Angew. Chem. Int. Ed. 2005. Vol. 44. P. 7174–7199.
3. Fendler J. H., Fendler E. J. Catalysis in micellar and macromolecular systems. N.Y.: Academic press, 1975. 545 p.
4. Okubo T., Ise N. J. // J. Org. Chem. 1973. Vol. 38, No. 18. P. 3120–3122.
5. Kunitake T., Sakamoto T. // J. Am. Chem. Soc. 1978. Vol. 100, No. 14. P. 4615–4617.
6. Pencreac'h G., Baratti J. C. // Enzyme and Microbial Technology. 1996. Vol. 18, No. 6. P. 417–422.
7. Carey F.A., Sundberg R.J. Advanced organic chemistry. Part A: Structure and mechanisms. 5th edition. N. Y.: Springer, 2007. 1199 p.
8. Ingold C. K. Structure and mechanism in organic chemistry. 2nd ed. N. Y.: Cornell University Press, 1969. (Russian translation)
9. Johnson S. L. General base and nucleophilic catalysis of ester hydrolysis and related reactions. // Adv. Phys. Org. Chem. Vol. 5. Academic Press, 1967. P. 237–330.
10. Bruckner R. Advanced organic chemistry. Reaction mechanisms. Elsevier, 2002. 636 p.
11. Romsted L. R., Cordes E. H. // J. Am. Chem. Soc. 1968. Vol. 90, No. 16. P. 4404–4409.
12. Correia V. R., Cuccovia I. M., Chaimovich H. // J. Phys. Org. Chem. 1991. Vol. 4, No. 1. P. 13-18.
13. Funasaki N. // J. Phys. Org. Chem. 1979. Vol. 83, No. 15. P.1998–2003.
14. Roshchyna K. V., Eltsov S. V. // Kharkov University Bulletin. 2013. № 1085. Chemical Series. Issue 22 (45). P. 119–126.
15. Rosen M. J., Kunjappu J. T. Surfactants and interfacial phenomena. 4th ed. John Wiley & Sons, 2012. 600 p.
16. Zhang X., Jackson J. K., Burt H. M. // J. Biochem. Biophys. Methods. 1996. Vol. 31. P. 145-150.
17. McLachlan A. A., Marangoni D. G. // J. Coll. Interface Sci. 2006. Vol. 295. P. 243–248.
18. Martinek K., Yatsimirski A. K., Levashov A. V., Berezin I. V. The kinetic theory and the mechanism of micellar effects on chemical reactions. // In: Micellization, solubilization, and microemulsions. / Ed. by K. L. Mittal. Vol. 2. N.Y.: Plenum press, 1977. P. 489–508.
19. Connors K. A. Chemical kinetics. The study of reaction rates in solutions. VCH Publishers, 1990. 480 p.
20. Reichardt C., Welton T. Solvents and solvent effects in organic chemistry. 4th ed. WILEY-VCH, 2011. 692 p.
21. Buurma N. J. Kinetic medium effects on organic reactions in aqueous colloidal solutions. // Adv. Phys. Org. Chem. Academic Press, 2009. Vol. 43. P. 1–37.

22. Mchedlov-Petrosyan N. O., Vodolazkaya N. A., Kamneva N. N. Acid-base equilibrium in aqueous micellar solutions of surfactants // In: *Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions and Usage*. 2013. N. Y.: Nova Publishers, 2013. P. 1–71.
23. Vodolazkaya N. A., Mchedlov-Petrosyan N. O. Acid-base equilibria of indicator dyes in organized solutions. Kharkiv: V. N. Karazin national university, 2014. 460 p.

Поступила в редакцію 15 мая 2014 г.

К. В. Рощина, Ю. Л. Литвинова, С. В. Ельцов. Міцелярні ефекти у кінетиці реакції лужного гідролізу *p*-нітрофенілпальмітату.

Визначені константи швидкості реакції лужного гідролізу *p*-нітрофенілпальмітату (PNPP) з гідроксид іоном у системах: Трітон X-100 (неіоногенна ПАР), 3-(диметилдодециламмоній)-пропансульфонат (ДМДАПС, цвиттеріонна ПАР), цетилтриметиламмоній бромід (ЦТАБ, катіонна ПАР), додецилсульфат натрію (ДСН, аніонна ПАР). Також було проведено дослідження впливу сильного електроліту на швидкість даної реакції. Встановлено, що при збільшенні концентрації міцел неіонної ПАР константа швидкості реакції знебарвлення залишається практично не змінною, а у присутності броміду натрію – знижується в декілька разів. Збільшення концентрації міцелл ЦТАБ призводить до незначного збільшення константи швидкості реакції, присутність броміду натрію призводить до зниження константи швидкості на порядок. Цвиттеріонна ПАР за своєю дією на швидкість реакції подібна до катіонної. Наявність міцел аніонної ПАР призводить до різкого зниження швидкості реакції. Залежності констант швидкості реакції від типу ПАР можна об'яснити на основі уявлень про зміну концентрації OH^- іонів у шарі Штерна міцел залежно від знаку заряду їх поверхні. Зниження константи швидкості реакції в присутності натрій броміду відбувається за рахунок конкуренції гідроксид та бромід іонів в поверхневому шарі міцел.

Ключові слова: поверхнево-активна речовина, міцела, *p*-нітрофенілпальмітат, реакція гідролізу, константа швидкості.

K. V. Roshchyna, U. L. Litvinova, S. V. Eltsov. Micellar effects in kinetics of reaction of alkaline hydrolysis *p*-nitrophenylpalmitate.

Rate constants of the alkaline hydrolysis of *p*-nitrophenylpalmitate (PNPP) have been determined in micellar solutions containing: nonionic surfactant Triton X-100, zwitterionic surfactant 3-(dimetyldodecylammonio)-propanesulfonate (DMDAPS), cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), anionic surfactant sodium dodecylsulfate (SDS). Also the influence of the strong electrolyte sodium bromide on the reaction rate has been studied. It has been found that at addition of non-ionic surfactants the rate constant stays almost unchanged, and in presence of sodium bromide it decreases by several times. The increase of concentration of CTAB causes slight increase and then decrease in the rate constant, but in presence of sodium bromide rate constant was reduced by an order. The zwitterionic surfactant acts similarly to the CTAB. Addition of anionic surfactant SDS leads to the sharp inhibition of the reaction. The dependences of rate constants on the type of the surfactant can be explained using the concepts of change in concentration of OH^- ions in the Stern layer of the micelles depending on their surface charge. The decrease in the rate of reaction in presence of sodium bromide occurs because of competition between OH^- and Br^- ions in surface layer of micelles.

Key words: surfactant, micelle, *p*-nitrophenylpalmitate, hydrolysis reaction, rate constant.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 544.421.032.4+544.361.5-143:543.554

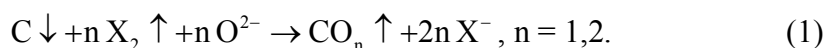
**ПОЛИТЕРМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА КАРБОГАЛОГЕНИРОВАНИЯ
РАСПЛАВА ЭВТЕКТИКИ KBr-LiBr (0.4:0.6)****В. Л. Чергинец*, Т. П. Реброва*, В. А. Науменко*, Т. В. Пономаренко***

В интервале температур 943-1023 К проведено исследование процесса очистки от кислородсодержащих примесей расплава эвтектической смеси KBr-LiBr методом карбогалогенирования путем пропускания паров брома через расплав со взвесью графита. Скорость процесса определяли по изменению концентрации оксид-ионов потенциометрическим методом с использованием кислородного электрода Pt(O₂)ZrO₂(Y₂O₃). Реакция характеризуется II кинетическим порядком по отношению к оксид-ионам. Значения констант скорости процесса (кг·моль⁻¹·мин⁻¹) равны: 2379±150 при 943 К, 2619±150 при 973 К, 2934±160 при 1000 К и 3314±250 при 1023 К. Предел очистки расплава слабо зависит от температуры и составляет (1.4÷1.8)·10⁻⁵ моль·кг⁻¹ в расчете на O²⁻. Температурная зависимость константы скорости процесса карбогалогенирования описывается уравнением: $\ln k = 12.02(\pm 1) - 4011(\pm 900) \cdot T^{-1}$, на основании чего значение энергии активации может быть оценено как 33.3±7.5 кДж·моль⁻¹. Значительное снижение энергии активации по сравнению с соответствующим значением для процесса карбогалогенирования хлоридных расплавов (~170 кДж·моль⁻¹) объясняется меньшей прочностью связи Br-Br в Br₂ по сравнению с таковой для C-Cl в CCl₄.

Ключевые слова: расплавы, карбогалогенирование, бромид калия, бромид лития, потенциометрия, константа скорости, оксид-ионы.

Введение

Вопросы глубокой очистки смешанных галогенидных расплавов с различным катионным составом от кислородсодержащих примесей в настоящее время приобрели особую актуальность в связи с их использованием для выращивания новых перспективных сцинтилляционных материалов для регистрации γ -излучения (K₂LaCl₅:Ce³⁺ [1], CsBa₂Br₅:Eu²⁺ [2]) и медленных нейтронов (Cs₂LiYCl₆:Ce³⁺ [3], Cs₂LiYBr₆:Ce³⁺ [4]). Для обработки расплавов *in situ* наиболее часто используют методы осадительного раскисления (связывание оксид-ионов катионными кислотами или металлами-геттерами с выделением осадка оксида) и карбогалогенирования (действие окислительно-восстановительной пары «углерод+галоген» с удалением примесей в газовую фазу в виде CO или CO₂):



Метод осадительного раскисления может быть использован для очистки ограниченного круга слабокислотных расплавов, содержащих катионы Cs⁺, K⁺ или Na⁺ [5,6], поскольку наличие в расплаве ионов Li⁺ или многозарядных катионов приводит к значительному возрастанию его кислотности и, следовательно, увеличению растворимости образующегося при очистке оксида, что существенно снижает ее эффективность. Поэтому для расплавов, обладающих значительными кислотными свойствами, обработка в реактивной газовой среде остается единственно возможным способом глубокой очистки от кислородсодержащих примесей. К сожалению, до последнего времени в литературе практически отсутствовали данные, на основании которых можно оценить оптимальную температуру и длительность обработки расплава этим методом, а также порог снижения концентрации кислородсодержащих примесей. В ряде недавних работ нами были установлены кинетические закономерности очистки хлоридных расплавов с различными кислотными свойствами продуктами пиролиза тетрахлорметана в аргоне [7,8].

Целью настоящей работы является исследование закономерностей протекания процесса карбогалогенирования расплава эвтектической смеси KBr-LiBr (0.4:0.6) в интервале температур 943-1023 К.

* Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, пр. Ленина 60, Харьков, 61001

Экспериментальная часть

1. Подготовка реагентов

Бромид лития получали растворением карбоната лития «ос.ч 19-2» в бромистоводородной кислоте «ос.ч». Полученный раствор упаривали до начала кристаллизации и охлаждали до комнатной температуры. Выпавшие кристаллы сушили в вакууме 5-10 Па, постепенно поднимая температуру до 723 К, и при этой температуре выдерживали до постоянной массы.

Гидроксид калия «х.ч» плавил в токе аргона и выдерживали в течение 1 часа при 873 К для удаления влаги, после чего плав охлаждали и измельчали.

Аргон газообразный высокой чистоты перед подачей в ячейку сушили, пропуская через колонку с P_2O_5 . Концентрация кислорода в аргоне составляла $2 \cdot 10^{-3}$ об. %.

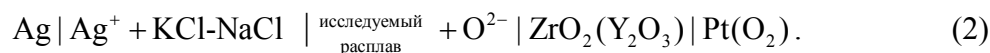
В качестве источника углерода использовали измельченный спектрально чистый графит, который добавляли в раствор после проведения градуировки непосредственно перед подачей паров брома.

Бромид калия «х.ч.» и бром «ч» использовали без дополнительной очистки.

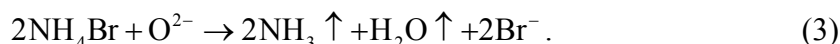
Эвтектическую смесь $KBr-LiBr$ готовили смешиванием безводных бромидов, взятых в массовом соотношении: 52 части $LiBr$ к 48 частям KBr .

2. Методика проведения измерений

Измерения проводили потенциометрическим методом. В работе использовали электрохимическую цепь с индикаторным мембранным кислородным электродом $Pt(O_2) | ZrO_2(Y_2O_3)$:



Для исследования 50 г смеси солей плавил в алундовом тигле. После достижения необходимой температуры в расплав в течение 10 мин добавляли 2-3 порции бромида аммония «х.ч» (на кончике шпателя) для удаления кислородсодержащих примесей перед градуировкой по схеме:



Ввиду сильных кислотных свойств расплавов на основе солей лития эффективность такой доочистки была невысокой.

Затем цепь (2) градуировали добавками гидроксида калия, считая, что 2 моль KOH эквивалентны 1 моль O^{2-} , поскольку процесс диссоциации KOH в галогенидных расплавах количественно протекает по схеме:



По результатам градуировки строили зависимость ЭДС от pO ($pO = -\lg m_{O^{2-}}$, где $m_{O^{2-}}$ – равновесная моляльность оксид-ионов в исследуемом расплаве). После окончания градуировки равновесную моляльность оксид-ионов снижали до $pO \sim 2$, добавляя в расплав небольшие количества NH_4Br .

Для исследования кинетики процесса очистки в расплав вносили добавку графита (~1 г) и подавали аргон, насыщенный парами Br_2 при 273 К (давление насыщенного пара брома при этой температуре составляет ~8600 Па), скорость пропускания составляла $75 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1}$, что обеспечивало постоянную концентрацию Br_2 в атмосфере над расплавом. Измерения ЭДС в течение первых 5 минут проводили через каждые 30 с, а затем с интервалом 1, 2 и 5 мин до выхода значений ЭДС цепи (2) на плато.

Обсуждение результатов

Процесс карбогалогенирования состоит из нескольких стадий: растворение брома в расплаве, взаимодействие брома с оксид-ионами и углеродом (собственно реакция карбогалогенирования), удаление газообразных продуктов взаимодействия из расплава. Скорость химической реакции в расплаве может быть описана следующим уравнением:

$$w = k \cdot m_{Br_2}^{n_{Br}} \cdot m_{O^{2-}}^{n_O} , \quad (1)$$

(где w - скорость реакции, k – константа скорости, m_{Br_2} и $m_{O^{2-}}$ - моляльности брома и оксид-ионов в расплаве, n_{Br} и n_O - соответствующие порядки реакции), из которого следует, что по мере снижения концентрации оксид-ионов скорость очистки расплава уменьшается.

Кроме того, поскольку реакция проводится в тигле из алунда (Al_2O_3), а газ-носитель (аргон) содержит следы воды и кислорода, на процесс очистки накладываются процессы загрязнения расплава кислородсодержащими примесями. Загрязнение расплава протекает с постоянной скоростью, поскольку концентрации кислородсодержащих примесей в газе и площадь контакта расплава с поверхностью оксидной керамики в процессе карбогалогенирования не изменяются.

При проведении процесса карбогалогенирования через некоторое время снижение концентрации оксид-ионов в расплаве прекращается вследствие того, что скорости очистки и загрязнения становятся одинаковыми. В случае, если процесс очистки характеризуется уравнением I порядка, форма экспериментальной кривой зависимости pO от времени должна иметь такой вид, как на врезке рис. 1.

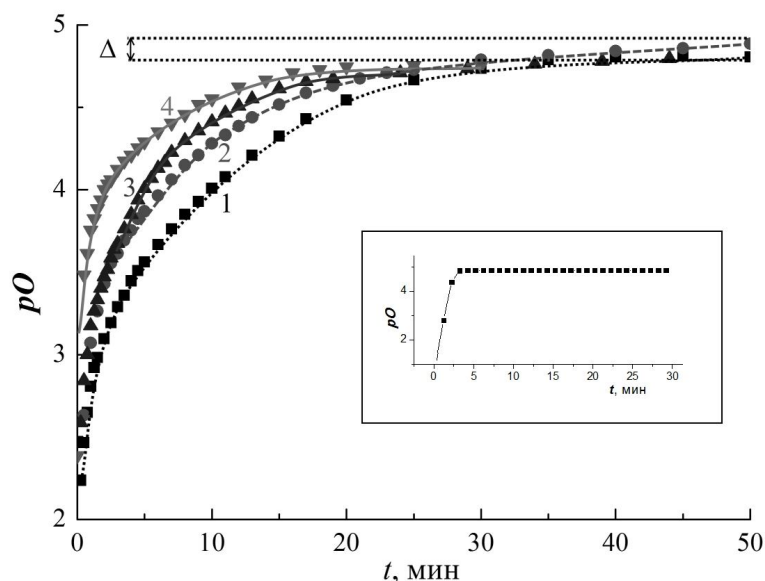


Рисунок 1. Зависимости pO от времени в процессе карбогалогенирования расплава смеси $KBr-LiBr$ при температурах 943 (1), 973 (2), 1000 (3) и 1023 К (4). Символом Δ обозначен интервал pO выхода зависимостей на плато ($pO=4.75\div 4.85$). На врезке – форма зависимости в случае протекания процесса очистки по уравнению I порядка.

Экспериментальные зависимости pO от времени в процессе карбогалогенирования расплава $KBr-LiBr$ при различных температурах приведены на рис. 1. Из этих данных видно, что при повышении температуры в интервале времен 0-20 мин возрастание pO становится более резким вследствие увеличения скорости реакции с температурой. Положение плато в интервале температур 943-1023 К практически не изменяется, и это свидетельствует о том, что при повышении температуры скорость загрязнения расплава изменяется незначительно.

Сравнивая форму полученных зависимостей с зависимостью на врезке рис. 1, можно сказать, что процесс очистки не протекает в соответствии с кинетическим уравнением I порядка, для которого зависимость логарифма концентрации от времени представляет собой прямую линию.

Более информативными оказались зависимости обратной концентрации оксид-ионов от времени ($m_{O^{2-}}^{-1} = f(t)$), используемые для определения порядка реакций графическим методом (рис. 2). Линейность такой зависимости указывает на то, что процесс протекает по уравнению II порядка.

Полученную зависимость можно разбить на 3 участка. В интервале 0-5 мин зависимость является нелинейной. Это указывает на протекание процесса I порядка. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что на этом участке скорость суммарного процесса определяется ско-

ростью процесса растворения брома в расплаве. Концентрация оксид-ионов в расплаве достаточно велика ($\sim 10^{-2}$ моль·кг⁻¹), и растворяющийся в расплаве бром сразу же расходуется на реакцию карбогалогенирования.

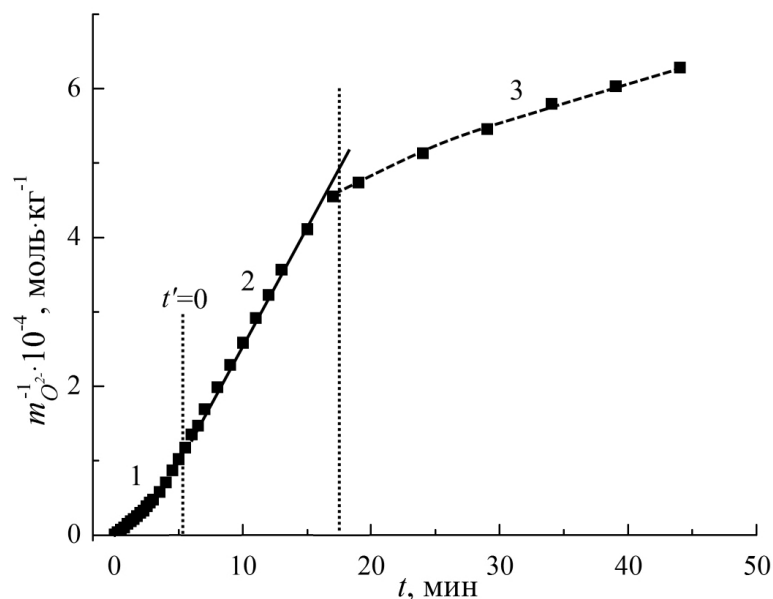


Рисунок 2. Зависимость $m_{O_2}^{-1} = f(t)$ для процесса карбогалогенирования расплава KBr-LiBr при 973 К. Участки: 1 – лимитирующая стадия – растворение брома в расплаве, 2 – лимитирующая стадия – химическая реакция, 3 – скорости очистки и загрязнения расплава выравниваются.

Второй участок (5-17 мин) является линейным в координатах $m_{O_2}^{-1} = f(t)$. Это указывает на то, что на данном участке процесс карбогалогенирования протекает в соответствии с кинетическим уравнением II порядка. Концентрация оксид-ионов составляет $\sim 10^{-4}$ моль·кг⁻¹, то есть, примерно в 100 раз ниже начальной, за счет этого скорость химической реакции уменьшается в 10000 раз (II порядок по оксид-ионам). Концентрация брома в расплаве практически соответствует его растворимости при парциальном давлении 8600 Па и может считаться постоянной, поскольку его расход на реакцию с оксид-ионами незначителен. То же самое можно сказать и о другом участнике реакции – графите. На втором участке его расход, как и расход брома, становится незначительным.

Угловым коэффициентом зависимости $m_{O_2}^{-1} = f(t)$ на этом участке равен константе скорости химической реакции.

На третьем участке скорость процесса карбогалогенирования становится сравнимой, и, в конце концов, равной скорости загрязнения расплава кислородсодержащими примесями, а соответствующая зависимость $pO=f(t)$ на рис.1 (кривая 2) выходит на плато.

Для расчета констант скорости химической реакции по экспериментальным данным для всех температур были построены зависимости $m_{O_2}^{-1} = f(t')$, где t' – время, отсчитываемое с начала второго участка на зависимости $m_{O_2}^{-1} = f(t)$. Они приведены на рис. 3.

Видно, что повышение температуры приводит к небольшому возрастанию углового коэффициента зависимостей $m_{O_2}^{-1} = f(t')$, обработка этих зависимостей методом наименьших квадратов позволила оценить значения констант скорости (кг·моль⁻¹·мин⁻¹) как 2379 ± 150 при 943 К, 2619 ± 150 при 973 К, 2934 ± 160 при 1000 К и 3314 ± 250 при 1023 К.

Зависимость $\ln k$ от обратной температуры линейна и аппроксимируется следующим уравнением:

$$\ln k = 12.02(\pm 1) - 4011(\pm 900) \cdot T^{-1}, \quad (6)$$

а значение энергии активации оценивается как 33.3 ± 7.5 кДж·моль⁻¹. Из этого значения можно оценить и термодинамические характеристики образования активированного комплекса: значе-

ние ΔH^\ddagger в исследованном интервале температур изменяется от 25.5 до 24.9 кДж·моль⁻¹, а ΔS^\ddagger находится в пределах $-133 \div -133.5$ Дж·моль⁻¹·К⁻¹.

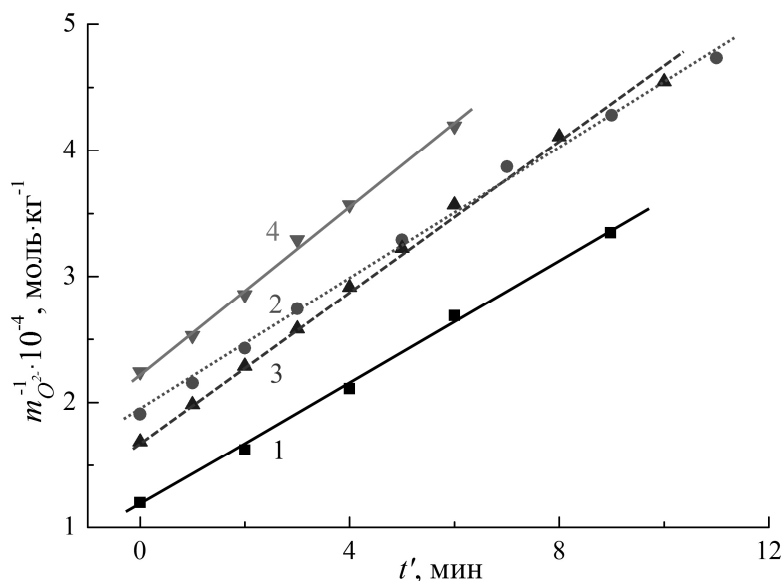


Рисунок 3. Зависимость $m_{O^{2-}}^{-1} = f(t')$ для карбогалогенирования расплава KBr-LiBr при температурах 943 (1), 973 (2), 1000 (3) и 1023 (4) К.

В отличие от хлоридных расплавов, повышение температуры обработки бромидного расплава не оказывает существенного влияния на скорость процесса карбогалогенирования. Повышение температуры на 80 К приводит к возрастанию скорости реакции примерно в 1.4 раза, в то время, как для хлоридных расплавов она возрастает почти в 7 раз (энергия активации карбохлорирования составляет примерно 200 кДж·моль⁻¹) [7]. Это различие можно объяснить разницей в энергиях разрыва связей в молекулах веществ, используемых для галогенирования расплавов. Так, для обработки бромидных расплавов используется бром, в котором энергия разрыва связи Br-Br равна 199 кДж·моль⁻¹ [8]. Для обработки хлоридных расплавов используется тетрахлорметан, для разрыва связи C-Cl требуется около 340 кДж·моль⁻¹ [9]. Разница энергий связи Br-Br и C-Cl в 140 кДж·моль⁻¹ обуславливает столь значительное различие (~170 кДж·моль⁻¹) энергий активации процессов карбохлорирования и карбобромирования.

Выводы

Процесс карбогалогенирования расплава эвтектической смеси KBr-LiBr имеет II порядок по оксид-ионам. Предел очистки расплава находится в пределах $(1.4 \div 1.8) \cdot 10^{-5}$ моль·кг⁻¹ в расчете на O²⁻.

Политермическое исследование позволило оценить значение энергии активации процесса как 33.3 ± 7.5 кДж·моль⁻¹.

Литература

1. van 't Spijker J. C., Dorenbos P., van Eijk C. W. E., Krämer K., Güdel H. U. Scintillation and luminescence properties of Ce³⁺ doped K₂LaCl₅//J. Lumin.-1999.-V. 85, N1.-P.1-10.
2. Borade R., Bourret-Courchesne E., Derenzo S. Scintillation properties of CsBa₂Br₅:Eu²⁺.-Nucl.Instr. Meth. Phys. Res. A, 2011, V. 652, No 1, p. 260-263.
3. Optical and scintillation properties of Cs₂LiYCl₆:Ce³⁺ and Cs₂LiYCl₆:Pr³⁺ crystals / E. V. D. van Loef, J. Glodo, W. M. Higgins and K. S. Shah // IEEE Transactions on Nuclear Science. – 2005. –V. 52, No 5. – P. 1819–1822, 2005.
4. New thermal neutron scintillators: Cs₂LiYCl₆:Ce³⁺ and Cs₂LiYBr₆:Ce³⁺ / A. Bessière, // IEEE Transactions on Nuclear Science. – 2004. – V. 51, No 5. – P. 2970–2972.

5. Cherginets V.L., Rebrova T.P., Datsko Yu.N., Goncharenko V.F., Kosinov N.N., Pedash V.Yu. On luminescence properties of CsI crystals scavenged by Mg^{2+} // Mater.Lett.-2011.-V.65,N15-16.-P.2416-2418.
6. Cherginets V.L., Rebrova T.P., Datsko Yu.N., Kosinov N.N., Shevchenko E.E., Pedash V.Yu. Luminescent properties of CsI crystals grown from the melt treated by metals-getters // J.Cryst.Growth.-2013.-V.380.-P.143-147.
7. Чергинец В.Л., Науменко В.А., Пономаренко Т.В., Реброва Т.П. // Політермічне дослідження процесу очистки расплава KCl-NaCl от кислородсодержащих примесей методом карбохлорирования // Вопросы химии и хим.технологии.-2012.-№ 5.-С.154-157.
8. Чергинец В.Л., Науменко В.А., Пономаренко Т.В., Реброва Т.П. Влияние кислотно-стихлоридного расплава на кинетику процесса карбохлорирования // Вісник ХНУ.Сер.Хім.-2013.-№1085, Вип. 22 (45).-С.113-118.
9. Химическая энциклопедия: в 5 т. Т.1.: А–Дарзана / Редкол. Кнунянц И. Л. и др., Москва, Советская энциклопедия, 1988, 671 с.
10. Краткий справочник физико-химических величин / под ред. А. А. Равделя и А. М. Пономаревой, Ленинград, Химия, 1983, 232 с.

References

1. van 't Spijker J. C., Dorenbos P., van Eijk C. W. E., Krämer K., Güdel H. U. Scintillation and luminescence properties of Ce^{3+} doped K_2LaCl_5 //J. Lumin.-1999.-V. 85, N1.-P.1-10.
2. Borade R., Bourret-Courchesne E., Derenzo S. Scintillation properties of $CsBa_2Br_5:Eu^{2+}$.-Nucl.Instr. Meth. Phys. Res. A, 2011, V. 652, No 1, p. 260-263.
3. Optical and scintillation properties of $Cs_2LiYCl_6:Ce^{3+}$ and $Cs_2LiYCl_6:Pr^{3+}$ crystals / E. V. D. van Loef, J. Glodo, W. M. Higgins and K. S. Shah // IEEE Transactions on Nuclear Science. – 2005. –V. 52, No 5. – P. 1819–1822, 2005.
4. New thermal neutron scintillators: $Cs_2LiYCl_6:Ce^{3+}$ and $Cs_2LiYBr_6:Ce^{3+}$ / A. Bessière, // IEEE Transactions on Nuclear Science. – 2004. – V. 51, No 5. – P. 2970–2972.
5. Cherginets V.L., Rebrova T.P., Datsko Yu.N., Goncharenko V.F., Kosinov N.N., Pedash V.Yu. On luminescence properties of CsI crystals scavenged by Mg^{2+} // Mater.Lett.-2011.-V.65,N15-16.-P.2416-2418.
6. Cherginets V.L., Rebrova T.P., Datsko Yu.N., Kosinov N.N., Shevchenko E.E., Pedash V.Yu. Luminescent properties of CsI crystals grown from the melt treated by metals-getters // J.Cryst.Growth.-2013.-V.380.-P.143-147.
7. Cherginets V.L., Naumenko V.A., Ponomarenko T.V., Rebrova T.P. // Polythermal investigation of process of KCl-NaCl eutectic purification from oxide ion admixtures by carbochlorination method // Problems of Chemistry and Chemical Technology.-2012.-No 5.-P.154-157 [In Russian].
8. Cherginets V.L., Naumenko V.A., Ponomarenko T.V., Rebrova T.P. // Visn. Hark. Nac. univ., 2013, Ser. Him., issue 22(45), P. 113-118. [ISSN 2220-637X (print), ISSN 2220-6396 (online), <http://chembull.univer.kharkov.ua/archiv/2013/13.pdf>] [in Russian].
9. Chemical Encyclopedia in 5 v. V.1. / Ed. Knunyants L.I. et al., Moscow, Sovetskaya Entsiklopediya, 671 p.
10. Short handbook of physicochemical magnitudes / Ed. Ravdel A.A. and Ponomaryova A.M., Leningrad, Khimiya, 1983, 232 p.

Поступила в редакцию 19 мая 2014 г.

В. Л. Чергинец, Т. П. Реброва, В. О. Науменко, Т. В. Пономаренко. Політермічне дослідження процесу карбогалогенування розплаву евтектики KBr-LiBr (0.4:0.6).

В інтервалі температур 943-1023 К проведено дослідження процесу очищення від оксигенвмісних домішок розплаву евтектичної суміші KBr-LiBr методом карбогалогенування шляхом пропускання пари бромю через розплав з суспензією графіту. Швидкість процесу визначали за зміненням концентрації оксид-іонів потенціометричним методом з використанням оксигенового електроду $Pt(O_2)ZrO_2(Y_2O_3)$. Реакція характеризується II кінетичним порядком по відношенню до O^{2-} . Значення констант швидкості процесу (кг·моль⁻¹

$\cdot \text{хв}^{-1}$) дорівнюють: 2379 ± 150 при 943 К, 2619 ± 150 при 973 К, 2934 ± 160 при 1000 К і 3314 ± 250 при 1023 К. Межа очистки розплаву слабо залежить від температури і складає $(1.4 \div 1.8) \cdot 10^{-5}$ моль $\cdot \text{кг}^{-1}$ у розрахунку на O^{2-} . Температурна залежність константи швидкості процесу карбогалогенування описується рівнянням: $\ln k = 12.02(\pm 1) - 4011(\pm 900) \cdot T^{-1}$, на основі чого значення енергії активації може бути оцінене як 33.3 ± 7.5 кДж $\cdot \text{моль}^{-1}$. Значне зниження енергії активації у порівнянні з відповідним значенням для процесу карбогалогенування хлоридних розплавів (~ 170 кДж $\cdot \text{моль}^{-1}$) пояснюється меншою міцністю зв'язку Br–Br у Br_2 у порівнянні з такою для C–Cl в CCl_4 .

Ключові слова: розплави, карбогалогенування, бромід калію, бромід літію, потенціометрія, константа швидкості, оксид-іони.

V. L. Cherginets, T. P. Rebrova, V. A. Naumenko, T. V. Ponomarenko. Polythermal investigation of carbohalogenation process of molten KBr–LiBr (0.4:0.6) eutectic.

The running of carbohalogenation process (the purification from oxide ion traces) in molten KBr–LiBr eutectic was performed in 943–1023 K temperature range. The treatment of the melt was performed by passing bromine vapour through the melt containing suspension of graphite. The rate of the carbohalogenation process was estimated on the basis of changing oxide ion concentration which was detected by a potentiometric methods with the use of an oxygen electrode $\text{Pt}(\text{O}_2)\text{ZrO}_2(\text{Y}_2\text{O}_3)$. This reaction is characterized by 2nd kinetic order with respect to oxide ions. The corresponding rate constants ($\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) are equal to: 2379 ± 150 at 943 K, 2619 ± 150 at 973 K, 2934 ± 160 at 1000 K and 3314 ± 250 at 1023 K. The purification limit of the studied melt is practically independent of temperature and is varied in $(1.4 \div 1.8) \cdot 10^{-5}$ mol $\cdot \text{kg}^{-1}$ range with respect to O^{2-} . The dependence of the rate constant against the temperature is described by the following equation: $\ln k = 12.02(\pm 1) - 4011(\pm 900) \cdot T^{-1}$ that allows one to estimate the activation energy as 33.3 ± 7.5 kJ $\cdot \text{mol}^{-1}$. A considerable decrease of the activation energy comparing with the corresponding values for the carbohalogenation of chloride melts (~ 170 kJ $\cdot \text{mol}^{-1}$) can be explained by lower strength of Br–Br bond in bromine Br_2 in comparison with C–Cl bond in CCl_4 .

Key words: melts, carbohalogenation, potassium bromide, lithium bromide, potentiometry, rate constant, oxide ions.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 543.42.062+544.77+547.633.6

ВЛИЯНИЕ МИЦЕЛЛЯРНОЙ СРЕДЫ ЭТОНИЯ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ И ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЯДА ИНДИКАТОРНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ**Н. Н. Камнева, О. С. Быкова**

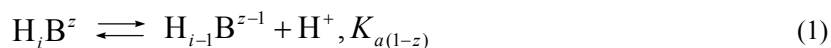
В среде двухвостого катионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) 1,2-этилен-бис-(*N*-децилоксикарбонилметил-*N,N*-диметиламмоний) дихлорида (коммерческое название: Этоний) определены показатели «кажущихся» констант ионизации pK_a^{app} ряда индикаторных красителей. Водный раствор Этония содержит крупные частицы, которые образуют агрегаты в форме бислоев или везикул. Данные структуры напоминают бислои фосфолипидов, поэтому они с успехом могут быть использованы в качестве модельных систем в фармации и медицине. Изменения показателей констант ионизации и смещения полос поглощения анионных индикаторных красителей свидетельствуют об их связывании мицеллами Этония.

Ключевые слова: двухвостые поверхностно-активные вещества; мицеллярные растворы; протолитические свойства; кажущаяся константа ионизации; анионные индикаторные красители.

Введение

В последнее время в химии и сопредельных областях в качестве растворителей, удобных для управления различными процессами, все чаще используются организованные среды, и прежде всего – мицеллярные растворы коллоидных ПАВ в воде. Их использование выгодно в значительной мере из-за того, что изменение свойств связанных мицеллярной средой реагентов определяется влиянием их микроокружения, а не растворителем в целом [1–3].

Индикаторные красители являются общепринятыми молекулярными пробами для исследования мицелл, бислоев, везикул, микроэмульсий и т.п. [1–3]. Рассмотрим равновесие кислотно-основного индикатора:



Характеристикой таких систем является «кажущаяся» (apparent) константа ионизации, выражение для показателя которой представлено ниже:

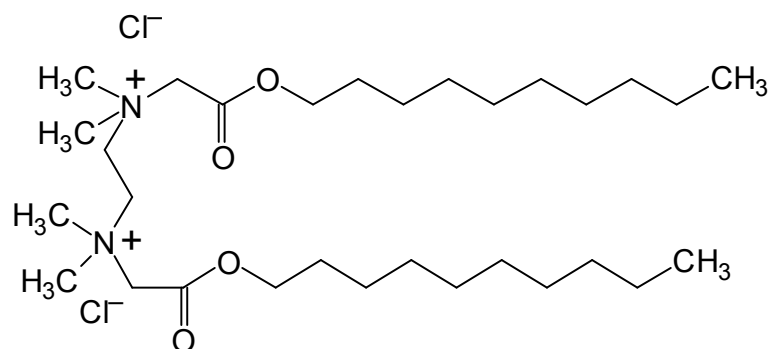
$$pK_a^{app} = pN_w + \log \frac{[H_i V^z]_t}{[H_{i-1} V^{z-1}]_t} \quad (2)$$

Данная константа является фактически константой двухфазного равновесия, т.к. индикаторный краситель связывается псевдофазой мицелл ПАВ, а pN_w определяется в объемной фазе.

К настоящему времени накоплено большое количество данных об индикаторных равновесиях в мицеллярных средах [3,4]. Они относятся главным образом к поверхностно-активным амфифильным соединениям, содержащим один длинный углеводородный радикал («хвост»). Что касается сред, содержащих ПАВ с двумя углеводородными радикалами, то они требуют более подробного изучения.

В частности, важно выяснить, насколько изменения значений pK_a^{app} индикаторных красителей в среде двухвостых ПАВ по сравнению с pK_a в воде (pK_a^w), подобны этим изменениям в среде одноцепочечных катионных ПАВ, которые изучены достаточно хорошо [3–5]. Подобные исследования пока немногочисленны; в качестве примера можно привести данные, полученные для гемини-ПАВ 16-4-16 («сдвоенный ПАВ») [6].

В настоящей работе в качестве исследуемой мицеллярной микрогетерогенной среды используется Этоний [7], молекула которого содержит два ионных центра и две углеводородные цепочки.



По своему строению и свойствам Этоний напоминает гемини-ПАВ, которые образуют в воде бислои [6,8]. В ходе исследования подобных соединений было обнаружено, что они с успехом могут быть использованы в качестве биосовместимых и биоразлагаемых антимикробных агентов, ускоряющих заживление кожи. Дезинфицирующие свойства Этония обусловлены тем, что он нарушает проницаемость цитоплазматической мембраны микробных клеток, ингибирует связанные с мембраной ферменты, необратимо нарушая функцию микробной клетки [7,9].

Благодаря тому, что бислои Этония напоминают бислои фосфолипидов, данные мицеллярные среды могут быть использованы для моделирования биологических систем. В данной работе были определены показатели констант ионизации ряда индикаторных красителей, а также изучены свойства сольватохромного индикатора дихлорбетаина в мицеллярной среде Этония.

Экспериментальная часть

Реактивы и приготовление растворов. Этоний, синтезированный на Опытном производстве института химии НАН Украины, был любезно предоставлен нам членом-корреспондентом НАН Украины профессором В.И. Кальченко. Рабочая концентрация растворов Этония была 3.0×10^{-3} М (тут и далее 1 М = 1 моль л⁻¹). Исходное значение рН раствора Этония равно 3.39, что согласуется со значением рН, равным 2.7 для более концентрированного раствора (0.017 М) в работе Фомина и др. [9].

Использовали цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) фирмы «Merck» без дополнительной очистки. Рабочая концентрация *c*(ЦТАБ) была равна 0.01 М. В работе изучен ряд индикаторных красителей, использовавшихся ранее: бромфеноловый синий, бромкрезоловый пурпурный, бромкрезоловый зеленый, метиловый оранжевый, сульфифлуоресцеин [3,4,10]. Препарат 4-(2,4,6-трифенилпиридиний-1-ил)-2,6-дихлорфенолята (дихлорбетаина), ранее уже исследовавшийся в нашей лаборатории [11], был любезно предоставлен профессором К. Райхардтом (Марбург, Германия). Концентрация спирта в рабочих растворах с дихлорбетаином составляла 9.6% об. Концентрация красителей в растворах была в диапазоне 1.0×10^{-6} – 1.8×10^{-4} М.

Для варьирования рН использовали раствор гидроксида натрия, защищенный от атмосферного CO₂, и раствор HCl. Исходный раствор щелочи готовили разбавлением прокипяченной бидистиллированной водой аликвоты насыщенного раствора NaOH [12]. Для поддержания постоянной ионной силы *I* = 0.05 М в растворы вводили добавки хлорида натрия («Химлаборреактив»).

Вследствие появления мутности при введении в раствор Этония щелочи добавляли сначала по каплям раствор HCl (0.0101 М), а затем так же по каплям раствор NaOH (0.0112 М) до необходимого значения рН в диапазоне 3.5 ÷ 5.9. По этой же причине не использовали буферные растворы. Для получения раствора депротонированной (дианионной) формы сульфифлуоресцеина готовили раствор красителя в ЦТАБ с концентрацией *c*(ЦТАБ) = 0.01 М и рН ≈ 12 (NaOH).

Значения рН растворов метилового оранжевого варьировали с помощью добавок концентрированной HCl в диапазоне рН 0 ÷ 4.3. Ионная сила при этом тоже изменяется.

Предварительные исследования, проведенные методами статического рассеяния света (Е.А. Коростелева, Фармстандарт-Биолек, Харьков) и динамического рассеяния света растворами Этония (А.И. Маринин, Национальный университет пищевых технологий, Киев), а также просвечивающей электронной микроскопии высушенных образцов (А.П. Крышталъ, физический факультет Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Харьков) показали, что в растворе Этония с рабочей концентрацией 3.0×10^{-3} М присутствуют частицы диаметром от 10 нм до нескольких мкм, что указывает на полидисперсность системы. Таким образом, в растворе присутствуют достаточно крупные частицы, вероятно – бислои или даже, везикулы.

Оборудование. Значения pH рабочих растворов определяли с помощью R 37-01 потенциометра и pH-121 pH-метра-милливольтметра в качестве нуля-инструмента в цепи с переносом со стеклянным ЭСЛ-43-07 и Ag|AgCl электродом сравнения при $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$. Градуировку проводили по стандартным буферным растворам 1.68, 3.56, 4.01 и 6.86.

Спектры поглощения измеряли с помощью спектрофотометра Hitachi U-2000 против холодных растворов при 25°C в диапазоне длин волн 350-700 нм в кюветах длиной 1 см.

Результаты и обсуждение

Этоний, как и подобные ему двухвостые ПАВ, в воде образуют бислои и везикулы [13,14]. Для этих ПАВ критическая концентрация мицеллообразования $\text{ККМ} \leq 1 \times 10^{-5}$ М [6,8,14].

Для создания необходимых значений $\text{pH} > 4$ добавляли небольшое количество NaOH. Но при pH выше 6 растворы начинают мутнеть, что, возможно, связано с изменением и деформацией бислоев и везикул, а также с обменом противоионов Cl^- на OH^- . Поэтому крайняя форма R^{2-} для сульфифлуоресцеина была получена при pH 12 (NaOH) в среде однохвостого ПАВ ЦТАБ.

Добавление в растворы Этония даже малых концентраций буферных растворов также приводит к их помутнению. Таким образом, был выбран ряд индикаторных красителей, показатели констант ионизации которых лежат в области pH от 0.5 до 5.0.

Для трех сульфифталеиновых красителей, схема ионизации которых представлена ниже на рисунке 1, определены значения $\text{p}K_a^{\text{app}}$.

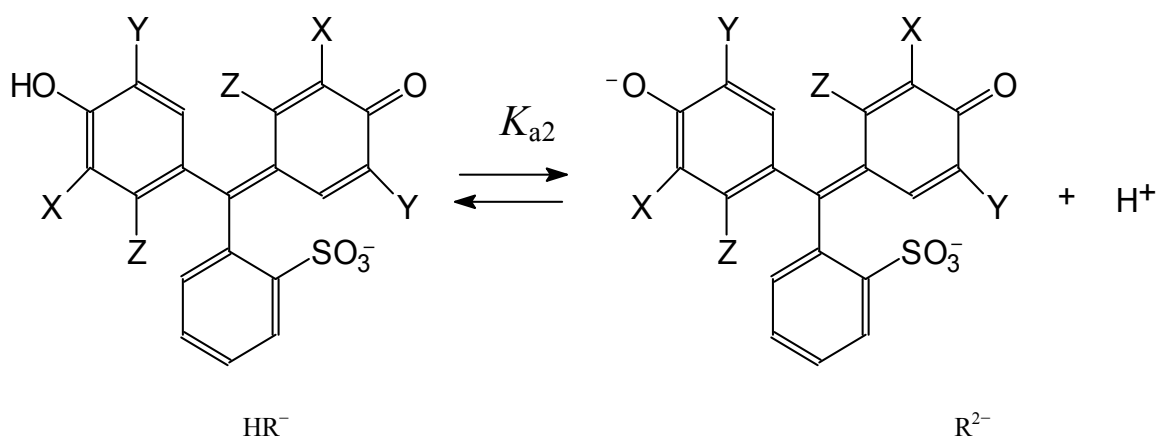


Рисунок 1. Схема ионизации сульфифталеиновых красителей: бромфенолового синего $\text{X} = \text{Y} = \text{Br}$, $\text{Z} = \text{H}$; бромкрезолового зеленого $\text{X} = \text{Y} = \text{Br}$, $\text{Z} = \text{CH}_3$ и бромкрезолового пурпурного $\text{X} = \text{Br}$, $\text{Y} = \text{CH}_3$, $\text{Z} = \text{H}$.

Равновесие ионизации по первой ступени сдвигается в сильноокислую область, поэтому для сульфифталеинов определяли только значение $\text{p}K_a^{\text{app}}$. Пример спектров поглощения для бромкрезолового зеленого представлен на рисунке 2.

На рисунке 3 представлена схема ионизации ксантенового красителя сульфифлуоресцеина. Т.к. равновесие ионизации цвиттер-иона HR^\pm тоже сдвинуто в сильноокислую область, то рассматривали только ионизацию по второй ступени.

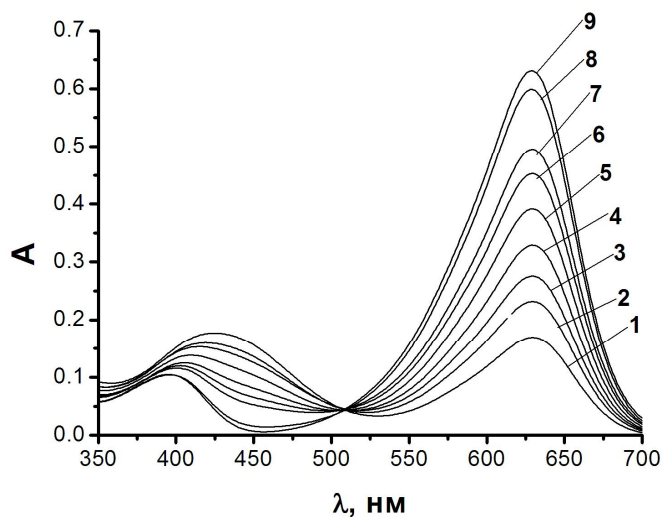


Рисунок 2. Зависимость оптического поглощения бромкрезолового зеленого от длины волны в мицеллярной среде Этония $c = 3.0 \times 10^{-3}$ М, $I = 0.05$ М, при разных рН: 1 – рН 2.62; 2 – рН 2.83; 3 – рН 2.94; 4 – рН 3.12; 5 – рН 3.33; 6 – рН 3.53; 7 – рН 3.70; 8 – рН 4.39; 9 – рН 5.87 (R^{2-}).

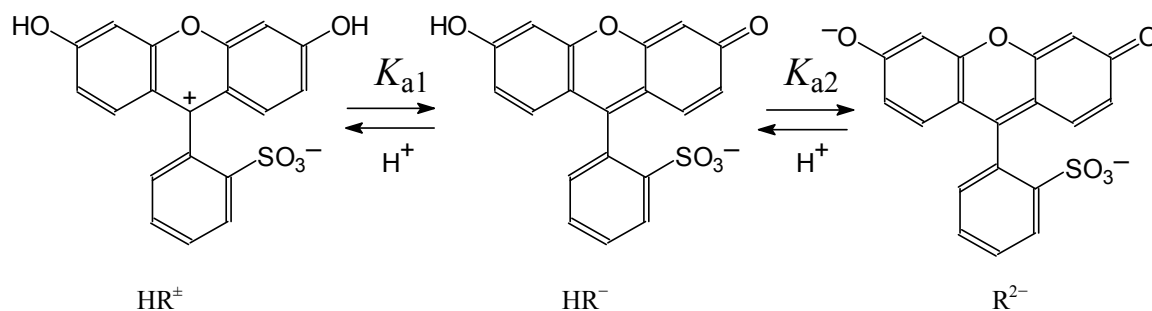


Рисунок 3. Схема ионизации сульфифлуоресцеина.

Схемы ионизации метилового оранжевого и дихлорбетаина представлены на рисунках 4 и 5 соответственно.

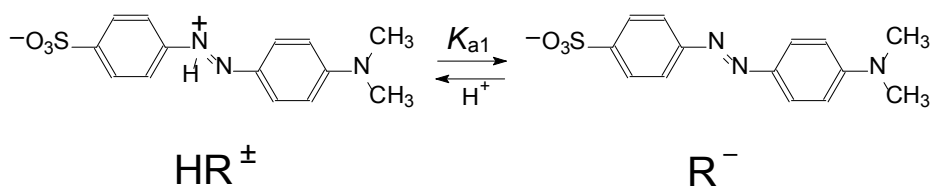


Рисунок 4. Схема ионизации метилового оранжевого.

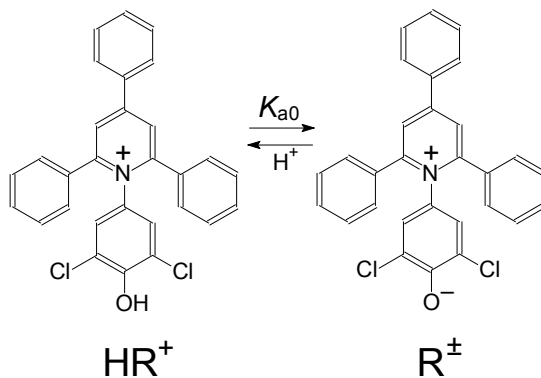


Рисунок 5. Схема ионизации 4-(2,4,6-трифенилпиридиний-1-ил)-2,6-дихлорфенолята (дихлорбетаína).

Значения показателей «кажущихся» констант ионизации перечисленных индикаторных красителей представлены в таблице 1.

Спектры поглощения дихлорбетаина приведены на рисунке 6.

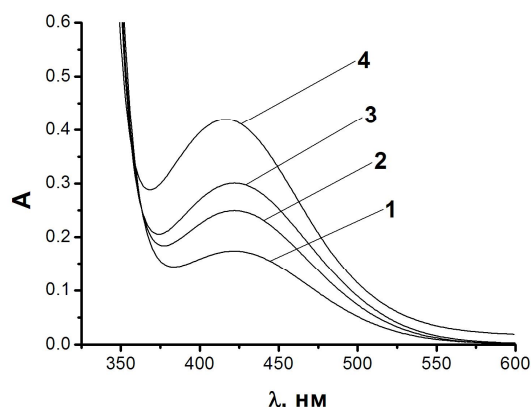


Рисунок 6. Зависимость оптического поглощения дихлорбетаина от длины волны в мицеллярной среде этония $c = 3.0 \times 10^{-3}$ М, $I = 0.05$ М (NaOH+NaCl), при разных pH: 1 – pH 4.65; 2 – pH 5.06; 3 – pH 5.11; 4 – pH 5.7 (R^{\pm})

Таблица 1. Значения показателей «кажущихся» констант ионизации и максимумов полос поглощения депротонированных форм ряда индикаторных красителей (25 °С, $I = 0.05$ М)

Индикатор	pK_a^w	pK_a^{app} в растворе Этония	ΔpK_a^{app}	ΔpK_a^{app} в растворе ЦТАБ ^б [15-17]	ΔpK_a^{app} в растворе ЦПХ ^г [11, 18]	λ_{max} , нм в воде	λ_{max} , нм в растворе Этония	$\Delta \lambda_{max}$, нм
Бромфеноловый синий	4.20	2.15 ± 0.04	-2.05	-1.37	-2.16	590	605	15
Бромкрезоловый зеленый	4.90	3.10 ± 0.03	-1.80	-0.84	-1.68	615	629	14
Бромкрезоловый пурпурный	6.30	4.60 ± 0.03	-1.70	—	-1.32	588	601	13
Сульфо- флуоресцеин	6.76	4.83 ± 0.03	-1.93	-1.03	-1.30	495	512	17
Метилловый оранжевый	3.45	0.55 ± 0.01^a	-2.85	-2.3 ^б	—	462	508	46
Дихлорбетаин	4.76	4.8 ± 0.2	+0.04	—	-1.01	411	420	9

^а Значение pK_a^{app} определено при $I = 0.10$ М; ^б $I = 0.05$ М (NaBr); ^в $I = 0.126$ М (HBr+KBr); ^г $I = 0.05$ М (NaCl).

Влияние мицеллярной среды Этония оценивали по величинам $\Delta pK_a^{app} = pK_a^{app} - pK_a^w$. В случае анионных индикаторов значения pK_a^{app} уменьшались по сравнению с соответствующими значениями в воде, что согласуется с общей тенденцией уменьшения pK_a^{app} в мицеллярных средах на основе катионных однохвостых ПАВ [2,3,14]. В ряду бромфеноловый синий – бромкрезоловый зеленый – бромкрезоловый пурпурный ΔpK_a^{app} изменяется монотонно от -2.05 до -1.70, как и в системах на основе других катионных ПАВ (таблица 1). Заметный сдвиг равновесия отмечен и для сульфифлуоресцеина: $\Delta pK_a^{app} = -1.93$.

Поскольку переход окраски метилового оранжевого в мицеллярном растворе Этония заметно смещен в кислую область, то ионная сила варьировалась в зависимости от концентрации

добавленной кислоты HCl (0.100–0.224 М). При этом значения pK_a^{app} варьировались от 0.55 ± 0.01 до 0.94 ± 0.01 , а ΔpK_a^{app} изменялись соответственно от -2.90 до -2.51 .

В целом, заметное различие значений ΔpK_a^{app} позволяет констатировать сильное дифференцирующее действие мицеллярных растворов Этония по отношению к кислотной ионизации индикаторов.

Показатель «кажущейся» константы ионизации дихлорбетаина практически не изменяется при переходе от среды Этония к воде, а смещение максимума полосы поглощения составляет всего 9 нм, что говорит о незначительном связывании цвиттер-иона вследствие его объемной структуры. В тоже время, анионы сульфоталеиновых красителей, сульфифлуоресцеина и метилового оранжевого полностью связываются бислоями Этония.

Выводы

Мицеллярная среда Этония способствуют снижению значений показателей «кажущихся» констант ионизации ряда индикаторных красителей аналогично мицеллярным растворам «однохвостых» катионных ПАВ, несмотря на различие в структуре мицелл. Это объясняется локализацией индикатора вблизи положительно заряженных ионных групп ПАВ в слое Штерна. При этом эффекты среды для сульфоталеиновых индикаторов монотонно изменяются в ряду бромфеноловый синий – бромкрезоловый зеленый – бромкрезоловый пурпурный. Это свидетельствует о дифференцирующем действии мицеллярной псевдофазы.

Благодарности

Авторы выражают благодарность члену-корреспонденту НАН Украины профессору В.И. Кальченко за предоставление препарата Этония, профессору К. Райхардту (Филиппс-университет г. Марбурга, Германия) за предоставление препарата красителя дихлорбетаина, Е.А. Коростелевой (Фармстандарт-Биолек, Харьков) за измерения методом статического рассеяния света, А.И. Маринину (Национальный университет пищевых технологий, Киев) за измерения динамического рассеяния света растворами Этония, а также А.П. Крышталю (физический факультет Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Харьков) за измерения методом просвечивающей электронной микроскопии. А также профессору Н.О. Мчедлову-Петросяну за обсуждение результатов.

Литература

1. Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions & Usage, ed. D. Bradburn, J. Bittinger, N. Y.: Nova Publishers, 2013.
2. Мчедлов-Петросян Н.О. , Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах / Н.О Мчедлов-Петросян. – Харьков: изд. Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина, 2004. - 326 с.
3. Mchedlov-Petrossyan N.O. Protolytic equilibrium in lyophilic nanosized dispersions: Differentiating influence of the pseudophase and salt effects / N.O. Mchedlov-Petrossyan // Pure Appl. Chem. – 2008. – Vol. 80, N. 7. – P. 1459–1510.
4. Mchedlov-Petrossyan N. O., Vodolazkaya N. A., Kamneva N. N., in: Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions & Usage, ed. D. Bradburn, J. Bittinger, N. Y.: Nova Publishers, 2013. Chapter 1. P. 1-71.
5. Grieser F. The physicochemical properties of self-assembled surfactant aggregates as determined by some molecular spectroscopic probe techniques / F. Grieser, C. J. Drummond // J. Phys. Chem. – 1988. – Vol. 92(20). – P. 5580–5593.
6. Пушкаревская Е.В. Кислотно-основные равновесия сульфоталеиновых индикаторов в мицеллярных растворах катионного димерного ПАВ / Е. В. Пушкаревская, С. В. Шеховцов, Н. А. Водолазкая // Вісник Харківського національного університету – 2013. – Хімія. Вип. 22 (45), № 1085. – С. 99-105.
7. Саввин С.Б. Поверхностно-активные вещества / С. Б. Саввин, Р. К. Чернова, С. Н. Штыков. – М.: Наука, 1991.- 239 с.

8. Gemini surfactants from natural amino acids / L. Pérez, A. Pinazo, R. Pons, M. R. Infante // *Advances in Colloid and Interface Science* – 2014. – Vol. 205. – P. 134–155.
9. Фомин П.А. Исследование бактерицидных ионообменных сорбентов / П.А. Фомин, Ю.А. Лейкин, Т.А. Черкасова // *Успехи в химии и хим. технологии*. – 2008. – Т. XXII, №13(93). – С. 10-14.
10. The difference between the aggregates of short-tailed and long-tailed cationic calix[4]arene in water as detected using fluorescein dyes / T.A. Cheipesh, E.S. Zagorulko, N.O. Mchedlov-Petrosyan [et al.] // *J. Mol. Liq.* – 2014. – Vol. 193. – P. 232-238.
11. Isaenko Yu. V. Reporter molecules for nanosized lyophilic dispersions. 2,6-Dichloro-4-(2,4,6-triphenylpyridinium-1-yl)phenolate in aqueous micellar solutions of colloidal surfactants / Yu. V. Isaenko, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov-Petrosyan // *Functional Materials*. – 2006. – V. 13, No. 3. – P. 423-425.
12. Сусленникова В.М. Руководство по приготовлению титрованных растворов / В.М. Сусленникова, Е.К. Киселева— Изд. 6-е, перераб. — Л.: Химия, 1978. — 184 с., ил.
13. Control of Aggregate Structure with mixed Counterions in an Ionic Double-Chained Surfactant / D. D. Miller, J. R. Bellare, T. Kaneko, D. F. Evans // *Langmuir*. – 1988. – Vol. 4, N6. – P. 1363-1367.
14. Structure and Frictional Properties of Self-Assembled Surfactant Monolayers / Y. Liu, D. F. Evans, Q. Song, D. W. Grainger // *Langmuir*. – 1996. – Vol. 12, N5. – P. 1235-1244.
15. Н.А. Водолазкая. Кислотно-основные равновесия индикаторных красителей в организованных растворах / Н.А. Водолазкая, Н.О. Мчедлов-Петросян. Харьков: Изд. ХНУ, 2014. 460 с.
16. Мчедлов-Петросян Н.О. Влияние солей на ионизацию индикаторов в слое Штерна катионных мицелл / Н.О. Мчедлов-Петросян, Л.П. Логинова, В.Н. Клещевникова // *Журн. физич. химии*. 1993. – Т. 67, № 8. – С. 1649-1653.
17. The influence of 1-butanol and electrolytic background on the properties of CTAB micelles as examined using a set of indicator dyes / N.N. Kamneva, A.Yu. Kharchenko, O.S. Bykova, A.V. Sundenko, N.O. Mchedlov-Petrosyan // *J. Mol. Liq.* – 2014. – Vol. 199. – P. 376-384.
18. Мчедлов-Петросян Н.О. Влияние катионного поверхностно-активного вещества на протолитические свойства некоторых трифенилметановых красителей / Н. О. Мчедлов-Петросян, В. Н. Клещевникова // *Журн. общей химии*. – 1990. – Т. 60, №4. – С. 900-911.

References

1. *Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions & Usage*, ed. D. Bradburn, J. Bittinger, N. Y.: Nova Publishers, 2013.
2. Mchedlov-Petrosyan N.O., *Differencirovanie silyl' organicheskikh kislot v istinny'h i organizovanny'h rastvorah* / N.O Mchedlov-Petrosyan. - Har'kov: izd. Har'kovskogo nacional'nogo universiteta im. V.N. Karazina, 2004. - 326 p. [in Russian]
3. Mchedlov-Petrosyan N.O. Protolytic equilibrium in lyophilic nanosized dispersions: Differentiating influence of the pseudophase and salt effects / N.O. Mchedlov-Petrosyan // *Pure Appl. Chem.* – 2008. – Vol. 80, N. 7. – P. 1459–1510.
4. Mchedlov-Petrosyan N. O., Vodolazkaya N. A., Kamneva N. N., in: *Micelles: Structural Biochemistry, Formation and Functions & Usage*, ed. D. Bradburn, J. Bittinger, N. Y.: Nova Publishers, 2013. Chapter 1. P. 1-71.
5. Grieser F. The physicochemical properties of self-assembled surfactant aggregates as determined by some molecular spectroscopic probe techniques / F. Grieser, C. J. Drummond // *J. Phys. Chem.* – 1988. – Vol. 92(20). – P. 5580–5593.
6. Pushkarevskaya E.V. Kislотно-основны'e равновеси'ya sul'foftaleinovy'h indikatorov v micel'lyarny'h rastvorah kationnogo dimernogo PAV / E. V. Pushkarevskaya, S. V. Shehovcov, N. A. Vodolazkaya // *Vi'snik Harki'vs'kogo naci'onal'nogo uni'versitetu* - 2013. -Hi'mi'ya. Vip. 22 (45), № 1085. - С. 99-105. [in Russian]
7. Savvin S.B. Poverhnostno-aktivny'e vesh'estva / S. B. Savvin, R. K. Chernova, S. N. Shty'kov. - M.: Nauka, 1991.- 239 p. [in Russian]
8. Gemini surfactants from natural amino acids / L. Pérez, A. Pinazo, R. Pons, M. R. Infante // *Advances in Colloid and Interface Science* – 2014. – Vol. 205. – P. 134–155.

9. Fomin P.A. Issledovanie baktericidny'h ionoobmennyy'h sorbentov / P.A. Fomin, Yu.A. Leykin, T.A. Cherkasova // Uspehi v himii i him. tehnologii. - 2008. - T. XXII, №13(93). - P. 10-14. [in Russian]
10. The difference between the aggregates of short-tailed and long-tailed cationic calix[4]arene in water as detected using fluorescein dyes / T.A. Cheipesh, E.S. Zagorulko, N.O. Mchedlov-Petrosyan [et al.] // J. Mol. Liq. – 2014. – Vol. 193. – P. 232-238.
11. Isaenko Yu. V. Reporter molecules for nanosized lyophilic dispersions. 2,6-Dichloro-4-(2,4,6-triphenylpyridinium-1-yl)phenolate in aqueous micellar solutions of colloidal surfactants / Yu. V. Isaenko, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov-Petrosyan // Functional Materials. – 2006. – V. 13, No. 3. – P. 423-425.
12. Suslennikova V.M. Rukovodstvo po prigotovleniyu titrovanny'h rastvorov / V.M. Suslennikova, E.K. Kiseleva- Izd. 6-e, pererab. - L.: Himiya, 1978. - 184 s., il. [in Russian]
13. Control of Aggregate Structure with mixed Counterions in an Ionic Double-Chained Surfactant / D. D. Miller, J. R. Bellare, T. Kaneko, D. F. Evans // Langmuir. – 1988. – Vol. 4, N6. – P. 1363-1367.
14. Structure and Frictional Properties of Self-Assembled Surfactant Monolayers / Y. Liu, D. F. Evans, Q. Song, D. W. Grainger // Langmuir. – 1996. – Vol. 12, N5. – P. 1235-1244.
15. N.A. Vodolazkaya. Kislotno-osnovny'e ravnovesiya indikatorny'h krasiteley v organizovanny'h rastvorah / N.A. Vodolazkaya, N.O. Mchedlov-Petrosyan. Har'kov: Izd. HNU, 2014. 460 p. [in Russian]
16. Mchedlov-Petrosyan N.O. Vliyanie soley na ionizatsiyu indikatorov v sloe SHterna kationny'h micell / N.O. Mchedlov-Petrosyan, L.P. Loginova, V.N. Klesch'evnikova // Journ. fizich. himii. 1993. - T. 67, № 8. - P. 1649-1653. [in Russian]
17. The influence of 1-butanol and electrolytic background on the properties of CTAB micelles as examined using a set of indicator dyes / N.N. Kamneva, A.Yu. Kharchenko, O.S. Bykova, A.V. Sundenko, N.O. Mchedlov-Petrosyan // J. Mol. Liq. – 2014. – Vol. 199. – P. 376-384.
18. Mchedlov-Petrosyan N.O. Vliyanie kationnogo poverhnostno-aktivnogo vesh'estva na protolicheskie svoystva nekotory'h trifenilmetanovy'h krasiteley / N. O. Mchedlov-Petrosyan, V. N. Klesch'evnikova // Journ. obsch'ey himii. - 1990. - T. 60, №4. - P. 900-911. [in Russian]

Поступила в редакцию 28 мая 2014 г.

Н. М. Камнева, О. С. Бикова. Вплив міцелярного середовища Етонію на спектральні та протолітичні властивості ряду індикаторних барвників.

У середовищі двохвості катіонної поверхнево-активної речовини (ПАР) 1,2-етилен-біс-(N-децилоксикарбонілметил-N,N-діметиламмоній) діхлориду (під комерційною назвою Етоній) визначено показники «уявних» констант іонізації ряду індикаторних барвників. Водний розчин Етонію містить великі частки, які утворюють агрегати у формі бішарів або везикул. Дані структури нагадують бішари фосфоліпідів, тому вони з успіхом можуть бути використані в якості модельних систем у фармації та медицині. Зміни показників констант іонізації і зміщення смуг поглинання аніонних індикаторних барвників свідчать про їх зв'язування міцелами Етонію.

Ключові слова: двохвості поверхнево-активні речовини; міцелярні розчини; протолітичні властивості; уявна константа іонізації; аніонні індикаторні барвники.

N. N. Kamneva, O. S. Bykova. The influence of the micellar medium of aethonium on the spectral and protolytic properties of a set of indicator dyes.

The values of indices of the "apparent" ionization constants, pK_a^{app} , of the set of indicator dyes in the medium of double-chained cationic surfactant 1,2-ethylen-bis-(N-decyloxy carbonylmethyl-N,N-dimethylammonium) dichloride (trade name Aethonium) have been determined. An aqueous solution of Aethonium consists of large particles to produce the aggregates in the form of bilayers and vesicles. Latter structures resemble bilayers of phospholipids, so they are promising as model systems in the pharmacy and medicine. Both changes in the indices of the ionization constants and shift of the absorption bands of anionic indicator dyes confirm their binding by micelles of Aethonium.

Key words: double-tailed surfactants; micellar solutions; protolytic properties; apparent ionization constant; anionic indicator dyes.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 544.353.3:547.97

РІЗНОРІДНА АСОЦІАЦІЯ КАТІОННИХ БАРВНИКІВ З ГУМІНОВИМИ КИСЛОТАМИ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ

Я. О. Свіщова, С. А. Шаповалов

Розглянуто різномірну асоціацію пінаціанол хлориду та нейтральним червоного з гумусовими кислотами чорнозему типового, глибокого на лісовидному суглинку з різним антропогенним навантаженням (цілина, переліг, рілля) та світло-сірого опідзоленого. Виявлено залежність спектральних змін від будови гумусових кислот.

Ключові слова: барвник, пінаціанол, нейтральний червоний, гумусові кислоти, асоціація, розчин, світлопоглинання.

Відомо, що взаємодія барвників з органічними сполуками у розчинах здатна призводити до утворення термодинамічно стійких стехіометричних асоціатів. Процеси асоціації суттєво впливають на спектральні властивості середовища, спричинюючи не лише зниження інтенсивності, а й появу нових смуг в спектрах світлопоглинання. Такі зміни використовують для кількісного аналізу, зокрема, для оцінки вмісту поверхнево-активних речовин [1]. Останнім часом все більш актуальним стає дослідження асоціації барвників з поліелектролітами як складовими об'єктами природного середовища – ґрунтів; проте накопичений до цього часу матеріал поки стосується взаємодій за участю штучних поліелектролітів (ПЕЛ) [2]. Вивчення міжмолекулярної асоціації за участю ПЕЛ природного походження розширить уявлення про механізм такого типу взаємодій, за аналізом інтенсивності взаємодії дозволить оцінювати будову незабарвлених протионів. В якості ПЕЛ були обрані гумусові кислоти (ГК), структура яких визначає перебіг гумусотворчих процесів у ґрунтах різного генезису [3,4]. Мета дослідження – встановити можливість використання різномірної асоціації за участю катіонних барвників для оцінки будови ГК.

Експериментальна частина

В якості барвників використовували ціаніновий – пінаціанол хлорид (ПНЦ), тіазиновий барвник нейтральний червоний (НЧ) (рисунк 1).



Рисунок 1. Однозарядні катіони ПНЦ (ліворуч) та НЧ (праворуч).

Препарат хлориду ПНЦ – торгівельної марки «Sigma» з вмістом основної речовини 95%; НЧ – за ТУ 6-09-07-1634-87 кваліфікації «чда». Вихідні розчини барвників готували розчиненням точної наважки. Для вимірювань використовували розведені розчини барвників з концентраціями $7 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Для створення необхідного рН середовища використовували буферні розчини з рН 6.9 та 9.2, які готували із стандарт-титрів. Для дослідження було відібрано зразки ґрунту чорнозему типового, глибокого, середньосуглинкового на лісовидному суглинку з різним антропогенним навантаженням (цілина, переліг, рілля) та світло-сірого опідзоленого. Із зразків ґрунту стандартним методом проводили виділення суміші ГК. Екстракцію препаратів здійснювали обробкою ґрунту розчином NaOH з концентрацією 0.1 моль/л (співвідношення ґрунт : розчин = 1 : 50) після попереднього декальцінування розчином Na₂SO₄. Ґрунтові суспензії залишали на добу для фільтрації. Фільтрування проводили після додавання до суспензії насиченого розчину Na₂SO₄ для коагуляції глиняних частинок [5]. Виділення окремих фракцій ГК, а саме гумінових кислот та фульвокислот не проводилось. Спектри поглинання вимірювали

при кімнатній температурі безпосередньо після приготування розчинів на спектрофотометрі «Hitachi-U3210».

ПНЦ існує в катіонній формі, що не змінює свої спектральні характеристики в доволі широкому діапазоні рН: 3–10 [6]. НЧ у водних розчинах існує в катіонній та нейтральній формах $pK_a = 6.5–7.4$ [7], спектри поглинання яких суттєво відрізняються. Нейтральна форма НЧ має максимум смуги поглинання при 450 нм, тоді як положення максимуму поглинання катіонної форми знаходиться в діапазоні 535–545 нм та суттєво залежить від компонентів буферного розчину. У зв'язку з цим, для уникнення додаткових факторів впливу на спектр поглинання, дослідження проводилися лише з нейтральною формою барвника.

Обговорення результатів

ГК є сумішшю гетерогенних високомолекулярних сполук, що містять в своєму складі негідролізовану частину, що представлена аліфатичними та ароматичними фрагментами, та розгалужену гідролізовану частину ПЕЛ, що містить у своєму складі функціональні групи – переважно карбонільні, карбоксильні, гідроксильні та фенольні. Ступінь вивільнення ГК та їх склад залежать від умов екстракції: виду реагентів, концентрації розчинів, часу контакту ґрунту з розчином, кількості екстракцій, температури, співвідношення об'ємів ґрунту та розчинів [8]. Спектри поглинання ГК мають вигляд пологих кривих з максимумом поглинання в короткохвильовій частині УФ-спектра. Інтерпретація таких спектрів зводиться переважно до розрахунку коефіцієнтів екстинкції ($\epsilon_{465/650}$), що дозволяють охарактеризувати структурні особливості гумусових речовин не лише ґрунтів різного типу, а одного й того самого ґрунту при різних обробках. Даний метод дослідження ускладнюється необхідністю приводити поглинання розчинів гумінових речовин різних ґрунтів до однакової концентрації по Карбону. Це може призводити до зниження інформативності спектрів внаслідок ефекту розведення [9].

Величина рН ґрунтових витяжок суттєво впливає на її склад. Так, додавання кислоти призводить до зниження розчинності гумінових кислот та утворення ними твердої фази. Нами вивчено взаємодію ПНЦ⁺ з витяжками чорнозему типового при рН 6.9 та 9.2. На рисунку 2 наведено спектральні зміни, що спостерігаються при додаванні зростаючих кількостей ГК до барвника при рН розчину 6.9.

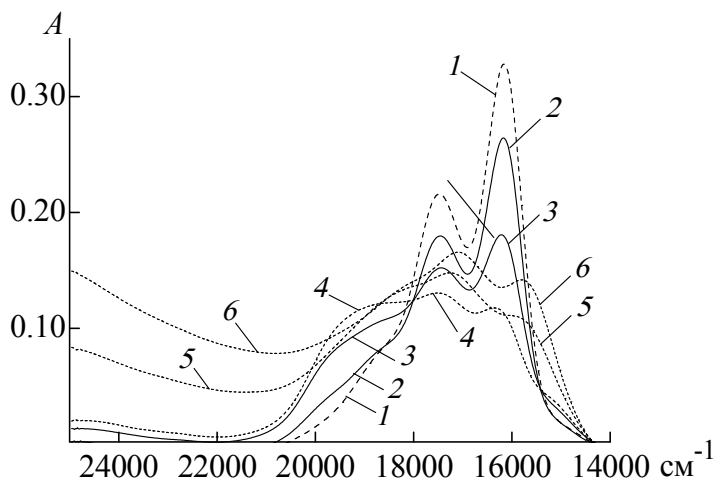


Рисунок 2. Зміна поглинання ПНЦ (1) при додаванні ГК (2–6) до водного розчину ПНЦ. Вміст ПНЦ $4.1 \cdot 10^{-6}$ моль/л (1–6). рН 6.9. Співвідношення кількостей ГК, що додаються, 6:5:4:3:2 = 100:50:10:5:2.

Як можна бачити, при додаванні вже 2 мл розведеної в 10 разів витяжки ГК відбувається відчутне зниження оптичної густини поглинання барвника (спектр 2). При доволі великих кількостях ГК (спектри 5, 6) помітний прояв власного поглинання ГК при 21000 cm^{-1} і більше. Така сама картина спостерігається при рН 9.2. Це пов'язано з інтенсивною взаємодією органічних протионів: вміст кислотних функціональних груп ГК з значенням $pK_a \leq 10$ дорівнює 5270 ммоль/кг [10]. На рис. 3 наведено залежність поглинання розчину ПНЦ від об'єму доданої ґрунтової витяжки.

Як можна бачити, додавання однакових кількостей ґрунтових витяжок в діапазоні рН 6.9–9.2 викликає схожі спектральні зміни. Це свідчить про однаковий характер взаємодій «барвник+ГК».

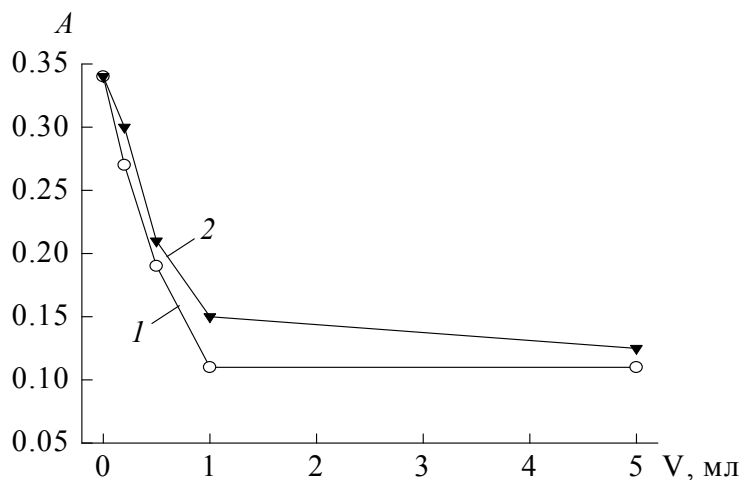


Рисунок 3. Залежність зміни поглинання ПНЦ (605 нм) від об'єму доданої ґрунтової витяжки. 1 – рН 6.9; 2 – рН 9.2.

Для дослідження залежності впливу будови ГК на форму та інтенсивність смуг поглинання були проаналізовані власні спектри поглинання гумусових речовин з ґрунтів, що досліджуються (рисунок 4).

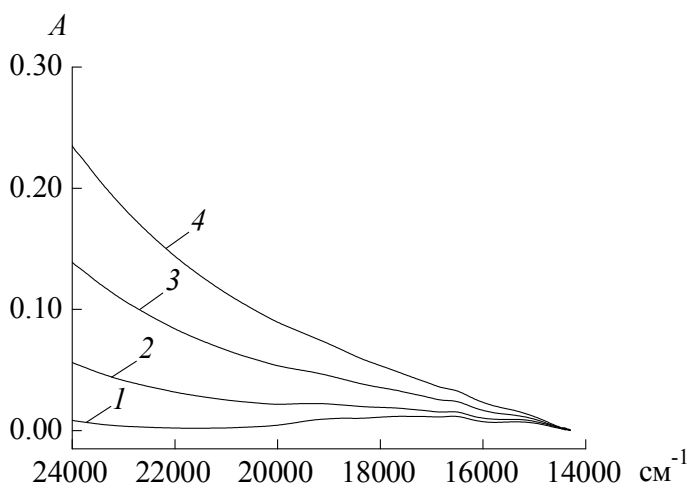


Рисунок 4. Поглинання витяжок ГК (переліг). Співвідношення кількостей ГК 4:3:2:1 = 10:6:3:1.

Що стосується властивостей витяжок ГК, то нами встановлено, що спектри витяжок ГК з перелігу та світло-сірого опідзоленого мають більше поглинання, ніж витяжки з ріллі. Автор роботи [11] спостерігала подібне для зразків сірого лісного ґрунту та пов'язують такі зміни з різницею в поляризованості молекул ГК. Зниження поглинання витяжок з ріллі може бути пов'язано з наявністю в них переважаючої кількості ГК з розгалуженими периферичними ланцюгами, і як наслідок, підвищенням вмістом кислотних функціональних груп [12]. Для детального аналізу впливу будови ГК на їх реакційну здатність щодо утворення різномірних асоціатів з органічними протиіонами, та характер спектральних змін, що їх супроводжують, досліджено взаємодію ГК з ПНЦ⁺. Концентрацію ГК розраховували за формулою [5]:

$$C = \frac{A}{\varepsilon_{1\text{см},465}^{0.001\%,\text{ГК}} \cdot l}$$

A – поглинання розчину, ε – коефіцієнт екстинкції, l – довжина шару, що поглинає.

ПНЦ, завдяки планарній будові та делокалізації заряду катіона, легко утворює однорідні асоціати. Так на рівні концентрацій $7 \cdot 10^{-6}$ моль/л експериментально спостерігається поява ди-

мерів, а при концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л встановлено існування Н-агрегатів. Кожна з асоційованих форм характеризується власною смугою поглинання: для мономерної форми смуга з $\lambda_{\max} = 600$ нм, так звана α -смуга, для димерної – $\lambda_{\max} = 550$ нм (β -смуга), для Н-агрегатів – $\lambda_{\max} = 510$ нм (γ -смуга) [13]. Введення до розчину ПНЦ протилежно заряджених ПЕЛ сприяє утворенню селф-асоціатів барвника, що пов'язано зі зближенням частинок барвника внаслідок їх адсорбції на поверхні ПЕЛ, елімінуванню відштовхування однакових зарядів катіонів [14]. Така особливість поведінки ПНЦ пов'язана з відносно планарною будовою молекули та наявністю спряженої системи подвійних зв'язків, що підвищує ефективність дисперсійних взаємодій [1,13,15].

На рисунку 5 наведено спектральні зміни, що спостерігаються при додаванні зростаючих об'ємів ГК чорнозему типового (переліг та рілля) до фіксованої кількості ПНЦ.

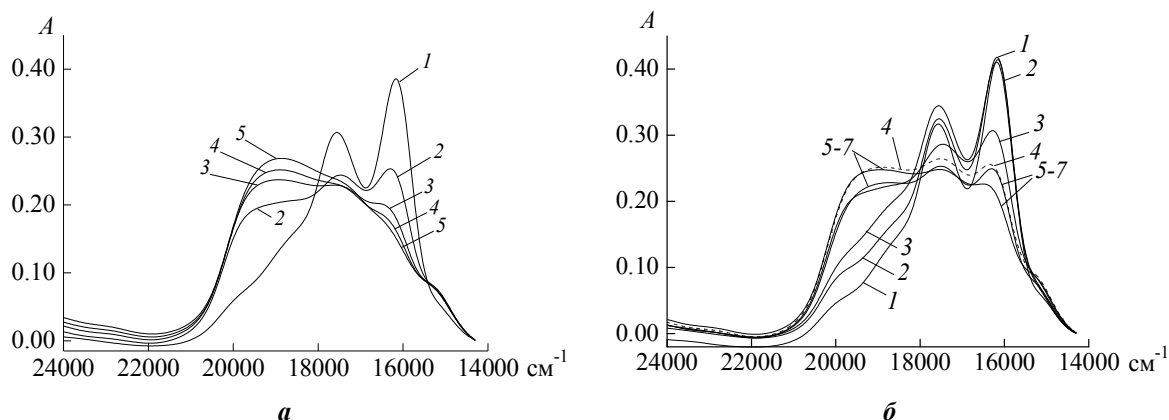


Рисунок 5. Взаємодія ПНЦ з ГК чорнозему типового: а) рілля б) переліг. рН 6.9. Вміст ПНЦ $7 \cdot 10^{-7}$ моль/л (1), вміст ГК подано за текстом.

При додаванні $1.5 \cdot 10^{-4}$ мг/мл ГК ріллі (рисунок 5а) відбувається зниження на $\approx 5\%$ інтенсивності поглинання барвника (крива 2). При збільшенні вмісту ГК від $1.9 \cdot 10^{-4}$ – $4.9 \cdot 10^{-4}$ мг/мл спостерігається подальше зниження оптичної густини та зміна форми смуги поглинання (3,4). При вмісті ГК $1.5 \cdot 10^{-3}$ – $2.4 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (5–7) спектральні зміни уповільнюються, що дає підстави говорити про існування стану «насичення». При додаванні ГК перелігу (рисунок 5б) на рівні $4.9 \cdot 10^{-4}$ мг/мл зниження інтенсивності поглинання складає $\approx 23\%$ (крива 2), діапазон насичення спостерігається, починаючи з вмісту ГК $1.0 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (5). Схожі зміни спостерігали й при додаванні ГК цілини та світло-сірого опідзоленого; стан «насичення» фіксувався при концентраціях ГК на рівні $8.5 \cdot 10^{-4}$ – $9.9 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. В усіх дослідках спостерігається зниження інтенсивності α - та β - смуг поглинання, що свідчить про взаємодію ПНЦ з молекулами ГК і утворення різномірних асоціатів ГК-ПНЦ в інтервалі концентрацій ГК $1.5 \cdot 10^{-4}$ – $8.3 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Також, відсутність характерного зростання β -смуги або появи γ -смуги поглинання свідчить про відсутність процесів селф-асоціації барвника.

Схожі спектральні зміни спостерігали автори в роботі [16] при вивченні взаємодії катіону барвника метиленового блакитного з природним ПЕЛ лігніном, який містить у складі досить велику кількість кислотних груп. Таку різницю в поведінці штучних та природних ПЕЛ можна пояснити розгалуженою будовою лігніну та ГК порівняно зі штучними ПЕЛ, та наявністю більшої кількості різноманітних функціональних груп. Відмінністю в спектральних серіях є й те, що при додаванні $3.5 \cdot 10^{-3}$ – $1.6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл ГК чорнозему типового (переліг, цілина) та світло-сірого опідзоленого спостерігається подальша зміна форми смуги поглинання з появою невеликого максимуму, батохромно зсуненого відносно початкової смуги поглинання. При додаванні такої самої кількості ГК ріллі спектральні зміни не фіксувалися.

На рисунку 6 наведено залежності поглинання розчинів від концентрації доданих ГК.

При додаванні ГК з перелігу, цілини та світло-сірого опідзоленого в діапазоні концентрацій $6.4 \cdot 10^{-4}$ – $8.3 \cdot 10^{-4}$ мг/мл спостерігається різке зниження поглинання, а при концентраціях ГК $8.5 \cdot 10^{-4}$ – $1.0 \cdot 10^{-3}$ мг/мл згадуваний вище стан «насичення». У випадку додавання ГК ріллі, різка зміна оптичної густини розчинів – при менших концентраціях: $1.5 \cdot 10^{-4}$ – $4.9 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Асоціації ПНЦ з аніонами, що входять до складу ГК, сприяють електростатичні взаємодії, що є сутте-

вим фактором в стабілізації різнорідних асоціатів. Тому, на взаємодію з ПНЦ⁺ витрачається менше ГК ріллі, ніж у випадку додавання ГК перелігу, цілини та світло-сірого опідзоленого. Після нейтралізації протилежних зарядів (стан «насичення») поява батохромно розташованої смуги поглинання свідчить про додаткове приєднання ПНЦ до асоціатів ПНЦ-ГК, що може відбуватися за рахунок неспецифічних ван-дер-ваальсових взаємодій, які властиві достатньо розгалуженим π -електронним системам відповідних ГК. Попутно відзначимо, що здатність ПНЦ до утворення асоціатів різної стехіометрії за рахунок дисперсійної взаємодії вже обговорювалася в роботі [15] на прикладі асоціатів ПНЦ з тетрафенілборат-аніоном (ТФБ⁻) складу ПНЦ⁺·ТФБ⁻ та (ПНЦ⁺)₂·ТФБ⁻. Можна припустити, що відмінності в спектральних змінах за участю ГК пов'язані з різним хімічним складом витяжок: ГК ріллі містять сполуки з розгалуженими периферичними ланцюгами та великою кількістю функціональних груп, а ГК перелігу, цілини та світло-сірого опідзоленого складаються переважно зі сполук з негідролізованими ароматичними системами.

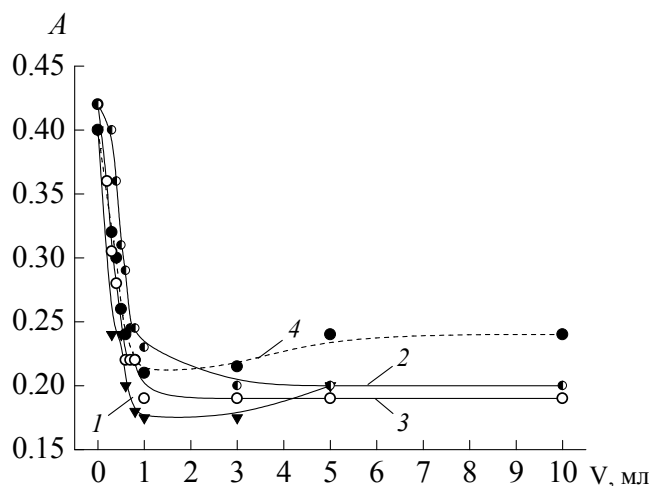


Рисунок 6. Залежність поглинання (605 нм) від об'єму доданої витяжки ґрунту. Чорнозем типовий: 1 – переліг; 2 – рілля; 3 – цілина. Світло-сірий опідзолений – 4.

На відміну від ПНЦ, нейтральний червоний не здатний до селф-асоціації в широкому діапазоні концентрацій. При дослідженні систем «барвник+ГК» цей факт дозволяє варіювати суттєво більшими концентраціями барвника, ніж у випадку ПНЦ. Як можна бачити з рис. 7, зміни в спектрі поглинання НЧ відбуваються при більш високих концентраціях ГК.

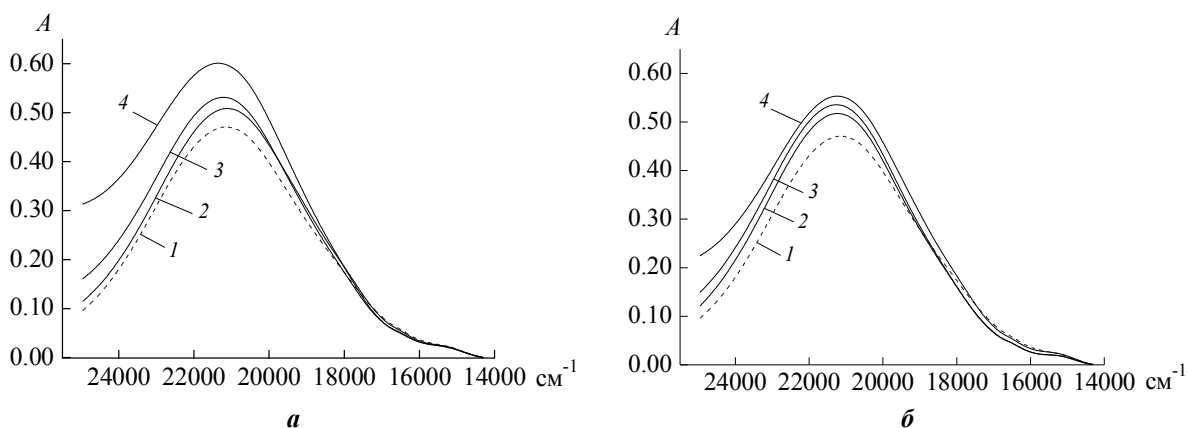


Рисунок 7. Взаємодія НЧ з ГК ґрунтів: а-світло-сірий опідзолений; б- чорнозем типовий (рілля). рН 9.2. Вміст НЧ $4.6 \cdot 10^{-5}$ моль/л (1). Вміст ГК подано у тексті.

При додаванні ГК цілини та перелігу в концентраціях $1.3 \cdot 10^{-3}$ – $3.8 \cdot 10^{-3}$ мг/мл спостерігається зростання інтенсивності поглинання (рисунок 7а, криві 2,3), а вміст ГК на рівні $6.3 \cdot 10^{-3}$ - $1.6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл спричинює гіпсохромний зсув максимуму поглинання (4). Спектральні зміни при додаванні ГК ріллі (рисунок 7б) відрізняються від попередніх. Так при кількості ГК в

межах $4.9 \cdot 10^{-4}$ – $1.5 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (2,3) відбувається зростання інтенсивності поглинання, а при кількості ГК вище ніж $2.5 \cdot 10^{-3}$ мг/мл спостерігається стан «насичення» (4).

Склад та будову систем «барвник+ГК» ще належить більш детально вивчити. Проте стає зрозумілим, що, незважаючи на наявність або відсутність заряду у молекули барвника, відбувається утворення асоціатів з участю ГК внаслідок прояву не тільки електростатичних, а й дисперсійних взаємодій як рушійних сил різномірдної асоціації.

Література

1. С.А. Шаповалов, Я.А. Свищева, Ж. прикл. химии, 2002, **75**, 463.
2. S.A. Shapovalov, The association processes of protolytic forms of dyes in solutions. Dissimilar association, Kharkiv, 2014, 250 p.
3. С.О. Карабаев, И.М. Локшина, И.П. Гайнуллина, З.Р. Мусабекова, Б.А. Масырова, А.В. Харченко, Вестник КРСУ 2010, **10**, 161.
4. О.В. Нестерова, В.А. Семаль, Вестник КРГСУ. Серия почвоведение, 2009, **10**, 29.
5. Д.С. Орлов, Л.А. Гришина, Практикум по химии гумуса, Москва: Из-во МГУ, 1981, 272 с.
6. С.А. Шаповалов, Я.А. Свищева, Вісник Харків. нац. ун-ту. Сер. Хімія, 2012, **21(44)**, 9.
7. K. Dutta Robin, N. Bhat Sabray, Can. J. Chem., 1993, **71**, 1785.
8. Д.С. Орлов, Химия почв, Москва: Из-во МГУ, 1992, 400 с.
9. А.Ю. Кудеярова, Почвоведение, 2008, **9**, 1079.
10. Д.С. Орлов, Сорос. образоват. журнал, 1997, **2**, 56.
11. А.Ю. Кудеярова, Экологическая химия, 2012, **21**, 86.
12. Н.Ю. Жаринова, А.А. Ямских, Вестник ТГУ, **1(13)**, 2011, 5.
13. С.А. Шаповалов, Я.А. Свищева, Вісник Харків. нац. ун-ту. Сер. Хімія, 2000, **5(28)**, 112.
14. А.А. Ищенко, Строение и спектрально-люминесцентные свойства полиметиновых красителей, Киев: Наукова думка, 1994, 232 с.
15. С.А. Шаповалов, Я.А. Свищева, В.И. Ларин, Химия и химич. технология, 2002, **45**, 37.
16. Н.А. Мамлеева, Т.Р. Писарева, В.В. Лунин, Ж. физ. химии, 1994, **69**, 504.

References

1. S.A. Shapovalov, Ya.A. Svishchova, J. Prikl. Himii., 2002, **75**, 463 [in Russ.].
2. S.A. Shapovalov, The association processes of protolytic forms of dyes in solutions. Dissimilar association, Kharkiv, 2014, 250 p.
3. S.O. Karabaev, I.M.Lokshina, I.P. Gaynullina, Z.R. Musabekova, B.A. Masy'rova, A.V. Harchenko, Vestnik KRSU, 2010, **10**, 161 [in Russ.].
4. O.V. Nesterova, V.A. Semal', Vestnik KRGSU. Seriya. Pochvovedenie, 2009, **10**, 29 [in Russ.].
5. D.S. Orlov, L.A. Grishina, Praktikum po himii gumusa, Moskva: Iz-vo MGU, 1981, 272 s. [in Russ.].
6. S.A. Shapovalov, Ya.A. Svishchova, Visn. Hark. nac. univ. Ser. Him., 2012, **21(44)**, 9. [ISSN 2220-637X (print), ISSN 2220-6396 (online), <http://chembull.univer.kharkov.ua/archiv/2012/18.pdf>]. [in Ukr.]
7. K. Dutta Robin, N. Bhat Sabray, Can. J. Chem., 1993, **71**, 1785.
8. D.S. Orlov, Himiya pochv, Moskva: Iz-vo MGU, 1992, 400 s. [in Russ.].
9. A.U. Kudayarova, Pochvovedenie, 2008, **9**, 1079 [in Russ.].
10. D.S. Orlov, Sorosovskiy obrazovatel'ny'y jurnal, 1997, **2**, 56 [in Russ.].
11. A.U. Kudayarova, E'kologicheskaya himiya, 2012, **21**, 86. [in Russian]
12. N.U. Jarinova, A.A. Yamskih, Vestnik TGU, 2011, **1(13)**, 5 [in Russ.].
13. S.A. Shapovalov, Ya.A. Svishchova, Visn. Hark. nac. univ. Ser. Him., 2000, **5(28)**, 112 [in Russ.].
14. A.A. Isch'enko, Stroenie i spektral'no-lyuminescentny'e svoystva polimetinovy'h krasiteley, Kiev, 1994, 232 s. [in Russ.].
15. S.A. Shapovalov, Ya.A. Svishchova, V.I. Larin, Izvestiya vuzov. Himiya i himich. tehnologiya, 2002, **45**, 37 [in Russ.].
16. N.A. Mamleeva, T.R. Pisareva, V.V. Lunin, Jurnal Fizich. himii, 1994, **69**, 504 [in Russ.].

Поступила в редакцию 3 июня 2014 г.

Я. А. Свищева, С. А. Шаповалов. Разнородная ассоциация катионных красителей с гуминовыми кислотами в водных растворах.

Рассмотрена разнородная ассоциация пинацианол хлорида и нейтрального красного с гумусовыми кислотами чернозема типичного, глубокого на лесовидном суглинке с различными антропогенными нагрузками (целина, залеж, пашня) и светло-серого оподзоленного. Выявлена зависимость спектральных изменений от строения гумусовых кислот.

Ключевые слова: краситель, пинацианол, нейтральный красный, гумусовые кислоты, ассоциация, раствор, светопоглощение.

Ya. A. Svisheva, S. A. Shapovalov. Dissimilar association of cationic dyes with humic acids in aqueous solutions.

Association has been considered between pinacyanol chloride, neutral red and humic acids typical chernozem, deep on forest loam with varying anthropogenic load (virgin, fallow, tillage) and podzolic light gray. The dependence of the spectral changes in the structure of humic acids has been detected.

Key words: dye, pinacyanol, neutral red, humic acids, association, solution, absorbance.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 544.354.081.7

ВЛИЯНИЕ МИЦЕЛЛЯРНОЙ СРЕДЫ *n*-ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ НА ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *D,L*-МЕТИОНИНА, *D,L*-СЕРИНА И ИХ 2,4-ДИНИТРОФЕНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

О. С. Чернышева, Я. А. Маслова

Определены константы диссоциации *D,L*-метионина, *D,L*-серина и их 2,4-динитрофенильных производных (2,4-ДНФ) в мицеллярных растворах *n*-додецилсульфата натрия (ДСН), используемых в качестве мицеллярной подвижной фазы в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: мицеллярные растворы *n*-додецилсульфата натрия, *D,L*-метионин, *D,L*-серин, 2,4-динитрофенильные производные α -аминокислот, константа диссоциации.

Введение

Трудно переоценить важность количественного определения содержания аминокислот в химическом, биохимическом и фармацевтическом анализе. Контроль пептидного синтеза [1,2], регистрация атипичных аминокислот [3,4], подтверждение идентичности [5,6] и структурный анализ протеинов или пептидов [1,7], выявление биомаркеров различных заболеваний [8], проверка качества фармацевтической продукции на основе аминокислот [9,10] – вот список задач, где требуется количественно определять содержание аминокислот. Поэтому поиск экспрессных и воспроизводимых методов количественного определения аминокислот является актуальной задачей современного анализа.

В последнее время для анализа аминокислот в различных объектах широко используют высокоэффективную жидкостную хроматографию [11,12], характеризующуюся высокой точностью определения и большой производительностью. Для успешного разделения и детектирования аминокислот необходимо свести к минимуму большую разницу в полярности отдельных аминокислот и повысить их низкие коэффициенты светопоглощения в УФ и видимой области. Поэтому аминокислоты превращают в гидрофобные и поглощающие свет производные, т.е. проводят предколоночную дериватизацию [13].

Одним из первых реагентов для определения аминокислот был динитрофторбензол (ДНФБ) – реагент Сангера, который использовался для определения *N*-концевой аминокислоты в протеинах, начиная с 1945 года [14,15]. Метод дериватизации аминокислот с помощью ДНФБ не потерял своего значения и продолжает использоваться сейчас [16,17]. Однако информация о свойствах образующихся 2,4-динитрофенильных производных (2,4-ДНФ) аминокислот ограничена лишь данными об их разложении под действием солнечного света и ориентировочными значениями констант диссоциации некоторых производных [18,19].

Поскольку в последнее десятилетие широкое распространение получили методы разделения и концентрирования, основанные на использовании лиофильных наноразмерных дисперсий поверхностно-активных веществ (ПАВ), такие как мицеллярная хроматография, мицеллярная экстракция, мицеллярная электрокинетическая хроматография [20-23], возникает необходимость изучения физико-химических свойств аналитов в мицеллярных растворах ПАВ.

Константы диссоциации являются важной характеристикой органических веществ, которая необходима для выбора подходящего метода разделения, поиска оптимальных условий разделения, оценки возможности регулировать селективность разделения за счет изменения кислотности среды. В работе [24] описана попытка определить константы диссоциации 2,4-ДНФ-аминокислот в водных растворах. Авторы отмечают, что метод потенциометрического титрования в водных растворах неприменим для определения констант диссоциации 2,4-ДНФ-аминокислот, поскольку растворимость последних в воде очень низкая [24]. Для исследования протолитических равновесий 2,4-ДНФ-производных α -аминокислот использовали метод спектрофотометрии [24], основанный на различии спектров поглощения протонированной и депротонированной форм исследуемого вещества. С ростом числа атомов углерода, разделяющих amino- и карбоксильную группу, диссоциация последней все меньше влияет на состояние хро-

мофорной 2,4-ДНФ-группировки, поглощение перестает зависеть от рН, и спектрофотометрический метод определения константы диссоциации теряет информативность.

Именно поэтому предпринятые попытки спектрофотометрического определения констант диссоциации 2,4-ДНФ-аргинина [24] и 2,4-ДНФ-глицина [25] не дали положительных результатов.

В наших предыдущих работах [25,26] исследовались протолитические свойства 2,4-динитрофенильных производных глицина, лейцина, треонина, валина, цистеина, аланина, пролина и аспарагина. Цель настоящей работы — изучить протолитические свойства 2,4-динитрофенильных производных метионина и серина, и сравнить их с протолитическими свойствами соответствующих аминокислот в мицеллярных растворах *n*-додецилсульфата натрия (ДСН), а также выявить влияние мицеллярной среды на значения показателей констант диссоциации 2,4-динитрофенильных производных аминокислот.

Экспериментальная часть

В работе использовали D,L-метионин и D,L-серин квалификации «ч», 2,4-ДНФ-производные протеиногенных аминокислот квалификации «ч» из «Набора 2,4-динитрофенильных производных» (Химреактивкомплект), *n*-додецилсульфат натрия с массовой долей основного вещества 97 % (Appli Chem), дополнительно очищенный перекристаллизацией из изопропилового спирта [27]. Растворы NaOH, свободные от карбонатов, готовили по известной методике из насыщенного раствора NaOH [28] и стандартизовали по навескам адипиновой кислоты с индикатором фенолфталеином. Растворы HCl готовили разбавлением концентрированного раствора HCl ($\rho = 1.17 \text{ г/см}^3$) квалификации «х.ч.» и стандартизовали по навескам карбоната натрия [28]. Для приготовления растворов использовалась свободная от карбонатов бидистиллированная вода (удельная электропроводность $1.5 \cdot 10^{-6} \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-1}$).

Потенциометрические измерения выполняли по компенсационной схеме (потенциометр Р 307, рН-метр рН-121 как нуль-инструмент). Потенциометрическая ячейка состояла из стеклянного электрода ЭСЛ-63-07 и полуэлемента сравнения ЭВЛ-1М3. При потенциометрических исследованиях в мицеллярных растворах во избежание образования малорастворимого *n*-додецилсульфата калия между исследуемым раствором и раствором сравнения помещали дополнительный солевой мостик, заполненный раствором 1 М NH_4NO_3 в агар-агаровом геле. Все потенциометрические исследования выполнены при температуре $25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$. Стандартное отклонение измерений э.д.с. составляло 0.2 мВ.

Методом потенциометрического титрования в мицеллярных растворах 0.10 М ДСН определяли константы диссоциации по карбоксильной группе D,L-метионина, D,L-серина и их 2,4-ДНФ-производных. Диссоциацию D,L-метионина и D,L-серина исследовали также в водных растворах с ионной силой 0.10 М (NaCl). В мицеллярных растворах ионная сила создавалась только 0.10 М раствором ДСН без дополнительного введения NaCl.

Концентрация свободных аминокислот в титруемом растворе составляла $1.0 \cdot 10^{-2} \text{ М}$, а их 2,4-ДНФ-производных $2.0 \cdot 10^{-3} \text{ М}$. В качестве титранта использовали растворы гидроксида натрия или хлороводородной кислоты с точно известной концентрацией, содержащие добавки поддерживающего ионную силу NaCl или ДСН. Объем титруемого раствора равнялся 20 мл. Кривая титрования состояла из 25 точек; для расчетов использовали данные, соответствующие степени оттитрованности исследуемого вещества от 20 до 80 %. Диапазон изменения рН в процессе титрования составлял от 3.9 до 9.1. Градуировку рН-метрической ячейки выполняли по стандартным буферным растворам с рН 1.68, 4.01, 6.86 и 9.18 до и после титрования; при этом градуировочные параметры оказывались практически неизменными.

Программное обеспечение и базы данных

Данные потенциометрических титрований обрабатывали по программе CLINP 2.1 (<http://www-chemo.univer.kharkov.ua/kholin/clinp.html>). Значения логарифмов констант, полу-

ченных в параллельных титрованиях, усредняли с использованием ранее предложенного подхода [29]. Алгоритм был реализован ранее в программе MATLAB 7.0 (<http://www.mathworks.com>) [30]. Для расчета значений pK_a 2,4-ДНФ-аминокислот в воде использовали программу ACD/pK_a (Advanced Chemistry Development, <http://www.acdlabs.com>). Для вспомогательных расчетов использовали Microsoft Excel (2002, Microsoft Corporation, <http://office.microsoft.com>).

Результаты и обсуждение

В мицеллярных растворах ПАВ растворимость многих соединений значительно повышается за счет солюбилизации [31]. Оказалось, что, растворяя 2,4-ДНФ-аминокислоты в 0.10 М ДСН, можно достичь такой концентрации производной, которая будет достаточной для потенциометрического определения константы диссоциации [32]. Типичная кривая титрования растворов 2,4-ДНФ-производных α -аминокислот в присутствии мицелл ДСН представлена на рисунке 1. Результаты определения констант диссоциации по карбоксильной группе 2,4-ДНФ-аминокислот и соответствующих α -аминокислот по данным потенциометрического титрования приведены в таблице 1.

Константы диссоциации протолитов, определяемые в водных растворах, являются смешанными константами, так как по условиям градуировки рН-метрической ячейки включают активность ионов H^+ . Диссоциацию протолитов в мицеллярных растворах принято описывать «кажущимися» константами диссоциации, K_a^{app} , которые отображают частичное связывание сопряженных протолитических форм мицеллярной псевдофазой [33] и соответствуют следующему выражению закона действия масс:

$$K_a^{app} = \frac{10^{-pH} [A]_{tot}}{[HA]_{tot}},$$

где 10^{-pH} — активность ионов H^+ , определяемая потенциометрически в водной фазе; $[A]_{tot} = [A]_w + [A]_m$ — суммарная концентрация депротонированной формы в водной фазе и мицеллярной псевдофазе, отнесенная к объему раствора в целом; $[HA]_{tot} = [HA]_w + [HA]_m$ — суммарная концентрация протонированной формы в водной фазе (индекс w) и мицеллярной псевдофазе (индекс m), отнесенная к объему раствора в целом.

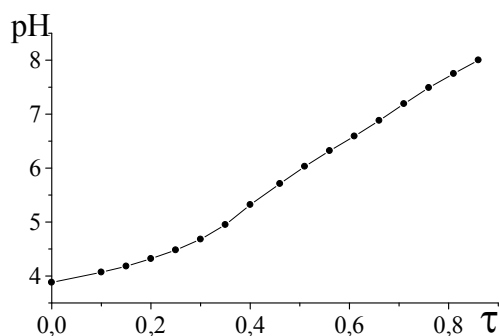


Рисунок 1. Зависимость pH титруемого раствора 2,4-ДНФ-производной α -аминокислоты от степени оттитрованности (τ) в мицеллярных растворах н-додецилсульфата натрия.

Данные, полученные в мицеллярных растворах ДСН, свидетельствуют о том, что введение 2,4-ДНФ-заместителя по аминогруппе ослабляет диссоциацию карбоксильной группы аминокислот, что также согласуется с литературными данными для водных растворов [25]. Различие в свойствах аминокислоты и ее 2,4-ДНФ-производной в мицеллярном растворе наиболее заметно в случае серина. Для свободной аминокислоты значение pK_a^{app} равно 3.17, тогда как для 2,4-ДНФ-серина – 5.14. Это объясняется большими отличиями в гидрофобности аминокислоты и ее 2,4-ДНФ-производной, нежели для метеонина. Разницу между значением показателя

константы диссоциации в мицеллярном и водном растворе $\Delta pK_a = pK_a^{app} - pK_a$ называют эффектом мицеллярной среды [33]. Он обусловлен изменением микроокружения вещества солубилизованного мицеллами ДСН.

Таблица 1. Показатели констант диссоциации D,L-метионина и D,L-серина и их 2,4-ДНФ производных в водных и мицеллярных растворах 0.10 М ДСН (P=0.95, n=3)

Соединение	pK_a , 0.10 М NaCl	pK_a^{app} , 0.10 М ДСН	$\Delta pK_a = pK_a^{app} - pK_a$
D,L-Метионин	2.32 ± 0.03	3.94 ± 0.04	1.62
D,L-Серин	2.26 ± 0.01	3.17 ± 0.04	0.91
2,4-ДНФ-Метионин	$3.59 \pm 0.20^*$	5.21 ± 0.51	1.62
2,4-ДНФ-Серин	$3.37 \pm 0.10^*$	5.14 ± 0.55	1.77

* pK_a , вычисленные по программе ACDLabs.

Константы протонирования по карбоксильной группе для 2,4-ДНФ-производных метионина и серина имеют более близкие значения, чем соответствующие константы самих аминокислот. Такое сближение объясняется более сильным влиянием ДНФ-заместителя при α -аминогруппе на диссоциацию COOH-группы, чем влияние боковой цепи аминокислот.

Для оценки влияния мицеллярной среды на величину pK_a^{app} использованы расчетные данные о константах диссоциации 2,4-ДНФ-аминокислот в водных растворах. Как видно из таблицы 1, в мицеллярных растворах ДСН уменьшается сила, как свободных аминокислот, так и 2,4-ДНФ-аминокислот, что согласуется с известным правилом Хартли [34] и объясняется в соответствии с электростатической моделью дифференцирования силы органических кислот в мицеллярных растворах ПАВ [35] более сильным связыванием недиссоциированных форм протолитов мицеллами анионного ПАВ.

Исходя из полученных данных о величинах pK_a^{app} в настоящей работе и в наших предыдущих исследованиях [25,26], можно утверждать, что разделение 2,4-ДНФ-производных разных α -аминокислот в условиях мицеллярной жидкостной хроматографии может проводиться при рН мицеллярной подвижной фазы около 3. При использовании значений констант диссоциации самих аминокислот, даже в мицеллярных растворах ДСН, требования к кислотности мицеллярной подвижной фазы становятся более «жесткими»: рН мицеллярной подвижной фазы не должно превышать 2. При этом разделение пришлось бы выполнять на границе рабочего диапазона рН для стационарных фаз на основе октадецилсиликагеля, что сопряжено с риском сокращения ресурса колонки [36].

Выводы

Исследование протолитических свойства 2,4-динитрофенильных производных метионина и серина показало, что в мицеллярных растворах *n*-додецилсульфата натрия наблюдается уменьшение силы 2,4-динитрофенильных производных аминокислот, также как и свободных аминокислот. Более сильное влияние ДНФ-заместителя при α -аминогруппе на диссоциацию COOH-группы по сравнению с влиянием боковой цепи аминокислот приводит к сближению констант протонирования по карбоксильной группе для 2,4-ДНФ-производных метионина и серина. Использование мицеллярных подвижных фаз с рН меньше 3 целесообразно как с точки зрения подавления диссоциации разделяемых 2,4-ДНФ-аминокислот, что способствует их удерживанию, так и с точки зрения стабильности аналитических форм, поскольку гидролиз ускоряется с повышением рН.

Литература

1. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. М.: Мир, 1985. 456 с.
2. Fountoulakis M., Lahm H. // *J.Chromatogr. A.* 1998. – Vol. 826. P. 109-134.
3. Woo K.-L., Hwang Q.-C., Kim H.-S. // *J.Chromatogr. A.* 1996. – Vol. 740. P. 31-40.
4. Albala-Hurtado S., Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M. et al. // *J.Chromatogr. A.* 1997. – Vol. 778. P. 235-241.
5. Molnar-Perl I. // *J.Chromatogr. A.* 2000. – Vol. 891. P. 1-32.
6. Khuhavar M.Y., Rajper A.D. // *Chromatographia.* 2003. – Vol. 58, № 7 8. P. 479-482.
7. Campanella L., Crescentini G., Avino P. // *J.Chromatogr. A.* 1999. – Vol. 833. P. 137-145.
8. Tezel G. // *Progress in Retinal and Eye Research.* – 2013. Vol. 35. P. 18-43.
9. Alaa Khedr // *J. Chromatogr. B.* 2010. Vol. 878, № 19. P. 1576-1582.
10. Pomilio A.B., Giraud M.A., Duchowicz P.R., Castro E.A. // *Food Chem.* 2010. Vol. 123, № 3. P. 917-927.
11. Azilawati M.I., Hashim D.M., Jamilah B., Amin I. // *J.Chromatogr. A.* – 2014. – Vol. 1353. – P. 49-56.
12. Cevasco G., Piątek A.M., Scapolla C., Thea S. // *J.Chromatogr. A.* – 2011. – Vol. 1218, № 6. P. 787-792.
13. Callejón R.M., Troncoso A.M., Morales M.L. // *Talanta.* – 2010. – Vol. 81, № 4-5. – P. 1143-1152.
14. Sanger F. // *Biochem. J.* – 1945. – Vol. 39. – P. 507-515.
15. Sanger F., Thompson E.O.P. // *Biochem. J.* – 1953. – Vol. 53. – P. 353-366.
16. Miyoshi Y., Oyama T., Koga R., Hamase K. // *Liquid Chromatography.* – 2013. – P. 131-147.
17. Boichenko A.P., Kulikov A.U., Loginova L.P., Iwashchenko A.L. // *J. Chromatogr. A.* – 2007. – Vol. 1157. – P. 252-259.
18. Mills G.L. // *Biochem J.* – 1950. – Vol. 50. – P. 707-712.
19. Blackburn S. // *Biochem. J.* – 1949. – Vol. 45. – P. 579-584.
20. Boichenko A.P., Berthod A. // *J. Chromatogr. A.* 2010. – Vol. 1217, № 36. P. 5665-5673.
21. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque M.C. *Micellar Liquid Chromatography.* New York: Marcel Dekker, 2000. – 632 p.
22. Kulikov A.U., Galat M.N., Boichenko A.P // *Chromatographia.* – 2009. – Vol. 70, № (3/4). – P. 371-379.
23. Loginova L.P., Kulikov A.U., Yakovleva E.Yu., Boichenko A.P. // *Chromatographia.* – 2008. – Vol. 67. – P. 615-620.
24. Ramachandran L.K., Sastry L.V.S. // *Biochemistry.* 1962. – Vol. 1, № 1. – P. 75-78.
25. Бойченко А.П., Чернышѐва О.С., Куликов А.Ю., Логинова Л.П. // *Журн. прикл. химии.* 2011. – Т. 84, вып. 6. С. 933-939.
26. Чернышева О.С. // *Укр. хим. журн.* – 2014. – Т. 80, № 2. – С. 21-24.
27. Armarego W.L.F., Perrin D.D. *Purification of laboratory chemicals.* Great Britain, Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000.
28. Kolthoff I.M., Sandell E.B. *Textbook of quantitative inorganic analysis* New York: The Macmillan comp., 1938.
29. Бугаевский А.А., Никишина Л.Е., Мутин А.В. и др. // *Укр. хим. журн.* 1990. – Vol. 56, № 7. С. 775-778.
30. Boichenko A.P., Markov V.V., Le Kong H. et al. // *Central European J. Chem.* 2009. – Vol. 7 (1). P. 8-13.
31. Christian S.D., Scamehorn J.F. *Solubilization in surfactant aggregates.* New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, 1995.
32. Альберт А., Сергент Е. Константы ионизации кислот и оснований. Л.: Химия, 1964. – 179 с.
33. Mchedlov-Petrossyan N.O. // *Pure Appl. Chem.* 2008. Vol. 80. P. 1459-1510.
34. Hartley G.S. // *Trans. Farad. Soc.* 1934. Vol. 30. P. 444-450.
35. Н.О. Мчедлов-Петросян. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. – Харьков: Изд-во ХНУ им. В.Н. Каразина, 2004. – 326 с.
36. *Encyclopedia of chromatography.* 3-rd ed. / [ed. By J. Cazes]. New York: Marcel Dekker Ink, 2009. 1028 p.

References

1. H.-D. Jakubke, H. Jeschkeit. Aminosäuren, Peptide, Proteine. Akademik-Verlag: Berlin, 1982.
2. Fountoulakis M., Lahm H. // *J.Chromatogr. A.* 1998. – Vol. 826. P. 109-134.
3. Woo K.-L., Hwang Q.-C., Kim H.-S. // *J.Chromatogr. A.* 1996. – Vol. 740. P. 31-40.
4. Albala-Hurtado S., Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M. et al. // *J.Chromatogr. A.* 1997. – Vol. 778. P. 235-241.
5. Molnar-Perl I. // *J.Chromatogr. A.* 2000. – Vol. 891. P. 1-32.
6. Khuhavar M.Y., Rajper A.D. // *Chromatographia.* 2003. – Vol. 58, № 7-8. P. 479-482.
7. Campanella L., Crescentini G., Avino P. // *J.Chromatogr. A.* 1999. – Vol. 833. P. 137-145.
8. Tezel G. // *Progress in Retinal and Eye Research.* – 2013. Vol. 35. P. 18-43.
9. Alaa Khedr // *J. Chromatogr. B.* 2010. Vol. 878, № 19. P. 1576-1582.
10. Pomilio A.B., Giraud M.A., Duchowicz P.R., Castro E.A. // *Food Chem.* 2010. Vol. 123, № 3. P. 917-927.
11. Azilawati M.I., Hashim D.M., Jamilah B., Amin I. // *J.Chromatogr. A.* – 2014. – Vol. 1353. – P. 49-56.
12. Cevasco G., Piątek A.M., Scapolla C., Thea S. // *J.Chromatogr. A.* – 2011. – Vol. 1218, № 6. P. 787-792.
13. Callejón R.M., Troncoso A.M., Morales M.L. // *Talanta.* – 2010. – Vol. 81, № 4-5. – P. 1143-1152.
14. Sanger F. // *Biochem. J.* – 1945. – Vol. 39. – P. 507-515.
15. Sanger F., Thompson E.O.P. // *Biochem. J.* – 1953. – Vol. 53. – P. 353-366.
16. Miyoshi Y., Oyama T., Koga R., Hamase K. // *Liquid Chromatography.* – 2013. – P. 131-147.
17. Boichenko A.P., Kulikov A.U., Loginova L.P., Iwashchenko A.L. // *J. Chromatogr. A.* – 2007. – Vol. 1157. – P. 252-259.
18. Mills G.L. // *Biochem J.* – 1950. – Vol. 50. – P. 707-712.
19. Blackburn S. // *Biochem. J.* – 1949. – Vol. 45. – P. 579-584.
20. Boichenko A.P., Berthod A. // *J. Chromatogr. A.* 2010. – Vol. 1217, № 36. P. 5665-5673.
21. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque M.C. *Micellar Liquid Chromatography.* New York: Marcel Dekker, 2000. – 632 p.
22. Kulikov A.U., Galat M.N., Boichenko A.P. // *Chromatographia.* – 2009. – Vol. 70, № (3/4). – P. 371-379.
23. Loginova L.P., Kulikov A.U., Yakovleva E.Yu., Boichenko A.P. // *Chromatographia.* – 2008. – Vol. 67. – P. 615-620.
24. Ramachandran L.K., Sastry L.V.S. // *Biochemistry.* 1962. – Vol. 1, № 1. – P. 75-78.
25. Boichenko A.P., Chernyshova O.S., Kulikov A.Yu., Loginova L.P. // *Russ. J. Appl. Chem.* – 2011. – Vol. 84, № 6. – P. 957-963.
26. Chernyshova O.S. // *Ukr. Him. Jurnal.* – 2014. T. 80, № 2. S.21-24. [in Russian]
27. Armarego W.L.F., Perrin D.D. *Purification of laboratory chemicals.* Great Britain, Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000.
28. Kolthoff I.M., Sandell E.B. *Textbook of quantitative inorganic analysis* New York: The Macmillan comp., 1938.
29. Bugaevskiy A.A., Nikishina L.E., Mutin A.V. [i dr.] // *Ukr. Him. Jurnal.* – 1990. T. 56, № 7. S.775-778. [in Russian]
30. Boichenko A.P., Markov V.V., Le Kong H. et al. // *Central European J. Chem.* 2009. – Vol. 7 (1). P. 8-13.
31. Christian S.D., Scamehorn J.F. *Solubilization in surfactant aggregates.* New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, 1995.
32. Albert A., Serjeant E. *Ionization Constants of Acids and Bases,* London: Methuen, New York: Wiley, 1962.
33. Mchedlov-Petrosyan N.O. // *Pure Appl. Chem.* 2008. Vol. 80. P. 1459-1510.
34. Hartley G.S. // *Trans. Farad. Soc.* 1934. Vol. 30. P. 444-450.
35. N.O. Mchedlov-Petrosyan. *Differencirovanie sily' organicheskikh kislot v istinny'h i organizovanny'h rastvorah (Differentiation of the strength of organic acids in true and organized solutions),* Kharkov, Kharkov Univ., 2004. 326 s. [in Russian]
36. *Encyclopedia of chromatography.* 3-rd ed. / [ed. By J. Cazes]. New York: Marcel Dekker Ink, 2009. 1028 p.

О. С. Чернишова, Я. О. Маслова. Вплив міцелярного середовища н-додецилсульфата натрію на протолітичні властивості D,L-метіоніну, D,L-серіну та їх 2,4-динітрофенільних похідних.

Визначено константи дисоціації D,L-метіоніну, D,L-серіну та їх 2,4-динітрофенільних похідних (2,4-ДНФ) у міцелярних розчинах н-додецилсульфата натрію (ДСН), які застосовуються в якості міцелярної рухомої фази в обернено-фазовій рідинній хроматографії.

Ключові слова: міцелярні розчини н-додецилсульфата натрію, D,L-метіонін, D,L-серін, 2,4-динітрофенільні похідні α -амінокислот, константа дисоціації.

O. S. Chernysheva, J. A. Maslova. Effect of sodium n-dodecyl sulfate micellar medium on protolytic properties of D,L-methionine, D,L-serine and their 2,4-dinitrophenyl derivatives.

Dissociation constants of D,L-methionine, D,L-serine and its 2,4-dinitrophenyl derivatives (2,4-DNF) in micellar solutions of sodium n-dodecyl sulfate (SDS) used as a micellar mobile phase in reversed-phase liquid chromatography were determined.

Key words: sodium n-dodecyl sulfate micellar solutions, D,L-methionine, D,L-serine, 2,4-dinitrophenyl derivatives of α -amino acids, dissociation constant.

Поступила в редакцію 4 июня 2014 г.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 543.545.4

РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ E 110 И E 122 МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

О. Ю. Коновалова, В. В. Тимченко, Н. А. Никитина

Показана возможность электрофоретического разделения пищевых красителей в агарозном и полиакриламидном гелях. Оптимизированы условия проведения гель-электрофореза и определения красителей E 110 и E 122. Показана возможность использования приемов полуколичественного анализа и аппарата оценивания метрологических характеристик методик, применяемых в визуально-тестовом анализе, для обработки результатов гель-электрофореза. Разработанные методики электрофоретического разделения и фотометрического/визуального определения красителей испытаны при анализе пищевых продуктов.

Ключевые слова: гель-электрофорез, агароза, полиакриламид, E 110, E 122, метрология.

Введение

Электрофоретический метод используется в настоящее время в основном для анализа и очистки белков, нуклеиновых кислот и их фрагментов [1-5]. Наибольшее распространение получил зональный электрофорез в инертных поддерживающих средах, таких как бумага [6,7], ацетатцеллюлозные пленки [8], гели [9-18] и др. [2, 19]. Как поддерживающие среды в методе гель-электрофореза часто используют агарозный и полиакриламидный гели. Они достаточно просты в приготовлении, обеспечивают удовлетворительное качество разделения и воспроизводимость, для анализа требуются малые количества пробы. В основном электрофорез в агарозном и полиакриламидном гелях используют при анализе крупных биологических молекул [11,12,14,16-18]. Однако, вследствие простоты и дешевизны гель-электрофорез позволяет приспособить некоторые его варианты для массовых анализов, в том числе и пищевых продуктов. Красители в продуктах питания определяют в основном хроматографическими методами [20-24], в которых в качестве подвижных фаз используют смеси токсичных и летучих органических растворителей, а в случае метода высокоэффективной жидкостной хроматографии требуется дорогостоящее оборудование [23, 24]. Для совместного определения красителей E 104 и E 110 предложен метод производной спектрофотометрии [25], а в работе [26] разделяли и определяли синтетические красители в напитках методом капиллярного электрофореза с применением специального оборудования. Планарный гель-электрофорез не связан с использованием токсичных растворителей или сложных и дорогостоящих приборов, прост в выполнении, поэтому разработка методик электрофоретического разделения и последующего определения пищевых красителей в продуктах питания является актуальной задачей. В работе [10] использовали электрофорез в агарозном геле для определения синтетических красителей, добавляемых для корректировки и фальсификации цвета вина и коньяка. Однако, в целом, возможности гель-электрофореза при анализе пищевых продуктов использованы недостаточно.

Количественный состав пробы оценивают, обрабатывая электрофореграммы. Оценивают интенсивность окраски зон разделенных компонентов смеси непосредственно на пластине геля либо на ее фотографии, на отпечатках гелиевых электрофореграмм на специальной бумаге; анализируют растворы, полученные элюированием компонентов из геля с его сохранением либо разрушением специальными химическими реагентами [2]. Пластины геля после электрофореза, ее фотографию или копию на специальной бумаге сканируют при помощи денситометра [2]. Для обработки фотографических изображений предлагаются также специальные программные обеспечения [6, 18]. Кроме того, для получения самих изображений используется специальная гель-документирующая система, оснащенная «темной комнатой» и блоком оптики [18]. Количественный анализ ведут по собственному поглощению УФ-света аналитами, по флуоресценции собственной или в соединении со специальными реагентами, по поглощению окрашенных производных или, измеряя радиоактивность меченных радиоактивными маркерами аналитов [2].

Для упрощения, ускорения и удешевления обработки результатов гель-электрофореза в работе изучали возможность применения приемов полуколичественного анализа и аппарата оценивания метрологических характеристик методик, широко используемых в методах визуально-тестового анализа [27-32].

Экспериментальная часть

Используемые реагенты. Азорубин (E 122), оранжевый желтый S (E 110), тартразин (E 102), бриллиантовый синий (E 133), индигокармин (E 132) (х.ч.); агароза (х.ч.); акриламид, N, N'-метилен-бис-акриламид, N,N,N'N'-тетраметилэтилендиамин (ТЕМЕД) (для электрофореза, 99%); персульфат калия (ч.д.а.). Для регулирования кислотности использованы: дигидрофосфат калия, гидрофосфат натрия, трис-(гидроксиметил)-аминометан (ч.д.а.), глицерин, хлороводородная кислота, уксусная кислота (х.ч.), метиловый спирт (х.ч., объемная доля 99 %).

Фосфатный буфер и трис-буфер готовили по методикам, описанным в [33, 34].

Исходные растворы красителей с концентрацией 0.01 моль/л готовили растворением точных навесок в дистиллированной воде. Рабочие растворы красителей получали, разбавляя исходные в дистиллированной воде. Для увеличения плотности растворов индикаторов полученные растворы смешивали с 50 % раствором глицерина в соотношении 1 : 1.

Приготовление гелиевых пластин.

Полиакриламидный гель. Для приготовления полиакриламидного геля готовили растворы А, В, С и D [34]. Для приготовления раствора А в мерную колбу вместимостью 25 мл вносили 4.5 г трис-(гидроксиметил)-аминометана, добавляли 2 мл дистиллированной воды, 6 мл раствора 1 моль/л HCl, 0.05 мл ТЕМЕД и доводили до метки дистиллированной водой. Для приготовления раствора В в мерную колбу вместимостью 25 мл вносили 0.2 г N, N'-метилен-бис-акриламида, добавляли небольшое количество воды и перемешивали до полного растворения. Затем в колбу вносили 7 г акриламида и доводили до метки дистиллированной водой. Раствор фильтровали. Для приготовления раствора С в мерную колбу вместимостью 50 мл вносили 0.15 г персульфата калия и доводили до метки дистиллированной водой. Раствор С готовили непосредственно перед исследованиями, чтобы предотвратить разложение основного компонента. Для приготовления рабочего раствора D смешивали растворы А, В и С в соотношении 1 : 1 : 2.

Агарозный гель. Для приготовления агарозного геля навеску агарозы растворяли в 150 мл фосфатного буфера и после перемешивания полученный раствор ставили на водяную баню. Раствор агарозы нагревали при перемешивании, не допуская кипения, до прозрачного состояния. Затем расплав охлаждали при комнатной температуре до 55-60 °С.

Заливка геля. Не допуская образования пузырьков воздуха, полученный гель заливали в гелиевую рамку, установленную в выровненный столик для заливки гелей. Устанавливали гребенки, не касаясь дна формы. После полного застывания геля плавным движением вверх гребенки осторожно извлекали, стараясь не повредить образовавшиеся лунки.

Оборудование. Спектры поглощения в видимой области регистрировали на фотометре КФК-3. Растворы фотометрировали против холостого раствора, содержащего все реагенты, кроме аналита.

Значения рН определяли потенциометрически по компенсационной схеме (потенциометр Р 307, рН-метр милливольтметр рН-121 как нуль инструмент, стеклянный электрод ЭСЛ-63-07 и электрод сравнения ЭВЛ-1М3.1). Для градуировки использовали стандартные буферные растворы.

Для проведения электрофореза использовали камеру для горизонтального электрофореза «SE-2» и источник питания «Эльф-4». Гели готовили, используя столик для заливки, гелиевую рамку и гребенки.

Результаты и обсуждение

Оценка возможности разделения красителей методом гель-электрофореза. Возможность разделения пищевых красителей методом горизонтального гель-электрофореза оценивали, используя агарозный и полиакриламидный гели. Электрофорез в агарозном геле проводили в фосфатном буферном растворе (рН 6.28), а в полиакриламидном геле — в растворе трис-

буфера (рН 8.61). При электрофорезе в гелиевых средах все исследуемые пищевые красители Е 102, Е 110, Е 122, Е 132 и Е 133 мигрировали к аноду. Следовательно, в условиях эксперимента молекулы красителей имели отрицательный заряд.

В работе анализировали продажные индивидуальные пищевые красители «Желтый» и «Синий» ТМ «Просто чудо» и их смеси «Зеленый» ТМ «Просто чудо», «Зеленый» ТМ «Украза», «Зеленый» ТМ «Евробленд». В результате электрофореза краситель «Зеленый» ТМ «Просто чудо» разделился на желтый Е 102 и синий Е 133; краситель «Зеленый» ТМ «Украза» разделился на желтый Е 102 и синий Е 132; краситель «Зеленый» ТМ «Евробленд» разделился на желтый Е 102 и синий Е 133, что не соответствовало составу, заявленному производителем.

Скорость электрофоретического разделения в полиакриламидном геле существенно увеличивалась при полном покрывании геля раствором буфера, а краситель, внесенный в лунки под буфер, в этом случае опускался на дно значительно быстрее.

Подвижность молекул красителей в полиакриламидном геле при прочих равных условиях оказалась выше, а пятна красителей размывались меньше, чем в агарозном геле. Однако, вследствие нестабильности свойств получаемого полиакриламидного геля, трудоемкости методики его приготовления и дороговизны исходных реагентов, в дальнейшем предпочтительнее использовать агарозу в качестве носителя для гель-электрофореза.

Оптимизация условий разделения красителей методом гель-электрофореза. Известно, что средний радиус пор готового агарозного геля зависит от его концентрации. Поры в агарозном геле достаточно велики и при концентрациях агарозы ниже 2 % эффект молекулярного сита обычно ничтожен [4]. Поскольку поры геля должны лишь тормозить миграцию молекул аналита в электрическом поле за счет трения, влияние плотности агарозного геля на электрофоретическое разделение красителей оценивали, изучая разделение в гелях, полученных из 1, 1.25 и 1.5 % растворов агарозы. Повышение концентрации агарозы приводило к уменьшению размера пор получаемого геля и понижению электрофоретической подвижности молекул красителей в геле (таблица 1). Гели с оптимальной для анализа плотностью получили из 1 % раствора агарозы.

Таблица 1. Зависимость расстояния, пройденного красителями при электрофорезе, от концентрации агарозы в растворе для приготовления геля

Время электрофореза, мин	Краситель	Расстояние, пройденное красителем, см		
		1 % агарозы	1.25 % агарозы	1.5 % агарозы
60	Е 102	0.9	0.8	0.75
	Е 133	0.35	0.3	0.3
120	Е 102	1.8	1.7	1.4
	Е 133	0.8	0.65	0.5
180	Е 102	2.55	2.45	2.3
	Е 133	1.0	0.9	0.8

Оранжевый желтый S (Е 110) желто-оранжевого цвета и азорубин (Е 122) розового цвета часто используют при подкрашивании продуктов питания. Поэтому дальнейшие исследования посвящены разработке методик электрофоретического выделения и последующего определения этих красителей в пищевых продуктах.

Спектры поглощения красителей Е 110 и Е 122 в растворе и агарозном геле после электрофоретического разделения представлены на рис. 1. Для спектрофотометрических оценок слой геля с пятном красителя после электрофореза вырезали по трафарету так, чтобы при помещении объекта в кювету на 0.5 см луч фотометра проходил через центр пятна аналита. Фотометрирование проводили против образца геля, обработанного в таких же условиях, что и гель с аналитом. Максимумы светопоглощения красителей в агарозном геле после разделения наблюдались при той же длине волны, что и в водном растворе – для красителя Е 110 λ_{\max} 485 нм, а

для красителя Е 122 λ_{\max} 516 нм (рис. 1). Это указывает на отсутствие химических взаимодействий между красителями и материалом разделяющей среды.

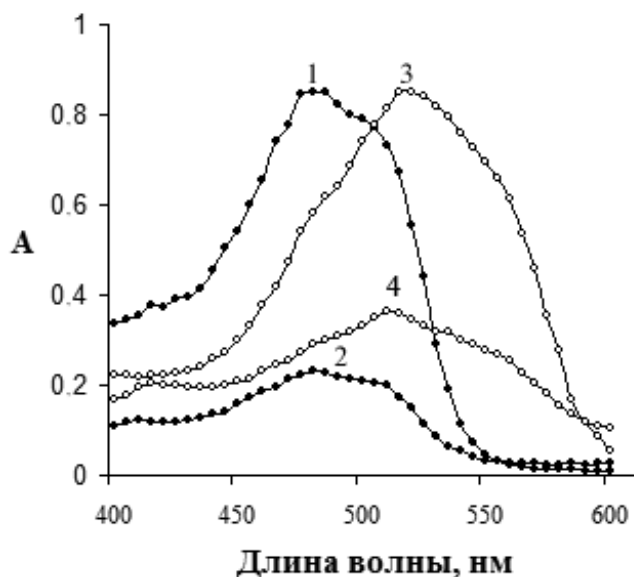


Рисунок 1. Спектры поглощения пищевых красителей в растворе и в агарозном геле после разделения:
 1, 3 □ раствор $3.4 \cdot 10^{-5}$ моль/л красителя Е 110 и Е 122 соответственно; кювета 1 см;
 2, 4 □ агарозный гель после контакта с раствором $1.2 \cdot 10^{-3}$ моль/л красителя Е 110 и Е 122 соответственно.

В работе оценивали зависимость формы, диаметра пятен и расстояния, пройденного красителями при электрофорезе, от времени (таблица 2). Гель-электрофорез проводили при силе тока 400 мА и напряжении 100 В, как было предложено в работе [4].

Таблица 2. Зависимость расстояния, пройденного красителями при электрофорезе, формы и диаметра пятен от времени

Время электрофореза, мин	Форма пятна	Диаметр пятна красителя, см		Расстояние, пройденное красителем, см	
		Е 110	Е 122	Е 110	Е 122
30		0.4	0.4	0.6	0.4
60		0.6	0.6	1.3	0.9
90		0.8	0.9	1.8	1.2

Через 60 мин гель-электрофореза красители Е 110 и Е 122 разделились полностью, а путь, пройденный пятнами красителей, увеличился в два раза по сравнению с результатом полученным для 30 мин разделения. В то время как при дальнейшем увеличении времени разделения до 90 минут наблюдалось существенное размывание пятен красителей при увеличении пройденного аналитами пути на 26 %. Поэтому электрофоретическое разделение красителей в дальнейшем проводили в течение 60 мин.

Время наблюдения аналитического эффекта оценивали спектрофотометрически. В течение одного часа после электрофоретического разделения светопоглощение красителей в геле менялось незначительно, хотя пятна красителей со временем размывались. Это связано с тем, что за время измерения размывающиеся пятна полностью «охватывались» неточечным лучом спектрофотометра. Аналитический сигнал в дальнейшем фиксировали в интервале 30 мин – 60 мин после разделения. Такой интервал наблюдения был удобен и для оценки метрологических характеристик методик электрофоретического разделения и полуколичественного определения красителей.

Количественный анализ после гель-электрофореза. Количественный анализ проводили непосредственно на гелиевой пластине после разделения. Метрологические характеристики методик оценивали спектрофотометрически, а также, применяя приемы полуколичественного анализа и аппарат оценивания, используемые в методах визуально-тестового анализа [27-32].

Важнейшими метрологическими характеристиками методики являются предел обнаружения (c_{\min}) и предел определения (c_{\lim}) [35]. Определение величины c_{\min} в тест-анализе базируется на исследованиях в интервале ненадежности, где вероятность обнаружения аналита изменяется от 0 до 1. Для сравнения систем с разным диапазоном концентраций удобно использовать величину относительной ширины интервала ненадежности. Она равна отношению разности концентраций на верхней и нижней границе интервала ненадежности к значению концентрации на нижней границе [36]. Для оценки предела обнаружения находили частоты обнаружения в интервале ненадежности и расчетным методом определяли вид функции распределения частот.

В нашей работе использован алгоритм определения c_{\min} , описанный в [29]. Группой из 15-20 независимых наблюдателей выявляли интервал ненадежности как область концентраций, в которой были положительные и отрицательные результаты обнаружения аналита. В этом интервале выбирали 7-12 равноудаленных значений концентрации, которые отличались друг от друга не менее чем на утроенное значение абсолютной погрешности приготовления растворов. Для каждой концентрации красителя повторяли испытание 3 раза, результаты каждого испытания визуальное оценивало 15 человек. Частоту обнаружения для отдельного испытания рассчитывали как отношение числа положительных ответов о наличии окраски к общему числу наблюдений. По значениям частот обнаружения, полученных в параллельных испытаниях, находили среднее значение и дисперсию частоты обнаружения аналита для каждой концентрации. Экспериментальную зависимость частоты обнаружения от концентрации аналита описывали известными функциями распределения вероятностей. Качество описания экспериментальных данных оценивали с помощью критериев χ^2 и Колмогорова-Смирнова (λ) [37]. Если расчетные значения параметров не превышали значений 5%-ных точек, то принимали гипотезу о соответствии экспериментального распределения соответствующей теоретической функции распределения (таблица 3). Если эти условия выполнялись для нескольких видов распределения, выбирали то, для которого значения вычисленных критериев χ^2 и λ были наименьшими. Для выбранного распределения вычисляли c_{\min} .

Распределение экспериментальных частот обнаружения красителей Е 110 и Е 122 в интервале ненадежности хорошо описывалось всеми рассмотренными теоретическими функциями. Наименьшие значения χ^2 и λ наблюдались для распределений Вейбулла и логнормального, однако в первом случае значения рассчитанных параметров были несколько ниже. Оценки c_{\min} , полученные при использовании этих функций, не отличались друг от друга.

Визуальные количественные определения базируются на сравнении окраски пятна красителя, полученной после электрофоретического разделения, со шкалой сравнения. Для построения цветовых шкал в лунки на гелиевой пластинке вносили растворы красителя с разной концентрацией. Концентрация раствора красителя изменялась от раствора к раствору в геометрической прогрессии с множителем 2 [38]. За предел определения принимали то минимальное содержание, которое можно определить данным методом с относительным стандартным отклонением 33 %, отсюда $c_{\lim} = 3 \cdot s_c$, где s_c – стандартное отклонение определения концентрации [39]. Величину стандартного отклонения s_c оценивали экспериментально по методике, описанной в [29].

В таблице 4 сведены метрологические характеристики методик разделения и полуколичественного определения пищевых красителей методом гель-электрофореза.

Таблица 3. Результаты описания экспериментальной зависимости частоты обнаружения от концентрации различными функциями распределения

Вид и параметры распределения		Краситель	
		Е 110 (f=4)	Е 122 (f=5)
Нормальное распределение	$\chi^2_{\text{экс.}}$	8.0	3.2
	$\lambda_{\text{экс.}}$	0.3	0.2
	c_{min} , ммоль/л	0.11	0.08
Распределение Вейбулла	$\chi^2_{\text{экс.}}$	0.9	0.9
	$\lambda_{\text{экс.}}$	0.1	0.1
	c_{min} , ммоль/л	0.12	0.08
Экспоненциальное распределение	$\chi^2_{\text{экс.}}$	7.5	6.1
	$\lambda_{\text{экс.}}$	0.3	0.3
	c_{min} , ммоль/л	0.15	0.09
Логнормальное распределение	$\chi^2_{\text{экс.}}$	1.2	1.2
	$\lambda_{\text{экс.}}$	0.2	0.1
	c_{min} , ммоль/л	0.12	0.08

f – число степеней свободы. При $\alpha=5\%$ и f=4: $\chi^2=9.49$; $\lambda=0.62$; при $\alpha=5\%$ и f=5: $\chi^2=11.07$; $\lambda=0.56$ [37].

Таблица 4. Метрологические характеристики методик электрофоретического разделения и полуколичественного определения красителей в агарозном геле

Метрологическая характеристика	Краситель	
	Е 110	Е 122
Интервал ненадежности, ммоль/л	0.03 – 0.14	0.03 – 0.08
Относительная ширина интервала ненадежности	3.7	1.7
Предел обнаружения c_{min} , ммоль/л	0.12	0.08
Стандартное отклонение s_c , ммоль/л	0.05	0.03
Предел определения c_{lim} , ммоль/л	0.15	0.09

Спектрофотометрически находили область линейной зависимости светопоглощения геля с красителем от концентрации красителя в растворе (таблица 5). В диапазонах линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации красителей получали параметры градуировочных графиков и их стандартные отклонения. Эти характеристики использовали для расчета пределов фотометрического определения Е 110 и Е 122 в соответствии с рекомендациями ИЮПАК [35] (таблица 5).

Таблица 5. Характеристики спектрофотометрического определения красителей в агарозном геле после электрофоретического разделения

Краситель	Параметры градуировочного графика $A = a + b \cdot c$		Коэффициент корреляции, R	Диапазон линейности, ммоль/л	Предел определения, c_{lim} , ммоль/л
	a	b			
Е 110	0.018±0.015	0.22±0.02	0.988	0.22 – 1.2	0.22
Е 122	0	0.30±0.03	0.985	0.13 – 0.7	0.13

Для красителя E 110 значения оцененных метрологических характеристик методик оказались почти в два раза выше, чем для красителя E 122 (таблицы 4 и 5). Это связано с большей контрастностью красного пятна красителя E 122 в слое геля, по сравнению с оранжево-желтым пятном красителя E 110.

Определение содержания красителей E 110 и E 122 в продуктах питания. Разработанные методики использовали для определения содержания красителей E 110 и E 122 в продуктах питания. Пробоподготовку объектов проводили следующим образом.

Для определения E 110 и E 122 в красителях для окрашивания яиц «Оранжевый» (ТМ «Квітень», Украина) и «Красный» (ТМ «Просто чудо», Украина) навеску порошка красителя (0.05 г) растворяли в 25 мл дистиллированной воды. Полученный раствор смешивали с раствором глицерина в соотношении 1 : 1.

Для определения E 122 в напитках «PitBull energy» и «Роджерс «Ром тропик» (ООО «Напої Плюс», Украина) аликвоту напитка 100 мл упаривали в 5 раз и полученный раствор смешивали с раствором глицерина в соотношении 1 : 1.

С помощью микрошприца 10 мкл полученных растворов вносили в лунки геля и подвергали электрофорезу в течение 60 мин при силе тока 200 мА и напряжении 100 В. Через 30 мин после разделения образец геля с красителем оценивали визуально или спектрофотометрически. Визуальное определение проводили по цветовой шкале, полученной одновременно с анализируемым образцом. Спектрофотометрическое определение проводили, измеряя поглощение образца геля с красителем при 485 нм (E 110) или 516 нм (E 122) против образца геля, обработанного в тех же условиях, что и анализируемый образец. Содержание E 110 или E 122 определяли по заранее построенному градуировочному графику.

Результаты анализа по предлагаемой методике сопоставляли с результатами, полученными по спектрофотометрической методике в растворе [40] (таблица 6). Правильность предложенной методики проверена также методом «введено – найдено», путем введения известного количества аналита в приготовленный раствор пищевого продукта (таблица 7). В соответствии с рекомендациями авторов работы [30] результаты визуального определения представляли в виде среднего значения и диапазона разброса результатов определения.

Из таблиц 6 и 7 видно, что фотометрирование красителей или их визуальное определение в агарозном геле после разделения обеспечивают удовлетворительную правильность и сходимость результатов определения E 110 и E 122 в продуктах питания.

Таблица 6. Результаты определения красителей E 110 и E 122 в продуктах питания (P=95 %, n=3)

Аналит	Объект	Определение в растворе	Определение в среде геля		
		СФ, с, ммоль/л	ВО, с, ммоль/л		СФ, с, ммоль/л
			Средний результат	Диапазон разброса результатов	
E 110	Краситель для яиц «Оранжевый»	0.515±0.006	0.55	0.45 – 0.60	0.52±0.08
E 122	Краситель для яиц «Красный»	0.300±0.005	0.3	0.25 – 0.33	0.26±0.04
	Напиток «Pit-Bull energy»	0.1507±0.0011	0.15	0.12 – 0.16	0.15±0.03
	Напиток «Роджерс «Ром тропик»	0.155±0.005	0.15	0.12 – 0.16	0.17±0.04

Таблица 7. Результаты определения красителей Е 110 и Е 122 в агарозном геле методом «введено – найдено» ($P=95\%$, $n=3$)

Аналит	Объект	Введено, с, ммоль/л	Найдено, с, ммоль/л		
			ВО		СФ
			Средний ре- зультат	Диапазон разброса ре- зультатов	
Е 110	Краситель для яиц «Оранжевый»	0.25	0.24	0.17 – 0.31	0.24±0.03
Е 122	Краситель для яиц «Красный»	0.12	0.13	0.09 – 0.17	0.12±0.02
	Напиток «PitBull energy»		0.11	0.09 – 0.13	0.13±0.02
	Напиток «Роджерс «Ром тропик»		0.12	0.09 – 0.15	0.13±0.03

Выводы

Среды агарозного и полиакриламидного гелей пригодны для электрофоретического разделения пищевых красителей Е 102, Е 110, Е 122, Е 132 и Е 133. Лучшими характеристиками обладает агарозный гель. Оптимальные результаты получили при электрофорезе в течение 60 мин при силе тока 400 мА и напряжении 100 В в геле, приготовленном из 1 % раствора агарозы. Аналитический сигнал наблюдали через 30 мин – 60 мин после разделения. Применяя для обработки результатов электрофореза аппарат оценивания метрологических характеристик методик, используемый в визуально-тестовых методах, оценили интервал ненадежности, c_{\min} , s_c , c_{\lim} . Для фотометрических измерений оценены диапазон линейности и c_{\lim} . Значения c_{\lim} составили для красителя Е 110 – 0.15 ммоль/л и 0.22 ммоль/л, а для красителя Е 122 – 0.09 ммоль/л и 0.13 ммоль/л при визуальном и фотометрическом детектировании соответственно. Разработанные электрофоретические методики разделения и визуального или фотометрического определения Е 110 и Е 122 в геле могут быть рекомендованы для контроля качества продуктов питания.

Литература

1. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Ю. Бёккер. – М.: Техносфера, 2009. – 473с.
2. Галь Э. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / Э. Гааль, Г. Медьеша, Л. Верецкеи. – М.: Мир, 1982. – 448 с.
3. Поляничко А.М. Электрофорез в агарозном геле / А.М. Поляничко. – СПб.: С. – Петербургский государственный университет, 2007. – 42 с.
4. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
5. Magdeldin S. Gel Electrophoresis – Principles and Basics / S. Magdeldin. – Croatia: InTech, 2012. – 346 p.
6. Селифонова Е.И., Косырева И.В., Чернова Р.К. Цветометрическое определение лизина после его электрофоретического отделения от смеси α -аминокислот // Известия Саратовского университета. – 2011. – Т. 11, вып. 1. – С. 33 – 38.
7. Фомин А.Н., Смирнова А.В., Семенов М.Б., Крючков В.Б., Мерзлякова Ю.А. Изучение условий скринингового обнаружения ряда азотсодержащих соединений основного характера методом электрофореза на бумаге // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2011. – № 11. – С. 32 – 39.

8. Deshmakh A.R., Donker J.D., Addis P.B., Jenness R. Cellulose acetate and polyacrylamide gel electrophoresis for quantification of milk protein fractions // *J. Dairy Science*. – 1989. – Vol. 72, № 1. – P. 12 – 17.
9. Zlotnick J.A., Smith F.P. Chromatographic and electrophoretic approaches in ink analysis // *J. Chromatogr. A*. – 1999. – № 733. – P. 265-272.
10. Пацовский А.П., Рудометова Н.В., Каменцев Я.С. Электрофоретическое определение синтетических красителей в алкогольных напитках // *Журн. аналит. хим.* – 2004. – Т. 59, № 2. – С. 170 - 175.
11. Giot J.-F. Agarose gel electrophoresis – applications in clinical chemistry // *JMB*. – 2010. – № 29. – P. 9-14.
12. Smith H.R., Anderson E.S. Application of agarose gel electrophoresis to the characterization of plasmid DNA in drug-resistant enterobacteria // *J. General Microbiol.* – 1979. – № 114. – P. 15-25.
13. Gianazza E., Arnaud Ph. Applications of gel electrophoresis in the determination of protein-low Mr substances and protein-protein interactions // *Anal. Chim. Acta*. – 1998. – № 372. – P. 67-89.
14. Tulp A., Verwoerd D., Neefjes J. Electromigration for separations of protein complexes // *J. Chromatogr. A*. – 1999. – № 722. – P. 141-151.
15. Syrový I., Hodný Z. Staining and quantification of proteins separated by polyacrylamide gel electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. – 1991. – № 569. – P. 175-196.
16. Jones A.J.S. Analysis of polypeptides and proteins // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 1993. – № 10. – P. 29-90.
17. Сергеева Н.А. Электрофорез в современном диагностическом процессе // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 1999. – № 2. – С. 25-32.
18. Стручкова И.В. Теоретические и практические основы проведения электрофореза белков в полиакриламидном геле / И.В. Стручкова, Е.А. Кальясова. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 60 с.
19. Крусь Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь, А.М. Шалыгина, З.В. Волокитина. – М.: Колос, 2000. – 368 с.
20. Смирнов Е.В. Пищевые красители. Справочник / Е.В. Смирнов. – СПб.: Профессия, 2009. – 352 с.
21. Хальзова С.А., Зяблов А.Н., Селеменев В.Ф. Определение синтетических красителей методом ТСХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2014. – Т. 14, вып. 3. – С. 544-547.
22. Коренман Я.И., Суханов П.Т., Губин А.С. Экстракционно-хроматографическое определение пищевых красителей и их полупродуктов в пищевых объектах // *Аналитика и контроль*. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 355-360.
23. Шуляковская О.В. Методика определения синтетических красителей в кондитерских и хлебобулочных изделиях, молочных продуктах, соках, биологически активных и пищевых добавках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии / Шуляковская О.В., Бельшева Л.Л., Резникова Л.Г. – Минск: Республиканский научно-практический центр гигиены, 2007. – 11 с.
24. Чмиленко Ф.О., Мінаєва Н.П., Сандомирський О.В., Сидорова Л.П. Ідентифікація барвників в напоях методом вискоєфективної ретинної хроматографії // *Харчова промисловість*. – 2008. – №7. – С. 17-19.
25. Mahmure Üstun Özgür, İkbar Koyuncu. The simultaneous determination of quinoline yellow (E-104) and sunset yellow (E-110) in syrups and tablets by second derivative spectrophotometry // *Turk J Chem*. – 2002. – Vol. 26. – P. 501-508.
26. www.lumex.ru
27. Решетняк Е.А. Хроматографические и тестовые методы анализа: учебное пособие: в 2 ч. Ч. 1. Тестовые методы анализа / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина. – Х.: ХНУ имени В.Н. Каразина, 2011. – 88 с.
28. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом: монография / [Холин Ю.В., Никитина Н.А., Пантелеймонов А.В., Решетняк Е.А., Бугаевский А.А., Логинова Л.П.]. – Х.: Тимченко, 2008. – 128 с.
29. Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Холин Ю.В., Светлова Н.В., Островская В.М. О достоверной оценке метрологических характеристик тестового анализа // *Вестник Харьков. нац. ун-та*. – 2003. – № 596, вып. 10(33). – С. 90-98.

30. Решетняк Е.А. Подходы к построению цветовых шкал. Представление результатов визуального тестирования // Аналитика России: III Всероссийская конференция, 27 сентября – 3 октября 2009.: тезисы докл. – Краснодар, 2009. – С. 75.
31. Пантелеймонов А.В., Никитина Н.А., Решетняк Е.А., Логинова Л.П., Бугаевский А.А., Холин Ю.В. Методики качественного анализа с бинарным откликом: метрологические характеристики и вычислительные аспекты // Методы и объекты химического анализа. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 128 – 146.
32. Loginova Lidia P., Konovalova Olga Yu. Test-films for test-determinations on the base of reagents, immobilized in gelatinous gel // Talanta. – 2008. – Vol. 77, № 2. – P. 915 – 923.
33. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1971. – 456 с.
34. Буланкіна Н.І. Фізико-хімічні методи в біології: Методичні вказівки до лабораторних робіт / Буланкіна Н.І., Охріменко С.М., Пономаренко О.М. – Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2011. – 39 с.
35. Currie L.A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities // Pure and Appl. Chem. –1995. –Vol. 67, № 10. –P. 1699 – 1723.
36. Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Логинова Л.П., Островская В.М. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы // Журн. аналит. хим. – 2005. – Т. 60, № 10. – С. 1102 – 1109.
37. Большев Л.Н. Таблицы математической статистики / Л.Н. Большев, Н.В. Смирнов. – М.: Наука, 1983. – 136 с.
38. Кравченко М.С. Унифицированные методы исследования качества вод. Тестовые методы анализа вод / М.С. Кравченко, В.Ф. Осыка. – М.: Постоянная комиссия СЭВ по сотрудничеству в области охраны окружающей среды, 1990. – 120 с.
39. Малютина Т.М. Аналитический контроль в металлургии цветных и редких металлов / Т.М. Малютина, О.В. Конькова. – М.: Металлургия, 1988. – 240 с.
40. Красители органические. Метод спектрофотометрического испытания: ГОСТ 6965 - 75. – [Введен 1975-11-10]. – М.: Издательство стандартов, 1975. – 5 с. – (Государственный стандарт Союза ССР).

References

1. Böcker J. Chromatographic. Instrumentelle analytik mit chromatographic und kapillarelektrophorese / J. Böcker. - Wurzburg: Vogel Industrie Medien GmbH & CoKG, 1997. – 472 p.
2. Gaal Ö. Electrophoresis in the separation of biological macromolecules / Ö. Gaal, G.A. Medgyesi, L. Vereczkey. – Chichester – New York – Brisbane – Toronto: A Wiley – Interscience Publication, John Wiley&Sons, 1980. – 420 p.
3. Polyanichko A.M. E`lektroforez v agaroznom gele / A.M. Polyanichko. - SPb.: S. - Peterburgskiy gosudarstvenny'y universitet, 2007. - 42 s. [in Russian].
4. Osterman L.A. Metody' issledovaniya belkov i nukleinov'y'h kislot. E`lektroforez i ul'tracentrifugirovanie / L.A. Osterman.- M.: Nauka, 1981. - 288 s. [in Russian].
5. Magdeldin S. Gel Electrophoresis - Principles and Basics / S. Magdeldin. - Croatia: InTech, 2012. -346 r.
6. Selifonova E.I., Kosyreva I.V., Chernova R.K. // Izvestiya Saratovskogo universiteta. - 2011. - T. 11, vy'p. 1. - S. 33 - 38. [in Russian].
7. Fomin A.N., Smirnova A.V., Semenov M.B., Kryuchkov V.B., Merzlyakova Yu.A. // Voprosy' biol., med. i farm. himii. - 2011. - № 11. - S. 32 - 39. [in Russian].
8. Deshmakh A.R., Donker J.D., Addis P.B., Jenness R. Cellulose acetate and polyacrylamide gel electrophoresis for quantification of milk protein fractions // J. Dairy Science. - 1989. - Vol. 72, № 1. - P. 12 - 17.
9. Zlotnick J.A., Smith F.P. Chromatographic and electrophoretic approaches in ink analysis // J. Chromatogr. A. - 1999. - № 733. - P. 265-272.
10. Patsovskii A.P., Rudometova N.V., Kamentsev Ya.S. Electrophoretic determination of synthetic dyes in alcoholic beverages // J. Anal. Chem. - 2004. - Vol. 59, № 2. - P. 150 - 154.
11. GiotJ.-F. Agarose gel electrophoresis - applications in clinical chemistry // JMB. - 2010. - № 29. - P. 9-14.

12. Smith H.R., Anderson E.S. Application of agarose gel electrophoresis to the characterization of plasmid DNA in drug-resistant enterobacteria // *J. General Microbiol.* - 1979. - № 114. - P. 15-25.
13. Gianazza E., Arnaud Ph. Applications of gel electrophoresis in the determination of protein-low Mr substances and protein-protein interactions // *Anal. Chim. Acta.* - 1998. - № 372. - P. 67-89.
14. Tulp A., Verwoerd D., Neefjes J. Electromigration for separations of protein complexes // *J. Chromatogr. A.* - 1999. - № 722. - P. 141-151.
15. Syrovoy I., Hodny Z. Staining and quantification of proteins separated by polyacrylamide gel electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* - 1991. - № 569. - P. 175-196.
16. Jones A.J.S. Analysis of polypeptides and proteins // *Advanced Drug Delivery Reviews.* - 1993. - № 10. - P. 29-90.
17. Sergeeva N.A. // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* - 1999. - № 2. - S. 25-32. [in Russian].
18. Struchkova I.V. Teoreticheskie i prakticheskie osnovy' provedeniya e'lektroforeza belkov v poliakrilamidnom gele / I.V. Struchkova, E.A. Kalyasova. - Nizhny Novgorod: Nijegorodskiy gosuniversitet, 2012. - 60 s. [in Russian].
19. Krus G.N. Metody' issledovaniya moloka i molochny'h produktov / G.N. Krus, A.M. Shalygina, Z.V. Volokitina. - M.: Kolos, 2000. - 368 s. [in Russian].
20. Smirnov E.V. Pisch'evy'e krasiteli. Spravochnik / E.V. Smirnov. - SPb.: Professiya, 2009. - 352 s. [in Russian].
21. Halzova S.A., Zyablov A.N., Selemenev V.F. // *Sorbcionny'e i hromatograficheskie processy'.* - 2014. - T. 14, issue 3. - S. 544-547. [in Russian].
22. Korenman Ya.I., Suhanov P.T., Gubin A.S. // *Analitika i kontrol'.* - 2004. - T. 8, № 4. - S. 355-360. [in Russian].
23. Shulyakovskaya O.V. Metodika opredeleniya sinteticheskikh krasiteley v konditerskikh i hlebo-bulochny'h izdeliyah, molochny'h produktah, sokah, biologicheskii aktivny'h i pisch'evy'h do-bavkah s pomosh'yu vy'sokoe'ffektivnoy jidkostnoy hromatografii / Shulyakovskaya O.V., Belysheva L.L., Reznikova L.G. - Minsk: Respublikanskiy nauchno-prakticheskiy centr gigeny', 2007. - 11 s. [in Russian].
24. Chmilenko F.O., Minaeva N.P., Sandomirskiy O.V., Sidorova L.P. // *Harchova promislovi'st'.* - 2008. - № 7. - S. 17-19. [in Ukrainian].
25. Mahmure Üstun Özgür, İkbar Koyuncu. The simultaneous determination of quinoline yellow (E-104) and sunset yellow (E-110) in syrups and tablets by second derivative spectrophotometry // *Turk J Chem.* - 2002. - Vol. 26. - P. 501-508.
26. www.lumex.ru
27. Reshetnyak E.A. Hromatograficheskie i testovy'e metody' analiza: uchebnoe posobie: v 2 ch. CH. 1. Testovy'e metody' analiza / E.A. Reshetnyak, N.A. Nikitina. - H.: HNU imeni V.N. Karazina, 2011. - 88 s. [in Russian].
28. Metrologicheskie harakteristiki metodik obnaruzheniya s binarnym otklikom: monografiya / [Holin YU.V., Nikitina N.A., Panteleymonov A.V., Reshetnyak E.A., Bugaevskiy A.A., Loginova L.P.]. - H.: Timchenko, 2008. - 128 s. [in Russian].
29. Reshetnyak E.A., Nikitina N.A., Kholin Yu.V., Svetlova N.V., Ostrovskaya V.M. // *Visn. Hark. nac. univ.,* 2003, № 596, Ser. Him., issue 10(33), P. 90-98. [ISSN 0453 – 8048 (print), ISSN 2220 – 6396 (online), <http://chembull.univer.kharkov.ua/archiv/2003/17.pdf>] [in Russian].
30. Reshetnyak E.A. Podhody' k postroeniyu cvetovy'h shkal. Predstavlenie rezul'tatov vizual'nogo testirovaniya // *Analitika Rossii: III Vserossiyskaya konferenciya, 27 sentyabrya - 3 oktyabrya 2009.: tezisy' dokl.* - Krasnodar, 2009. - S. 75. [in Russian].
31. Panteleymonov A.V., Nikitina N.A., Reshetnyak E.A., Loginova L.P., Bugaevskiy A.A., Kholin Yu.V. // *Metody' i ob'ekty' himicheskogo analiza.* - 2008. - T. 3, № 2. - S. 128 - 146. [in Russian].
32. Loginova Lidia P., Konovalova Olga Yu. Test-films for test-determinations on the base of reagents, immobilized in gelatinous gel // *Talanta.* - 2008. - Vol. 77, № 2. - P. 915 - 923.
33. Lur'e Yu.Yu. Spravochnik po analiticheskoy himii / Yu.Yu. Lur'e. - M.: Himiya, 1971. - 456 s. [in Russian].

34. Bulankina N.I. Fi'ziko-hi'mi'chni' metodi v bi'ologii'i': Metodichni' vkazi'vki do laboratornih rob'i't / Bulankina N.I., Ohrimenko S.M., Ponomarenko O.M. - H.: HNU imeni V.N. Karazi'na, 2011. - 39 s. [in Russian].
35. Currie L.A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities // Pure and Appl. Chem. -1995. -Vol. 67, № 10. -P. 1699 - 1723.
36. Reshetnyak E.A., Nikitina N.A., Loginova L.P., Ostrovskaya V.M. Limit of detection in test methods of analysis with visual indication: affecting factors // J. Anal. Chem. - 2005. - Vol. 60, № 10. - P. 982 - 989. [in Russian].
37. Bolshev L.N. Tablicy' matematicheskoy statistiki / L.N. Bolshev, N.V. Smirnov. - M.: Nauka, 1983. - 136 s. [in Russian].
38. Kravchenko M.S. Unificirovanny'e metody' issledovaniya kachestva vod. Testovy'e metody' analiza vod / M.S. Kravchenko, V.F. Osyka. - M.: Postoyannaya komissiya SE'V po sotrudnichestvu v oblasti ohrany' okrujayusch'ey sredy', 1990. - 120 s. [in Russian].
39. Malyutina T.M. Analiticheskiy kontrol' v metallurgii cvetny'h i redkih metallov / T.M. Malyutina, O.V. Konkova. - M.: Metallurgiya, 1988. - 240 s. [in Russian].
40. Krasiteli organicheskie. Metod spektrofotometricheskogo ispy'taniya: GOST 6965 - 75. - [Vveden 1975-11-10]. - M.: Izdatel'stvo standartov, 1975. - 5 s. - (Gosudarstvenny'y standart Soyuz SSR). [in Russian].

Поступила в редакцию 11 июня 2014 г.

О. Ю. Коновалова, В. В. Тимченко, Н. О. Нікітіна. Розділення та визначення харчових барвників Е 110 та Е 122 за методом гель-електрофорезу.

Показана можливість електрофоретичного розділення харчових барвників у агарозном та поліакриламідному гелях. Оптимізовано умови проведення гель-електрофорезу та визначення барвників Е 110 та Е 122. Показано можливість використання прийомів напівкількісного аналізу та апарату оцінювання метрологічних характеристик методик, що застосовують у візуально-тестовому аналізі, для обробки результатів гель-електрофорезу. Розроблені методики електрофоретичного розділення та фотометричного / візуального визначення барвників випробувано в аналізі харчових продуктів.

Ключові слова: гель-електрофорез, агароза, поліакриламід, Е 110, Е 122, метрологія.

O. Yu. Konovalova, V. V. Timchenko, N. A. Nikitina. Separation and determination of food dyes E 110 and E 122 by gel electrophoresis.

The possibility of using of agarose and polyacrylamide gel electrophoresis for separation of food dyes was shown. The conditions of gel electrophoresis and determination of dyes E 110 and E 122 were optimized. The possibility of using semi-quantitative analysis methods and apparatus of estimating the metrological characteristics of the techniques used in the visual-test analysis, to process the results of gel electrophoresis was shown. The methods developed for electrophoretic separation and photometric / visual determination of dyes were tested in the analysis of food products.

Key words: gel electrophoresis, agarose, polyacrylamide, E 110, E 122, metrology.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 543.544.5.068.7

ОЦЕНКА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ ВРЕМЕН УДЕРЖИВАНИЯ РЯДА ФЛАВОНОИДОВ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ КОЛОНКАХ C18

И. В. Кудрис^{1,3}, А. Ю. Куликов², О. С. Чернышѐва³

В данной работе проведено изучение вариабельности относительных времен удерживания (RRT) для компонентов модельной смеси флавоноидов на 7 различных хроматографических колонках, заполненных сорбентом на основе силикагеля с привитыми октадецильными группами (C18). Установлено, что вариабельность относительных времен удерживания зависит от выбора пика стандарта и не может быть использована для целей идентификации веществ на хроматограмме. Использование нескольких веществ на одной хроматограмме для расчета RRT не приводит к существенному уменьшению вариабельности RRT.

Ключевые слова: относительные времена удерживания, вариабельность, ВЭЖХ, сорбент с привитыми октадецильными группами.

В практике современного хроматографического анализа одной из основных и первостепенных задач является идентификация определяемых соединений в многокомпонентных смесях. К таким задачам, в частности, можно отнести анализ как выделенных из растений различных классов природных соединений, так и препаратов, содержащих различного вида экстракты лекарственного растительного сырья. Биологически активные вещества, входящие в состав препаратов растительного происхождения, представлены, как правило, компонентами нескольких классов природных соединений. Для определения этих соединений в основном используют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии [1-4]. При этом помимо выбора оптимальных условий хроматографического разделения определяемых соединений, одной из трудоемких задач является их идентификация.

В настоящее время используют большое число методов идентификации, из которых наиболее часто применяемым и относительно надежным является способ идентификации с использованием образцов сравнения. Однако не для всех биологически активных соединений растительного лекарственного сырья можно найти стандартные образцы. Они либо отсутствуют в продаже, либо нестабильны в процессе выделения и хранения, либо очень дорогие (например, 1 мг цианидин-3O-гликозида стоит около 150 евро). В случае отсутствия стандартных образцов для идентификации используют хроматографические параметры удерживания, из которых наиболее применяемыми являются относительные времена (объемы) удерживания. Индексы удерживания, характеризующие свойства определяемых соединений, в жидкостной хроматографии, в отличие от газовой, оказались неприменимыми [4]. В качестве дополнительных критериев при идентификации рекомендуют рассматривать УФ-спектры, относительные оптические плотности при различных длинах волн или масс-спектры определяемых соединений.

Однако, как показывает практика, при воспроизведении методик, полученные значения относительных времен удерживания (RRT) часто отличаются от величин, приведенных в нормативной документации; это может приводить к неправильной идентификации и, как следствие, отбраковке препарата или субстанции [5].

Причиной этого является законодательная допустимость использования «аналогичной» хроматографической колонки, то есть колонки, отличной от указанной в нормативном документе (литературе). Аналогичными называются колонки, заполненные сорбентом одного типа (например, C18) и имеющие близкие физико-химические свойства (размер и объем пор, диаметр частиц и прочее). Однако, как это уже неоднократно отмечалось в литературе, «аналогичные» колонки зачастую не обеспечивают сопоставимых хроматографических характеристик

¹ ГП «Государственный экспертный центр МЗ Украины», лаборатория фармакокинетики (г. Харьков), ул. Астрономическая, 33, г. Харьков 61085, Украина

² ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр», ул. Астрономическая, 33, г. Харьков 61085, Украина

³ Кафедра химической метрологии, Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков 61022, Украина.

разделения веществ [6]. Оказывается, различия в физико-химических характеристиках сорбентов (объем пор, удельная площадь поверхности), а также способ производства и, что особенно важно, способ деактивации остаточных силанольных групп, приводит к существенному различию в удерживании аналитов [6].

Ведущие фармакопеи мира [1-3] не определяют критерии приемлемости для идентификации по относительным временам удерживания, то есть неизвестно в каких пределах экспериментально полученные значения относительных времен удерживания могут отличаться от значений, указанных в фармакопейных статьях или других нормативных документах.

Целью данного исследования было определить вариабельность относительных времен удерживания, полученных для модельной смеси компонентов растительного происхождения на различных хроматографических колонках, заполненных сорбентом на основе силикагеля с привитыми октадецильными группами (C18).

Экспериментальная часть

Хроматографическая система.

Жидкостный хроматограф Agilent 1200, состоящий из вакуумного дегазатора (G1379B), четырехканального насоса (G1311A), автосамплера (G1329A), термостата автосамплера (G1330B), термостата колонок (G1316A), УФ-детектора (G1314B). Для управления хроматографом, сбора и обработки хроматографических данных использовали программное обеспечение Chem Station (G2170BA, rev B.02.01).

Реактивы.

Хлорогеновая кислота, катехин, рутин, гиперозид, ликуразид, лютеолин, кверцетин, кемпферол с хроматографической чистотой более 98% (Acros, Бельгия). Ацетонитрил, метанол, тетрагидрофуран – «HPLC grade» (Sigma-Aldrich, Germany), ледяная уксусная кислота – чда, (Fluka, Germany).

Во всех экспериментах использовали деионизированную воду (Direct-Q5, Millipore).

Хроматографические колонки.

Для тестирования использовали 7 хроматографических колонок, заполненных сорбентом с привитыми C18 группами. Названия и некоторые характеристики используемых колонок приведены в таблице 1.

Таблица 1. Физико-химические характеристики хроматографических колонок, использованных для изучения вариабельности относительных времен удерживания

№	Хроматографическая колонка	Размер колонки, мм	Размер частиц, мкм	Диаметр пор, Å	Удельная площадь поверхности, м ² /г	Содержание углерода, %	Эндкеппинг
1	ZORBAX Eclipse XDB-C18	150×4.6	5	80	180	10	да
2	Nukleosil120-5C18	250×4.6	5	120	350	11	да
3	Kromasil 100-C18	250×4.0	5	100	340	19	да
4	LiChrosorb RP-18	250×4.6	10	100	300	17	нет
5	ZORBAX SB-C18	250×4.6	5	80	180	10	да
6	Bondapak C18	300×3.9	10	125	330	10	да
7	Hypersil AA-ODS	200×2.1	5	120	170	10	да

Приготовление тестовых смесей.

Для приготовления тестовой смеси навески хлорогеновой кислоты, катехина, рутина, гиперозид, ликуразид, лютеолина, кверцетина, кемпферола растворяли в метиловом спирте. Аликвоту полученных растворов разбавляли подвижной фазой до получения смеси компонентов с концентрациями: хлорогеновая кислота (25 мкг/мл), катехин (50 мкг/мл), рутин (150 мкг/мл), гиперозид (75 мкг/мл), ликуразид (50 мкг/мл), лютеолин (100 мкг/мл), кверцетин (100 мкг/мл), кемпферол (100 мкг/мл).

Условия хроматографического разделения.

Подвижная фаза: ацетонитрил – тетрагидрофуран – ледяная уксусная кислота – вода в соотношении 9:9:1:81 (по объему). Скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин. Температура термостата колонки – 30⁰С. Объем пробы – 50 мкл. Длина волны детектирования – 282 нм.

Результаты и их обсуждение

Для оценки воспроизводимости величин относительных времен удерживания, а также расчета их вариабельности, были взяты хроматографические условия из утвержденного Фармакологическим комитетом Украины нормативного документа по контролю качества готового лекарственного средства, содержащего экстракты растительного лекарственного сырья. В методике указано, что для разделения и идентификации 10 полифенольных компонентов готового лекарственного средства используется подвижная фаза состава ацетонитрил – тетрагидрофуран – ледяная уксусная кислота – вода в соотношении 9:9:1:81 (по объему) и хроматографическая колонка, заполненная сорбентом L1 по классификации фармакопеи США.

Так как в нормативном документе не указывается торговая марка колонки, и, согласно ведущим фармакопеям [2,3], колонки марки «С18» являются аналогичными, то в качестве объектов исследования были выбраны имеющиеся в лабораториях хроматографические колонки, заполненные сорбентом на основе силикагеля с привитыми С18 группами. Все используемые колонки, несмотря на различия в их физико-химических параметрах (см. табл. 1), можно отнести к разряду колонок L1 по классификации фармакопеи США (октадецилсилан, химически привитый на пористый силикагель или керамические микрочастицы, 1,5-10 мкм в диаметре [2]) или *силикагель октадецилсилильный для хроматографии Р* по классификации фармакопеи Европы [3] и гармонизированной с ней фармакопеи Украины [1] (силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм, поверхность которого химически модифицирована октадецилсилильными группами).

Для хроматографического разделения в данной работе была использована модельная смесь, содержащая активные компоненты растительного происхождения сложных полифенолов, в том числе флавоноидов и их гликозидов - хлорогеновая кислота, катехин, рутин, гиперозид, ликуразид, лютеонин, кверцетин, кемпферол. Данная модельная смесь содержит вещества различной гидрофобности и частично эквивалентна пробе, полученной при анализе готового лекарственного средства, из нормативного документа по анализу которого были взяты условия хроматографирования.

Для расчета относительных времен удерживания ликуразид был выбран в качестве стандарта. Относительные времена удерживания компонентов рассчитывали как отношения среднего значения времени удерживания определяемого компонента к среднему значению времени удерживания ликуразида (стандарт). Вариабельность RRT оценивали как коэффициент вариации (фактически относительное стандартное отклонение результатов определения) для RRT компонента модельной смеси, полученного на разных хроматографических колонках. Результаты расчетов приведены в таблице 2.

Полученные значения коэффициентов вариации для RRT находятся в диапазоне от 3.4% до 23.3%, что в среднем составило 11.6%. Причем, для компонентов со временем удерживания близким к времени удерживания стандарта, значения коэффициентов вариации значительно ниже, чем для компонентов с большей разницей времен удерживания. Поэтому, для уменьшения вариабельности, расчет относительных времен удерживания был произведен для пар компонентов с минимальным различием во времени удерживания. Значения относительных времен удерживания и коэффициенты вариации для пар компонентов представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, значения коэффициентов вариации для пар компонентов составили от 2.7 до 15.7% (в среднем 7.1%).

Таким образом, вариабельность относительных времен удерживания зависит от выбора пика стандарта. Значительно более низкие значения вариабельности наблюдаются для компонентов смеси, которые элюируются вблизи пика, принятого за стандарт. Так для используемой в данной работе модельной смеси можно попросить рекомендовать использование двух внутренних стандартов, первый использовать для компонентов, элюирующихся в начале хроматограм-

мы, второй для компонентов, элюирующихся в конце хроматограммы. Например, в качестве стандартов можно использовать пики гиперозида и кверцетина (рисунок 1).

Таблица 2. Относительные времена удерживания компонентов модельной смеси

№ КОЛОНКИ	Хлорогеновая кислота	Катехин	Рутин	Гиперозид	Ликуразид	Лютеолин	Кверцетин	Кемпферол
1	0.18	0.21	0.30	0.40	1.00	2.51	3.38	6.74
2	0.18	0.19	0.34	0.41	1.00	1.77	1.97	3.77
3	0.16	0.19	0.29	0.38	1.00	2.11	2.64	5.15
4	0.20	0.21	0.35	0.41	1.00	1.65	1.84	3.39
5	0.17	0.20	0.29	0.38	1.00	2.37	2.50	4.92
6	0.16	0.18	0.32	0.39	1.00	1.77	1.93	3.68
7	0.20	0.21	0.33	0.41	1.00	1.82	2.33	4.53
ср	0.18	0.20	0.32	0.39	1.00	2.00	2.37	4.60
SD	0.01	0.01	0.02	0.01	0.00	0.31	0.50	1.07
CV	8.1	6.1	7.0	3.4	0.0	15.5	21.0	23.3

Таблица 3. Относительные времена удерживания компонентов модельной смеси, рассчитанные для пар КОМПОНЕНТОВ

№ КОЛОНКИ	Хлорогеновая кислота – катехин	Катехин – рутин	Рутин – гиперозид	Гиперозид – ликуразид	Ликуразид – лютеолин	Лютеолин – кверцетин	Кверцетин – кемпферол
1	0.86	0.68	0.76	0.40	0.40	0.74	0.50
2	0.93	0.57	0.83	0.41	0.57	0.90	0.52
3	0.85	0.67	0.76	0.38	0.47	0.80	0.51
4	0.93	0.61	0.85	0.41	0.61	0.90	0.54
5	0.85	0.69	0.76	0.38	0.42	0.95	0.51
6	0.91	0.54	0.83	0.39	0.57	0.92	0.53
7	0.94	0.64	0.81	0.41	0.55	0.78	0.52
ср	0.89	0.63	0.80	0.39	0.51	0.85	0.52
SD	0.04	0.06	0.04	0.01	0.08	0.08	0.01
CV	4.6	8.9	4.7	3.6	15.7	9.3	2.7

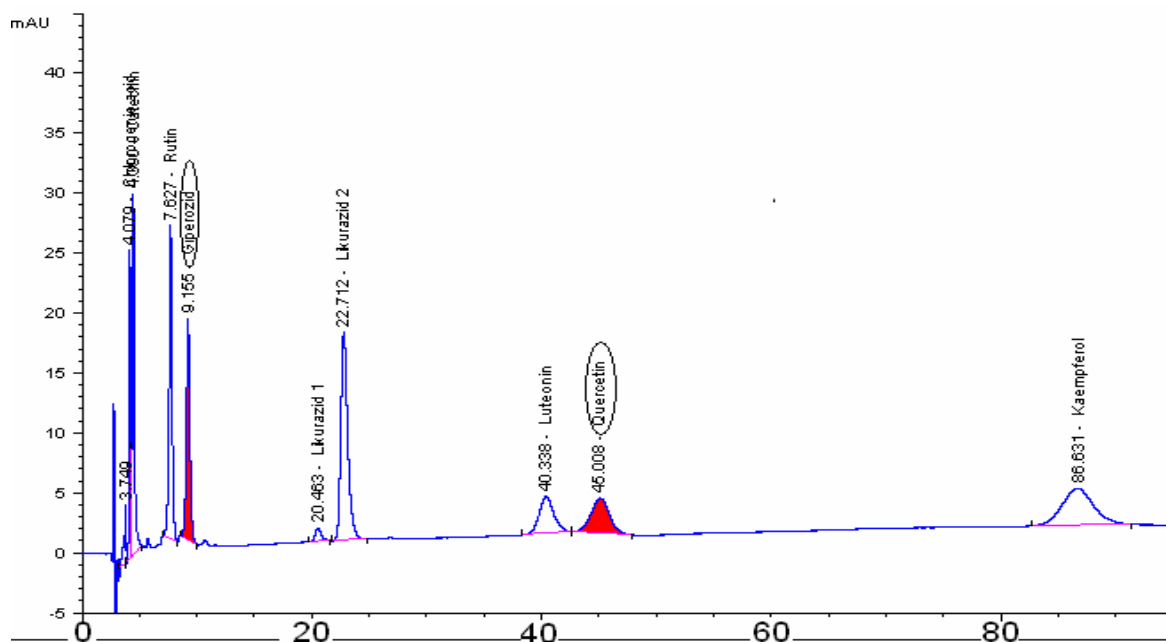


Рисунок 1. Типичная хроматограмма модельной смеси флавоноидов.

	Хлорогеновая кислота	Катехин	Рутин	Гиперозид	Ликурозид	Лютеолин	Кверцетин	Кемпферол
1	7.7	14.1	4.8	0.0	4.9	17.8	22.5	24.4
2	22.6	18.8	26.9	22.3	22.1	9.0	0.00	2.4

1. стандарт – гиперозид; 2. стандарт – кверцетин.

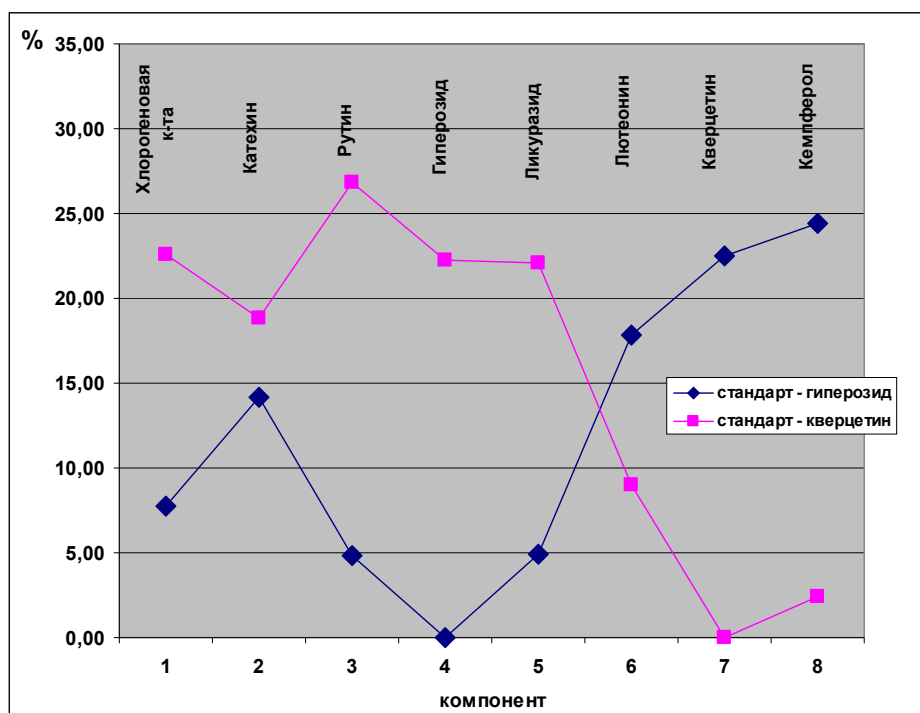


Рисунок 2. Диаграмма зависимости вариальности RRT от выбора пика стандарта.

На рисунке 2 представлена диаграмма, отражающая зависимость вариабельности RRT компонентов от выбора пика стандарта. Как видно, вариабельность RRT компонентов, элюирующихся в начале хроматограммы значительно ниже при расчете по отношению к пику гиперозида и, напротив, для компонентов, элюирующихся в конце хроматограммы, вариабельность, значительно ниже при расчете по отношению к пику кверцетина.

Для оценки возможности неправильной идентификации компонентов разделяемых смесей были рассчитаны значения пиковой емкости [10] для диапазонов идентификации компонентов, ограниченных вариабельностью их RRT. Пиковая емкость представляет собой количество разделенных хроматографических пиков компонентов, способных вместиться в заданный диапазон времени удерживания.

Используя полученные в ходе эксперимента данные RRT и их вариабельности были рассчитаны доверительные интервалы (P=90%) для средних значений RRT для каждого компонента. Затем, используя нижнюю и верхнюю границу доверительных интервалов и времена удерживания компонентов стандартов, были вычислены верхние и нижние границы диапазонов времен удерживания для идентификации определяемых компонентов (уравнение 1).

Пиковую емкость рассчитывали как отношение диапазона времени удерживания для идентификации компонентов к ширине определяемого пика у основания (уравнение 2).

$$\Delta t_r = t_{r,2} - t_{r,1} = (r_G + \Delta r_G) \cdot t_{r(st)} - (r_G - \Delta r_G) \cdot t_{r(st)}, \quad (1)$$

$$P = \frac{\Delta t_r}{w}, \quad (2)$$

где: Δt_r - диапазон времени удерживания для идентификации компонента; $(r_G + \Delta r_G)$ – верхняя граница доверительного интервала для среднего значения RRT; $(r_G - \Delta r_G)$ – нижняя граница доверительного интервала для среднего значения RRT; $t_{r(st)}$ – время удерживания компонента стандарта; P – значение пиковой емкости; w – ширина пика у основания.

Рассчитанная пиковая емкость компонентов модельных смесей для каждой хроматографической колонки представлена в таблице 5. Расчет проведен по значениям вариабельности RRT для пар компонентов; представлены значения пиковой емкости компонентов, в скобках указаны стандарты, по которым рассчитывали RRT.

Таблица 5. Рассчитанная пиковая емкость компонентов для диапазона идентификации компонентов, ограниченного вариабельностью RRT.

№ колонки	Хлорогеновая кислота (катехин)	Катехин (рутин)	Рутин (гиперозид)	Гиперозид (ликуразид)	Ликуразид (лютеолин)	Лютеолин (кверцетин)	Кверцетин (кемпферол)
1	2	3	2	1	9	11	1
2	1	3	1	1	6	6	1
3	1	2	1	1	6	7	1
4	1	3	1	1	5	5	1
5	2	4	2	1	12	11	1
6	1	3	1	1	4	4	1
7	1	1	1	1	5	6	1

Как видно из таблицы 5 для соединений флавоноидов пиковая емкость в среднем составляет 4 и достигает значений 12

Полученные данные показывают, что при воспроизведении методик анализа в диапазоне для идентификации компонентов по их относительным временам удерживания может находиться в среднем 4 разделенных хроматографических пика. В таком случае правильная идентификация интересующего компонента будет невозможна без проведения дополнительных исследований или использования других физико-химических методов.

Выводы

Проведено изучение вариабельности RRT компонентов модельной смесей, содержащей компоненты ряда флавоноидов на 7 различных хроматографических колонках заполненных сорбентом на основе силикагеля с привитыми октадецильными группами (C18). Полученные результаты показали высокую вариабельность определения RRT при использовании различных хроматографических колонок - от 3% до 23% относительного стандартного отклонения. При этом рассчитанная пиковая емкость диапазона для идентификации компонентов по их относительным временам удерживания в среднем составила 4 пика, и достигает 12 пиков, что свидетельствует о достаточно низкой надежности идентификации компонентов по их относительным временам удерживания.

Полученные результаты показывают, что только лишь относительные времена удерживания не могут быть использованы для надежной и однозначной идентификации компонентов, особенно при анализе сложных многокомпонентных матриц, они могут быть использованы лишь для информационных целей [2]. Для повышения надежности идентификации необходимо применять другие, не связанные с удерживанием, характеристики определяемых компонентов, например, такие как использование других способов детектирования, сравнение УФ спектров и/или относительных оптических плотностей при различных фиксированных длинах волн [10].

Для повышения воспроизводимости характеристик удерживания компонентов анализируемых проб, при воспроизведении хроматографических методик в условиях хроматографирования следует четко указывать торговую марку и тип хроматографической колонки, на которой была проведена разработка и валидация методики.

Литература

1. Державна Фармакопея України. 1-е вид. Державне підприємство «науково-експертний фармакопейний центр». Харків: РЕПІГ, 2001. С. 556.
2. United States Pharmacopoeia, 35th edn. The United States Pharmacopoeia Convention Inc, Rockville MD, 2012. P. 4780.
3. European Pharmacopoeia 7th edn. Council of Europe: France, Strasbourg, 2010. P. 3310.
4. Snyder L. R., Kirkland J.J., Dolan J. W. Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3rd Edition. John Wiley & Sons: New York, 2012. P. 912.
5. Dehouck P., Visky D., Kovács Z., Noszál B., Adamsa E., Hoogmartensa J. Uncertainty Related to the Use of Relative Retention Times in Pharmaceutical Analysis. LCGC Europe. 2003, November, 1–8.
6. Lopez L.A., Rutan S.C. Comparison of methods for characterization of reversed-phase liquid chromatographic selectivity. J. Chromatogr. A. 2002, 965, 301–314.
7. Kele M., Guiochon G. Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on six batches of monolithic columns. J. Chromatogr. A. 2002, 960 (1-2), 19–49.
8. Kele M., Guiochon G. Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on reversed-phase liquid chromatography columns: III. Results obtained with Kromasil C18 columns. J. Chromatogr. A. 1999, 855 (2), 423–453.
9. Snyder L.R. Maximum resolution per unit time in liquid-solid absorption chromatography. Separation on column vs. thin layer. Anal. Chem. 1967, 39, 705–709.
10. Зенкевич И.Г., Косман В.М. Относительное поглощение при разных длинах волн – дополнительный УФ-спектральный параметр для идентификации органических соединений в обращено-фазовой ВЭЖХ. ЖАХ. 1996, 51 (8), 870 – 874.

References

1. Derjavna Farmakopeya Ukraini. 1-e vid. Derjavne pi'dprie"mstvo «naukovo-ekspertnyi farmakopeyniy centr». Harki'v: RERIG, 2001. S. 556. [in Ukrainian]
2. United States Pharmacopoeia, 35th edn. The United States Pharmacopoeia Convention Inc, Rockville MD, 2012. P. 4780.
3. European Pharmacopoeia 7th edn. Council of Europe: France, Strasbourg, 2010. P. 3310.
4. Snyder L. R., Kirkland J.J., Dolan J. W. Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3rd Edition. John Wiley & Sons: New York, 2012. P. 912.
5. Dehouck P., Visky D., Kovács Z., Noszál B., Adamsa E., Hoogmartensa J. Uncertainty Related to the Use of Relative Retention Times in Pharmaceutical Analysis. LCGC Europe. 2003, November, 1–8.
6. Lopez L.A., Rutan S.C. Comparison of methods for characterization of reversed-phase liquid chromatographic selectivity. J. Chromatogr. A. 2002, 965, 301–314.
7. Kele M., Guiochon G. Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on six batches of monolithic columns. J. Chromatogr. A. 2002, 960 (1-2), 19–49.
8. Kele M., Guiochon G. Repeatability and reproducibility of retention data and band profiles on reversed-phase liquid chromatography columns: III. Results obtained with Kromasil C18 columns. J. Chromatogr. A. 1999, 855 (2), 423–453.
9. Snyder L.R. Maximum resolution per unit time in liquid-solid absorption chromatography. Separation on column vs. thin layer. Anal. Chem. 1967, 39, 705–709.
10. Zenkevich I.G., Kosman V.M. Otnositel'noe poglosch'enie pri razny'h dlinah voln - dopolnitel'ny'y UF-spektral'ny'y parametr dlya identifikacii organicheskikh soedineniy v obrasch'eno-fazovoy HELC. Journ. analit. himii. 1996, 51 (8), 870 – 874. [in Russian]

Поступила в редакцию 17 июня 2014 г.

I. V. Kudris, A. Yu. Kulikov, O. S. Chernyshova. Оцінка вариабельності відносних часів утримування ряду флавоноїдів на хроматографічних колонках C18.

В роботі проведено дослідження вариабельності відносних часів утримування (RRT) для компонентів модельної суміші флавоноїдів на 7 різних хроматографічних колонках, які заповнено сорбентом на основі силікагелю із прищепленими октадецильними групами (C18). Встановлено, що вариабельність відносних часів утримування залежить від вибору піка стандарту і не може бути застосована для цілей ідентифікації речовин на хроматограмі. Використання декількох речовин на одній хроматограмі для розрахунку RRT не призводить до суттєвому зменшенню вариабельності RRT.

Ключові слова: відносні часи утримування, вариабельність, ВЕРХ, сорбент із прищепленими октадецильними групами.

I. V. Kudris, A. Yu. Kulikov, O. S. Chernyshova. The relative retention time variability evaluation for flavonoids retention on C18 chromatography columns.

In this study the variability of the relative retention times (RRT) for the components of the flavonoids model mixture have been investigated by using 7 different chromatographic columns with octadecilsilica sorbent (C18). It was founded, that the RRT variability depends on the choice of the standard peak, and they cannot be used for substances identification on the chromatogram. The using of several substances in one chromatogram as standard for RRT calculation does not lead to considerable decreasing in RRT variability.

Key words: relative retention time, variability, HPLC, octadecyl silica sorbent.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

УДК 544.344

ФАЗОВЫЕ РАВНОВЕСИЯ В СИСТЕМАХ ПОЛИ-N-ВИНИЛПИРРОЛИДОН – НЕОРГАНИЧЕСКАЯ СОЛЬ – ВОДА

Г. Д. Юхно, А. П. Красноперова, В. Д. Трифонов

Исследованы фазовые равновесия в двухфазных водных системах на основе поли-N-винилпирролидона и ряда неорганических солей (сульфатов натрия, магния и аммония) с целью выбора оптимальных условий получения гетерогенных систем для создания эффективных экстракционных систем для выделения и разделения металлов. Используя данные о плотности фаз и построенных бинодалей, рассчитаны составы сосуществующих фаз в системах поливинилпирролидон – соль – вода.

Ключевые слова: экстракция, гетерогенная система, атермический эффект, бинодаль, поливинилпирролидон, структурный фактор, фазовая диаграмма.

Введение

Возрастающие потребности мировой экономики в новых полимерных материалах постоянно стимулируют исследования, направленные не только на синтез новых полимеров, но и на получение многокомпонентных систем с заданными свойствами на основе уже существующих полимеров. Среди множества полимерных систем уже долгое время сохраняется неослабевающий интерес к водорастворимым полимерам. Последние оказались незаменимыми во многих отраслях экономики, в особенности – в фармацевтике и медицине. Основные преимущества водорастворимых полимеров – нетоксичность, высокая гидрофильность, способность к комплексообразованию со многими органическими, неорганическими и биологическими объектами [1,2].

Двухфазные водные системы, образующиеся при высаливании полимера из водных растворов неорганическими солями, успешно применяются в аналитических целях для экстракции гидратированных комплексов металлов, разделения продуктов ядерного деления, белков, вирусов. Эти системы состоят из двух водных фаз, одна из которых содержит преимущественно растворимый полимер, вторая – преимущественно фазообразующую соль (или другой полимер).

Однако, одно из интереснейших и необычных явлений – фазовое разделение в растворах полимеров, протекающее обратимо и количественно при весьма незначительных измерениях концентрации вводимых простых солей, получило далеко не полное объяснение.

Корректная интерпретация фазовых переходов в растворах полимеров является фундаментальной проблемой, от решения которой во многом зависит создание единой теории фазового разделения. Не менее важен и прикладной аспект этой проблемы, так как общий подход к получению растворов полимеров с заданными параметрами фазового разделения невозможен без выявления движущих сил и факторов, влияющих на него.

Поливинилпирролидон (ПВПД) является растворимым в воде аморфным полимером [2,3], обладающим высоким потенциалом для промышленного применения. В присутствии неорганических солей и некоторых органических соединений [4,5], водные растворы поливинилпирролидона способны к фазовому расслоению; с другой стороны, сам полимер способствует повышению растворимости некоторых низкомолекулярных веществ.

Цель настоящей работы – исследование фазовых равновесий в системах поли-N-винилпирролидон – соль – вода с целью выбора оптимальных условий получения гетерогенных систем и расчет состава сосуществующих фаз.

Экспериментальная часть

Для проведения эксперимента были использованы поли-N-винилпирролидон K90 с молекулярной массой 360000 производства фирмы "AppliChem GmbH" (Germany) и неорганические соли Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 марки х.ч. Поливинилпирролидон использовали без дополнительной очистки в виде водного раствора с массовой долей 10%.

В качестве солей-фазообразователей использованы $MgSO_4 \times 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4 . Растворы солей $MgSO_4 \times 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, Na_2SO_4 с концентрациями 40% мас., 40% мас. и 20% мас., соответственно готовились гравиметрически и хранились в герметично закрытой посуде. Для приготовления растворов использовали дистиллированную воду.

Плотность фаз и водных растворов солей определяли пикнометрически.

Фазовые равновесия изучали методом титрования водного раствора полимера раствором соли известной концентрации до точки помутнения. Титрование проводили до устойчивого помутнения системы, которое контролировали визуально. С этой целью предварительно рассчитывается состав смеси. Затем добавляется 1 см^3 воды, после чего смесь вновь становится прозрачной. Процедура титрования водного раствора полимера описана в [6]. Исследования проводили при температурах 298, 308 и 318 К в воздушном термостате, погрешность термостатирования составляла $\pm 1\text{ К}$.

Результаты и обсуждение

Двухфазная система из водных растворов соли и ПВПД образуется только при определенных концентрациях компонентов. Соотношения, при которых происходит разделение фаз, были описаны с помощью фазовых диаграмм, состоящих из двух областей, разделенных между собой бинодальными кривыми. Для всех смесей, где концентрация веществ соответствовала точкам, лежащим выше бинодали, наблюдалось разделение фаз, ниже – система оставалась гомогенной [7].

Бинодальные кривые при температурах 298-318 К были аппроксимированы степенной функцией в пределах концентрационных интервалов, на которых они были экспериментально определены:

$$y = aw^3 + bw^2 + cw + d$$

где y – массовая доля полимера (%); w – массовая доля соли (%); a, b, c, d – коэффициенты аппроксимационного уравнения (таблица 1).

Таблица 1. Значения коэффициентов в уравнениях аппроксимации бинодальных кривых для систем ПВПД – соль – вода при температурах 298 К, 308 К и 318 К

Соль	T, К	Интервал w (соль).%	a	b	c	d	R ²
$MgSO_4$	298	[7.38 – 9.65]	-0.1250	3.6193	-36.867	131.58	0.9990
	308	[6.91 – 9.25]	-0.1501	3.8736	-35.541	116.52	0.9982
	318	[6.40 – 8.53]	-0.2823	6.8050	-57.081	167.17	0.9981
$(NH_4)_2SO_4$	298	[9.20–11.61]	-0.1201	4.2309	-51.475	216.64	0.9996
	308	[9.08–11.18]	0.1397	-3.6822	29.667	-65.494	0.9997
	318	[7.71–10.42]	-0.2389	7.4733	-78.007	271.99	0.9996
Na_2SO_4	298	[6.40–8.83]	-0.1385	3.8535	-37.024	122.51	0.9987
	308	[6.02–8.37]	-0.1440	3.9277	-36.932	118.72	0.9997
	318	[5.47–7.49]	-0.2795	6.0470	-46.203	124.99	0.9996

Таблица 2. Минимальные концентрации солей, необходимые для получения гетерогенной системы, которая содержит 2 мас.% ПВПД

Полимер	C _{минь} (соли), моль/кг		
	$(NH_4)_2SO_4$	$MgSO_4$	Na_2SO_4
ПВПД, 2 мас.%	0.96	0.81	0.61

Для количественной характеристики высаливающего действия соли обычно используется минимальная концентрация [8] (моляльность) высаливателя, которая необходима для получения гетерогенной системы при заданных условиях. В таблице 2 представлены значения минимальной моляльности растворов изучаемых солей, необходимых для получения гетерогенной системы, содержащей 2 мас.% ПВПД при 298 К.

В то же время эта характеристика не может быть использована для объяснения причин образования двух фаз. Для объяснений причин образования двух фаз в водных растворах полимеров привлекаются различные представления. Так в работе [6] расслоение растворов на две фазы объясняется образованием коацерватов. Авторы работы [8], для объяснения расслоения водного раствора полимера на две и более фазы привлекают представления О. Самойлова, характеризующие кинетику процесса. Учитывая, что расслоение – процесс термодинамический, в работе [9], сделана попытка описать термодинамические свойства растворов полимер-соль-вода в предположении о значительной гидратации полимера. В работах [10,11] фазообразование объясняют степенью взаимодействия соли-фазообразователя с водой. На ряде примеров авторы показали, что расслоение происходит только в случае использования слабо (отрицательно) гидратированных солей.

В данной работе мы попытались проследить влияние природы катиона на ширину области гетерогенности (рис. 1).

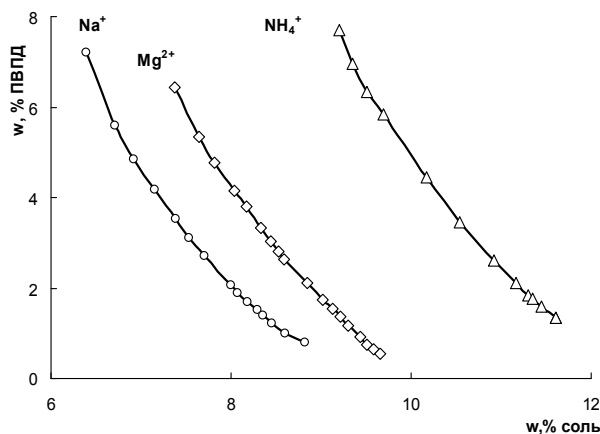


Рисунок 1. Влияние катиона на область гетерогенности системы ПВПД – соль – вода при 298 К

Энергии гидратации и ионные радиусы рассматриваемых катионов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Характеристики катионов [12, 13]

Катион	Na ⁺	Mg ²⁺	NH ₄ ⁺
r _{ион} , пм (Поллинг)	95	65	148
ΔG _{h(x)} , кДж/моль	-405.9	-1922.0	-303.4

Анализ бинодалей (рисунок 1) свидетельствует о том, что степень влияния иона на фазовое разделение зависит от положения иона в лиотропном ряду [14].

Следует отметить, что катионы солей, выбранных для исследования, по-разному влияют на структуру воды. Введение растворенного вещества может привести либо к дополнительному структурированию растворителя (при этом энтропия растворителя уменьшается), либо к частичному разрушению его структуры (энтропия растворителя увеличивается). Поэтому однозарядные ионы с малыми размерами и многозарядные ионы (Li⁺, Na⁺, Be²⁺, Mg²⁺, F⁻) оказывают структурирующее действие на воду, а большие по размеру ионы малого заряда (NH₄⁺) оказывают деструктурирующее действие.

Известно [15], что структура воды изменяется как под действием неорганических солей, так и под действием макромолекул [16,17]. В связи с этим можно предположить, что условия фазового разделения в водной полимерной системе в присутствии неорганических солей определяются суммарным эффектом воздействия полимера и фазообразующей соли на структуру воды.

Анализ влияния температуры на фазовое разделение показал, что ее рост способствует более раннему фазовому расслоению во всех изученных системах. Это может быть связано с понижением растворимости полимера с ростом температуры [18,19] и, соответственно, меньшей концентрацией соли, необходимой для образования гетерогенной системы.

Вероятно также, что расширение области гетерогенности для систем ПВПД – соль – вода с ростом температуры обусловлено структурной перестройкой системы.

В работах [20,21] обнаружено, что при повышенных температурах в водных растворах полиэтиленгликолей образуются двухфазные системы с двумя критическими точками – верхней критической точкой (ВКТ) и нижней критической точкой (НКТ). Наличие ВКТ авторы объясняют следствием действия ван-дер-ваальсовых сил. Вопрос о системах с НКТ более сложен.

Для объяснений фазовых разделений в водных растворах ПВПД необходимо привлечение и рассмотрение термодинамических параметров взаимодействия компонентов в двухфазных системах. Так как обобщенные параметры взаимодействия полимер-смешанный растворитель являются функциями состава системы, возникает необходимость знать состав фаз.

Используя данные о плотности фаз и построенных бинодалей, рассчитаны составы сосуществующих фаз.

С этой целью был использован следующий подход. При распределении компонентов между двумя фазами выполняется закон сохранения массы. Математически это описывается «правилом рычага», в соответствии с которым (обозначения соответствуют рисунки 2–4, t – верхняя фаза, b – нижняя фаза):

$$\frac{m_t}{m_b} = \left(\frac{V_t d_t}{V_b d_b} \right) = \frac{\overline{AB}}{\overline{AC}}$$

Величины, стоящие слева от знака равенства в уравнении, определялись экспериментально. Для этого было приготовлено по три гетерогенных раствора с известными общими концентрациями всех компонентов (точка А) для каждой из исследуемых систем. Далее растворы помещались в воздушный термостат, где находились до полного расслоения. После этого, проводилось измерение объема и плотности разделившихся фаз, из чего находилось отношение их масс.

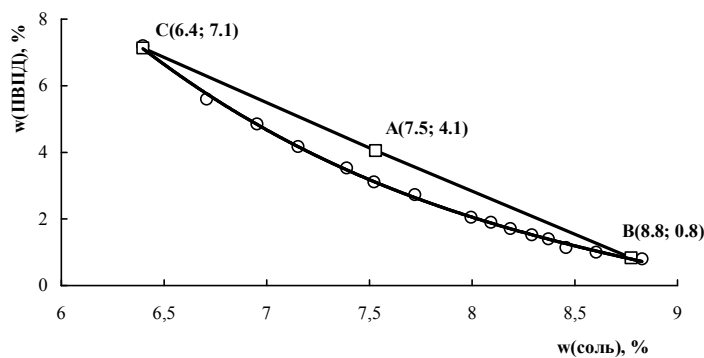


Рисунок 2. Фазовая диаграмма системы ПВПД – Na₂SO₄ – вода при 298 К

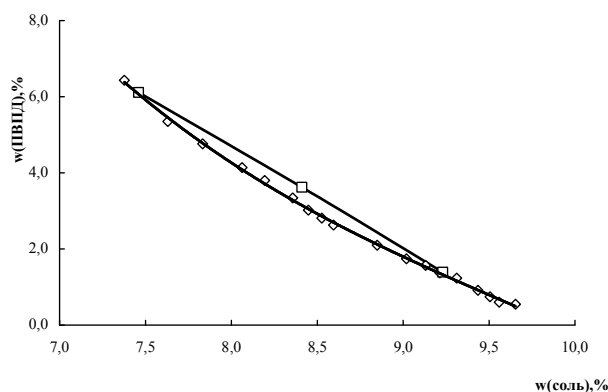


Рисунок 3. Фазовая диаграмма системы ПВПД – MgSO₄ – вода при 298 К

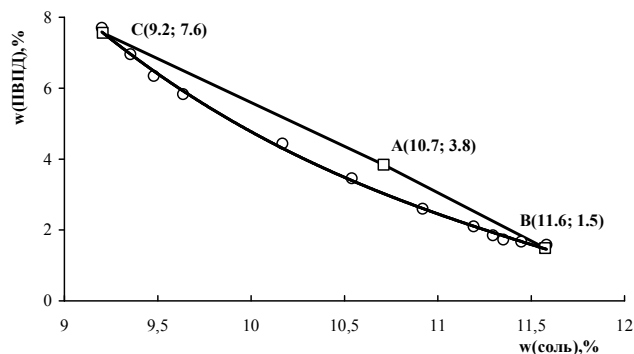


Рисунок 4. Фазовая диаграмма системы ПВПД – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – вода при 298 К

С другой стороны, для нахождения длин отрезков АВ и АС, бинодальные кривые были аппроксимированы степенной функцией в пределах концентрационных интервалов, на которых они были экспериментально определены (таблица 2).

Далее через точку известного состава А проводилась прямая с известным угловым коэффициентом k , а отношения длин отрезков АВ и АС при этом фиксировались (так как известны экспериментально определенные соотношения масс). Программа обчисливала возможные решения системы, состоящей из уравнения третьей и первой степени методом простых итераций. Расчет проводился в заданных пределах (условными пределами были взяты координаты первой и последней точек бинодали). В случае хорошего совпадения экспериментальных и теоретических результатов, концентрации веществ для составов В и С принимались как значения концентраций веществ в сосуществующих фазах (таблица 4). В противном случае, прямая вращалась вокруг точки А до получения оптимальной сходимости (алгоритм реализовывался на языке Pascal). В качестве проверочного параметра использовалось отношение массы верхней фазы к нижней, определяемое экспериментально.

Теоретически найденные составы фаз представлены в таблице 4.

Таблица 4. Составы сосуществующих фаз при 298 К

Система	Общий состав, w, %	Верхняя фаза, w, %	Нижняя фаза w, %
MgSO_4 –	8.41	7.46	9.23
ПВПД –	3.62	6.11	1.39
H_2O	87.97	86.43	89.38
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ –	10.71	9.21	11.57
ПВПД –	3.84	7.56	1.49
H_2O	85.45	83.23	86.94
Na_2SO_4 –	7.53	6.40	8.77
ПВПД –	4.05	7.13	0.83
H_2O	88.42	86.47	90.40

Таким образом, используя минимальный набор экспериментальных данных (уравнения бинодалей, объемы и плотности верхней и нижней фазы) с удовлетворительной точностью предложен расчет состава сосуществующих фаз, не прибегая к химическому анализу.

Литература

1. Кириш Ю.Э. Поли-*N*-винилпирролидон и другие поли-*N*-виниламиды / Ю.Э. Кириш. – М.: Наука, 1998. – 252 с.
2. Сидельковская Ф.П. Химия *N*-винилпирролидона и его полимеров / Ф.П. Сидельковская. – М.: Наука, 1970. – 150 с.
3. Николаев А.Ф. Водорастворимые полимеры / А.Ф. Николаев, Г.И. Охрименко. – Л.: Химия, 1979. – 144 с.
4. Бектуров Е.А. Молекулярные комплексы полимеров / Е.А. Бектуров, Р.Э. Хамзамулина, З.Х. Бакауова. – Алма-Ата: Наука, 1988. – 176 с.

5. Остроушко А.А. Система гептамолибдат аммония– поливинилпирролидон–вода / А.А. Остроушко, М.Ю. Сенников // Журн. неорг. химии. – 2003. – Т.48, №4. – С. 655-660.
6. Альберстон П.О. Разделение клеточных частиц и макромолекул / П.О. Альберстон. – М.: Мир, 1985. – 150 с.
7. Voros N. Liquid-liquid Phase Equilibria of Aqueous 2-Phase Systems Containing Salts And Polyethylene Glycol / N. Voros, P. Proust, A. Fredenslund // Fluid Phase Equilibria. – 1993. – Vol.90. – P. 333-354.
8. Двухфазные водные системы на основе полиэтиленгликоля и неорганических солей / Т.И. Нифантьева, В. Матоушова, З. Адамцова, В.М. Шкинев // Высокомолек. соед. А. – 1989. – Т.31, №10. – С. 2131-2135.
9. Описание распределения неорганических солей в расслаивающихся системах раствор электролита полиэтиленгликоль / В.В Сергиевский, Ж.Е Джакупова, В.М. Шкинев, Б.Я Спиваков // Журн. общ. химии. – 1994. – Т.64, №1. – С. 23-25.
10. Розен А.М. Экстракция в системах с двумя несмешивающимися водными фазами на основе полиэтиленгликоля и соли – фазообразователя как пример равновесий с диссоциацией в обеих фазах / А.М Розен, З.И. Николотова, Н.А. Карташева // Радиохимия. – 1993. – Т.35, №6. – С. 49-62.
11. Розен А.М. Вопросы фазообразования при экстракции металлов в системах полиэтиленгликоль – неорганическая соль – вода. 1. Избранные анионы, способствующие фазообразованию / А.М. Розен, А.М. Сафиулина, В.М. Шкинев // Радиохимия. – 2001. – Т.43, №6. – С. 490-493.
12. Костромина Н. А. Химия координационных соединений: учебник для ВУЗов / Н.А. Костромина. В.Н Кумок, Н.А Скорик. – М.: Высшая школа, 1990. – 432 с.
13. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии / С.С Воюцкий. – М.: Химия, 1975. – 512 с.
14. Алимарин И.П. Демонстрационный эксперимент по общему курсу аналитической химии / И.П. Алимарин, В.И. Фадеева, Е.Н. Дорохова. – М.: Химия, 1974. – 288 с.
15. Крестов Г.А. Термодинамика ионных процессов в растворах / Г.А. Крестов. – Л.: Химия, 1984. – 272 с.
16. Ueberreiter K. Change of water structure by solvents and polymers / K. Ueberreiter // Colloid Polymer Sci. – 1982. – Vol.260, №1. – P. 37-45.
17. Thermodynamic properties of aqueous solutions of macromolecular compounds. I. Solutions of polyethylene glycol and polyacrylamide / A.A. Masimov, B.Yu. Zaslavsky, A.A. Gasanov, S.V. Rogozhin // J. Chromatogr. – 1984. – Vol.284, №2. – P. 337-348
18. Clark A. H. Direct analysis of experimental tie line data (two polymer–one solvent systems) using Flory–Huggins theory / A. H. Clark // Carbohydrate Polymers. – 2000. – V. 42. – P. 337–351.
19. Foroutan M. Quaternary (liquid+liquid) equilibria of aqueous two–phase polyethylene glycol, poly-N-vinylcaprolactam and KH₂PO₄ system: Experimental and generalized Flory–Huggins Theory / M. Foroutan, M. Zarrabi // J. Chem. Therm. – 2008. – V. 40. – P. 935-941.
20. Бектуров Е.А. Синтетические водорастворимые полимеры в растворах / Е.А. Бектуров, З.Х. Бакауова. – Алма-Ата: Наука, 1981. – 149 с.
21. Вопросы фазообразования при экстракции металлов в системах полиэтиленгликоль – неорганическая соль – вода. 2. Бинарная система полиэтиленгликоль – вода / А.М. Розен, А.М. Сафиулина, В.М. Шкинев, В.П. Николаев // Радиохимия. – 2002. – Т.44, №3. – С. 245-247.

References

1. Kirsh Yu.E'. Poli-N-vinilpirrolidon i drugie poli-N-vinilamidy' / Yu.E'. Kirsh. – М.: Nauka, 1998. – 252 s. [in Russian]
2. Sidel'kovskaya F.P. Himiya N-vinilpirrolidona i ego polimerov / F.P. Sidel'kovskaya. – М.: Nauka, 1970. – 150 s. [in Russian]
3. Nikolaev A.F. Vodorastvorimy'e polimery' / A.F. Nikolaev, G.I. Ohrimenko. – L.: Himiya, 1979. – 144 s. [in Russian]
4. Bekturov E.A. Molekulyarny'e kompleksy' polimerov / E.A. Bekturov, R.E'. Hamzamulina, Z.H. Bakauova. – Alma-Ata: Nauka, 1988. – 176 s. [in Russian]

5. Ostroushko A.A. Sistema heptamolibdat ammoniya-polivinilpirrolidon-voda / A.A. Ostroushko, M.YU. Sennikov // Journ. neorgn. himii. – 2003. – Т.48, №4. – С. 655-660. [in Russian]
6. Al'berston P.O. Razdelenie kletochny'h chastic i makromolekul / P.O. Al'berston. – М.: Mir, 1985. – 150 с. [in Russian]
7. Voros N. Liquid-liquid Phase Equilibria of Aqueous 2-Phase Systems Containing Salts And Polyethylene Glycol / N. Voros, P. Proust, A. Fredenslund // Fluid Phase Equilibria. – 1993. – Vol.90. – P. 333-354.
8. Dvuhfazny'e vodny'e sistemy' na osnove polie`tilenglikolya i neorganicheskikh soley / T.I. Nifant'eva, V. Matoushova, Z. Adamcova, V.M. Shkinev // Vy'sokomolek. soed. A. – 1989. – Т.31, №10. – С. 2131-2135. [in Russian]
9. Opisanie raspredeleniya neorganicheskikh soley v rasslaivayusch'ihsysya sistemah rastvor e`lektrolita polie`tilenglikol' / V.V. Sergievskiy, J.E. Djakupova, V.M. SHkinev, B.YA Spivakov // Journ. obsch' himii. – 1994. – Т.64, №1. – С. 23-25. [in Russian]
10. Rozen A.M. E`kstrakciya v sistemah s dvumya nsmeshivayusch'imisya vodny'mi fazami na osnove polie`tilenglikolya i soli – fazoobrazovatelya kak primer ravnovesiy s dissociaciey v obei h fazah / A.M. Rozen, Z.I. Nikolotova, N.A. Kartasheva // Radiohimiya. – 1993. – Т.35, №6. – С. 49-62. [in Russian]
11. Rozen A.M. Voprosy' fazoobrazovaniya pri e`kstrakcii metallov v sistemah polie`tilenglikol' – neorganicheskaya sol' – voda. 1. Izbranny'e aniony', sposobstvuyusch'ie fazaobrazovaniyu / A.M. Rozen, A.M. Safiulina, V.M. SHkinev // Radiohimiya. – 2001. – Т.43, №6. – С. 490-493. [in Russian]
12. Kostromina N. A. Himiya koordinacionny'h soedineniy: uchebnik dlya VUZov / N.A. Kostromina, V.N. Kumok, N.A. Skorik. – М.: Vy'sshaya shkola, 1990. – 432 с. [in Russian]
13. Voyuckiy S.S. Kurs kolloidnoy himii / S.S. Voyuckiy. – М.: Himiya, 1975. – 512 с. [in Russian]
14. Alimarin I.P. Demonstracionny'y e`ksperiment po obsch'emu kursu analiticheskoy himii / I.P. Alimarin, V.I. Fadeeva, E.N. Dorohova. – М.: Himiya, 1974. – 288 с. [in Russian]
15. Krestov G.A. Termodinamika ionny'h processov v rastvorah / G.A. Krestov. – Л.: Himiya, 1984. – 272 с. [in Russian]
16. Ueberreiter K. Change of water structure by solvents and polymers / K. Ueberreiter // Colloid Polymer Sci. – 1982. – Vol.260, №1. – P. 37-45.
17. Thermodynamic properties of aqueous solutions of macromolecular compounds. I. Solutions of polyethylene glycol and polyacrylamide / A.A. Masimov, B.Yu. Zaslavsky, A.A. Gasanov, S.V. Rogozhin // J. Chromatogr. – 1984. – Vol.284, №2. – P. 337-348.
18. Clark A. H. Direct analysis of experimental tie line data (two polymer–one solvent systems) using Flory–Huggins theory / A. H. Clark // Carbohydrate Polymers. – 2000. – V. 42. – P. 337–351.
19. Foroutan M. Quaternary (liquid+liquid) equilibria of aqueous two–phase polyethylene glycol, poly-N-vinylcaprolactam and KH₂PO₄ system: Experimental and generalized Flory–Huggins Theory / M. Foroutan, M. Zarrabi // J. Chem. Therm. – 2008. – V. 40. – P. 935-941.
20. Bekturov E.A. Sinteticheskie vodorastvorimy'e polimery' v rastvorah / E.A. Bekturov, Z.H. Bakauova. – Alma-Ata: Nauka, 1981. – 149 с. [in Russian]
21. Voprosy' fazoobrazovaniya pri e`kstrakcii metallov v sistemah polie`tilenglikol' – neorganicheskaya sol' – voda. 2. Binarnaya sistema polie`tilenglikol' – voda / A.M. Rozen, A.M. Safiulina, V.M. Shkinev, V.P. Nikolaev // Radiohimiya. – 2002. – Т.44, №3. – С. 245-247. [in Russian]

Поступила в редакцию 25 июня 2014 г.

Г. Д. Южно, А. П. Красноперова, В. Д. Трифонов. Фазові рівноваги в системах полі-N-вінілпіролідону – неорганічна сіль – вода.

Досліджено фазові рівноваги в двофазних водних системах на основі полі-N-вінілпіролідону і ряду неорганічних солей (сульфатів натрію, магнію і амонію) з метою вибору оптимальних умов отримання гетерогенних систем для створення ефективних екстракційних систем для виділення та поділу металів. Викорис-

товуючи дані про густину фаз і побудованих бінодалів, розраховані склади співіснуючих фаз в системах полівінілпіролідон – сіль – вода.

Ключові слова: екстракція, гетерогенна система, атермічний ефект, бінодаль, полівінілпіролідон, структурний фактор, фазова діаграма.

G. D. Yukhno, A. P. Krasnopyorova, V. D. Trifonov. Phase equilibrium in systems poly-N-vinylpyrrolidone – inorganic salts – water.

The phase equilibria in aqueous two-phase systems based on poly-N-vinylpyrrolidone and some inorganic salts (sodium, magnesium and ammonium sulphate) has been examined in order to select the optimal conditions for obtaining heterogeneous systems for efficient extraction systems for the isolation and separation of metals. Using data on the density of the phases and binodals compositions of coexisting phases in the polyvinylpyrrolidone – salt – water has been calculated.

Key words: extraction, heterogeneous system, athermal effect binodal, polyvinylpyrrolidone, structure factor, phase diagram.

Kharkov University Bulletin. 2014. № 1123. Chemical Series. Issue 23 (46).

ПРОФЕССОР ОЛЕГ ВАЛЕРЬЕВИЧ ШИШКИН
(29.07.1966 – 17.07.2014)

Уважаемые коллеги! С чувством глубокой горечи сообщаем, что химическая наука понесла невосполнимую утрату – на 48 году жизни скоропостижно скончался известный ученый, доктор химических наук, и. о. генерального директора Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» Национальной академии наук Украины, заведующий отделом рентгеноструктурных исследований и квантовой химии, яркий и неординарный человек – Олег Валерьевич Шишкин.

Олег Валерьевич родился 29 июля 1966 г. в пос. Коломак, Харьковская область, Украина, в 1983 г. с отличием окончил среднюю школу г. Валки (Харьковская обл.), а в 1990 г. – химический факультет Харьковского государственного университета, защитив дипломную работу на тему «Молекулярная и кристаллическая структура дигидроазолопиримидинов». Следует отметить, что выбранному научному направлению исследования молекулярной и кристаллической структуры веществ и их свойств Олег Валерьевич посвятил всю свою жизнь.

После окончания аспирантуры при кафедре органической химии Харьковского государственного университета Олег Валерьевич под руководством проф. С. М. Десенко в 1993 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Молекулярная структура и конформационный анализ азотсодержащих частично гидрированных колец».

После защиты диссертации Олег Валерьевич Шишкин в период с 1994 по 1997 гг. работал научным и старшим научным сотрудником Института элементорганических соединений имени А. Н. Несмеянова РАН в Лаборатории рентгеноструктурного анализа (г. Москва). Во время своей работы в ИНЭОС РАН Олег Валерьевич в 1995 году проходил стажировку в Ноттингемском университете, г. Ноттингем, Великобритания.

В 1997 году, после возвращения в Украину, Олег Валерьевич Шишкин был принят на работу в Институт монокристаллов НАН Украины на должность младшего научного сотрудника, затем – ученого секретаря, и, пройдя с этой научной организацией весь путь ее многочисленных преобразований, в 2011 г. стал генеральным директором Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины.



Докторскую диссертацию на тему «Молекулярная структура и конформационный анализ шестичленных дигидроциклов» Олег Валерьевич Шишкін успешно защитил в 1999 году.

Благодаря своим неординарным организаторским способностям и искренней заинтересованности в научных результатах, он смог успешно совместить эффективную административную работу со столь же эффективной научной деятельностью. Отдел рентгеноструктурных исследований и квантовой химии, который был создан в 1998 г. при активном участии Олега Валерьевича и который он возглавлял все эти годы, не имеет аналогов в Украине и является одним из сильнейших научных подразделений в данной области на просторах СНГ.

Олег Валерьевич Шишкін – признанный специалист в области органической, квантовой и компьютерной химии. Круг его научных интересов был чрезвычайно широк и охватывал актуальные проблемы, касающиеся молекулярной и кристаллической структуры разнообразных соединений и материалов, изучения конформационных характеристик и динамики органических молекул, анализа характера и природы межмолекулярных взаимодействий в молекулярных комплексах и кристаллах. Им был предложен новый подход к анализу супрамолекулярной архитектуры молекулярных кристаллов, который основывается на изучении топологии и энергетики межмолекулярных взаимодействий. Олег Валерьевич активно сотрудничал с учеными из научных институтов и университетов Украины, России, США, Польши, Германии, Франции и других стран мира.

Автор и соавтор более 1000 научных работ О. В. Шишкін входил в двадцатку наиболее цитируемых украинских ученых.

Важное значение Олег Валерьевич придавал популяризации науки в обществе, неоднократно выступал в СМИ с интервью и аналитическими статьями, посвященными вопросам как усовершенствования организации научной деятельности в современных условиях в целом, так и с информацией о конкретных научных достижениях и разработках Комплекса, который возглавлял. Кроме того, одной из главнейших задач считал привлечение к научной деятельности молодежи, поэтому всецело поддерживал молодых ученых в их исследовательской работе, с энтузиазмом и большой самоотдачей занимался преподавательской работой в Харьковском национальном университете им. В. Н. Каразина, подготовкой аспирантов.

Он ушел от нас полный творческих замыслов, созидательной энергии, чрезвычайно эрудированный, высочайшего класса профессионал, увлекающийся и неравнодушный, великого доброго сердца Человек.

Светлая память о нашем любимом друге и соратнике Олеге Валерьевиче Шишкіне никогда нас не покинет, придаст нам силы вынести этот сокрушительный удар судьбы, и вместе с этим – оказаться достойными памяти этого замечательного Человека.

*проф. В. А. Чебанов,
проф. С. М. Десенко*

PROFESSOR OLEG VALERYEVICH SHISHKIN
(29.07.1966–17.07.2014)

Dear colleagues! Chemical community is grieving over the tragic loss of a renowned scientist, Dr. Sc. (Chemistry), Acting General Director of the SSI “Institute for Single Crystals” of National Academy of Sciences of Ukraine, Head of Department of X-ray Diffraction Studies and Quantum Chemistry, an outstanding and most extraordinary man – Professor Oleg Valeryevich Shishkin who passed away at the age of 47.

Professor Oleg Shishkin was born on July 29, 1966 in Kolomak (Kharkiv Region, Ukraine). In 1983 he graduated from Valki (Kharkiv Region) high school with honor, and on 1990 graduated from Kharkiv State University (Department of Chemistry) with diploma thesis devoted to Molecular and Crystal Structure of Dihydroazolopyrimidines. Subsequently, Prof. Oleg Shishkin dedicated his entire life to the study of molecular and crystalline structure and properties of substances.

Upon the completion of the PhD course at the Department of Organic Chemistry of Kharkiv State University under the guidance of Prof. S. M. Desenko in 1993, Oleg Shishkin successfully presented thesis titled “Molecular Structure and Conformation Analysis of Nitrogenous Partially Hydrogenated Rings”.

In 1994-1997, Oleg Shishkin made a career from research associate to senior researcher at the X-ray Structure Analysis Laboratory of the A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds (INEOS) of Russian Academy of Sciences (Moscow). In 1995, during his tenure at the INEOS RAN, Oleg Shishkin took his fellowship at the University of Nottingham (the U.K.).

Upon returning to Ukraine in 1997, Oleg Shishkin continued his research at the Institute for Single Crystals of the National Academy of Sciences of Ukraine at the position of the junior researcher and then as academic secretary. Passing together with the Institute through all the reorganizations and trials, he became in 2011 the Acting General Director of the SSI “Institute for Single Crystals” of the National Academy of Sciences of Ukraine.

In 1999, Oleg Shishkin got his habilitation by successfully presenting thesis titled “Molecular Structure and Conformational Analysis of Hexatomic Dihydrocycles”.

Exceptional organizational skills and genuine commitment to scientific creativity helped him combine the efficient administrative work with equally efficient scientific activities. Founded in 1998 with active participation of and headed by Prof. Oleg Shishkin, the Department of X-ray Diffraction Studies and Quantum Chemistry quickly became a leader in Ukraine and one of the top-notch scientific groups throughout the C.I.S.

Prof. Oleg Shishkin is a renowned expert in organic, quantum and computer chemistry. His scientific interests extended to top hot problems of molecular and crystal structure of most diverse compounds and materials, study of conformational properties and dynamics of organic molecules, analysis of the character and the nature of intermolecular interaction in molecular complexes and crystals. He is the author of the innovative approach to the analysis of supramolecular architecture of molecular crystals that is based on the study of the topology and energy of intermolecular interaction. Prof. Shishkin actively cooperated with scientists representing scientific institutes and universities of Ukraine, Russia, the United States, Poland, Germany, France, etc.

As an author and co-author of over 1,000 papers, Professor Shishkin was one of the Top-20 cited Ukrainian scientists.

Professor Shishkin strongly believed in popularization of science, gave numerous interviews to mass media and wrote a lot of analytical articles dedicated to organizational improvement of scientific activities in contemporary conditions, giving updates on specific scientific achievements and projects of the Institution he was in charge of. In addition, he considered it crucial to involve the youth in scientific activities and, therefore, provided strong assistance to the young researchers, enthusiastically and with ultimate commitment taught at the V. N. Karazin National University of Kharkiv and trained PhD students.

He left us full of creative ideas, creative energy, extremely erudite, high-class professional, enthusiast and caring, a Great Man with a good heart.

Fond memories of Professor Oleg Shishkin – our beloved friend and colleague – will keep on inspiring us and give us strength to overcome this terrible misfortune and become worthy successors of this honorable Man.

Prof. V. A. Chebanov

Prof. S. M. Desenko

ИЗБРАННЫЕ ПУБЛИКАЦИИ / SELECTED PUBLICATIONS

1. Kappe C.O.; **Shishkin O.V.**; Uray, G.; Verdino P. / Synthesis and reactions of Biginelli compounds, part 19 - X-ray structure, conformational analysis, enantioseparation, and determination of absolute configuration of the mitotic kinesin Eg5 inhibitor monastrol // TETRAHEDRON, 2000, Vol. 56, Issue13, pp.1859-1862.

2. **Shishkin O.V.** ; Pelmenschikov A.; Hovorun D.M.; Leszczynski J. / Molecular structure of free canonical 2'-deoxyribonucleosides: a density functional study // JOURNAL OF MOLECULAR STRUCTURE, 2000, Vol. 526, pp. 329-341.

3. **Shishkin O.V.**; Gorb L.; Leszczynski J. Does the hydrated cytosine molecule retain the canonical structure? A DFT study / JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY B, 2000, Vol. 104, Issue: 22, pp. 5357-5361.

4. Sukhanov O.S.; **Shishkin O.V.**; Gorb L.; Podolyan Y.; Leszczynski J. / Molecular structure and hydrogen bonding in polyhydrated complexes of adenine: A DFT study // JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY B, 2003, Vol. 107, Issue: 12, pp. 2846-2852;

5. Nesterov D.S.; Kokozay V.N.; Dyakonenko V.V.; **Shishkin O.V.** Jezierska J.; Ozarowski A.; Kirillov A.M.; Kopylovich M.N.; Pombeiro A.J.L. / An unprecedented heterotrimetallic Fe/Cu/Co core for mild and highly efficient catalytic oxidation of cycloalkanes by hydrogen peroxide // CHEMICAL COMMUNICATIONS, 2006, Issue: 44, pp. 4605-4607.

6. Shishkina S.; **Shishkin O.**; Desenko S.; Leszczynski J. / Conjugation and hyperconjugation in conformational analysis of cyclohexene derivatives containing an exocyclic double bond // THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, A, 2008, 112 (30), pp. 7080-7089.

7. **Shishkin O.** / Evaluation of true energy of halogen bonding in the crystals of halogen derivatives of trityl alcohol // CHEMICAL PHYSICS LETTERS, 2008, 458 (1-3), pp. 96-100,

8. Zubatyuk R.; **Shishkin O.**;Gorb L.; Leszczynski J. // Homonuclear versus heteronuclear resonance-assisted hydrogen bonds: tautomerism, aromaticity, and intramolecular hydrogen bonding

in heterocyclic systems with different exocyclic proton donor/acceptor // THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, A, 2009, 113 (12), pp. 2943-2952.

9. Furmanchuk A.; **Shishkin O.**; Isayev O.; Gorb L. Leszczynski J. / New insight on structural properties of hydrated nucleic acid bases from ab initio molecular dynamics // PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS, 2010, 12 (33), pp. 9945-9954.

10. **Shishkin O.**; Zubatyuk R.; Dyakonenko V.; Lepetit C.; Chauvin R. / The C-Cl π interactions inside supramolecular nanotubes of hexaethynylhexamethoxy[6]pericyclyne // Physical chemistry chemical physics, 2011, 13 (15), pp. 6837-6848.

11. **Shishkin O.**; Dyakonenko V.; Maleev A.; Schollmeyer D.; Vysotsky M. / Columnar supramolecular architecture of crystals of 2-(4-Iodophenyl)-1,10-phenanthroline derived from values of intermolecular interaction energy // CRYSTENGCOMM, 2011, 13 (3), pp. 800-805.

12. Furmanchuk A.; Isayev O.; Gorb L.; **Shishkin O.V.**; Hovorun D.M.; Leszczynski J. / Novel view on the mechanism of water-assisted proton transfer in the DNA bases: bulk water hydration // PHYS.CHEM.CHEM.PHYS., 2011, v. 13, №10, pp. 4311-4318.

13. **Shishkin O.V.**; Dyakonenko V.V.; Maleev A.V. / Supramolecular architecture of crystals of fused hydrocarbons based on topology of intermolecular interactions // CRYSTENGCOMM, 2012, v. 14, №5, pp.1795-1794.

14. **Shishkin O.V.**; Shishkina S.V. / Unusual properties of usual molecules. Conformational analysis of cyclohexene, its derivatives and heterocyclic analogues // Eds. J. Leszczynski and M. K. Shukla. – New York: Springer, 2012. pp. 557-578.

15. **Shishkin Oleg V.**; Medvediev V. V.; Zubatyuk R.I. / Supramolecular architecture of molecular crystals possessing shearing mechanical properties: columns versus layers // CRYSTENGCOMM, 2013, v. 15, №1, pp. 160-167.

16. **Shishkin O.V.**; Dopieralski P.; Omelchenko I.V.; Gorb L.; Latajka Z.; Leszczynski J / Entropy versus aromaticity in the conformational dynamics of aromatic rings // J.MOL.MODEL. 2013, v.19, №10, pp. 40734077.

17. Zubatiuk T.A.; **Shishkin O.V.**; Gorb L.; Hovorun D.M.; Leszczynski J. / B-DNA characteristics are preserved in double stranded d(A)₃·d(T)₃ and d(G)₃·d(C)₃ mini-helices: conclusions from DFT/M06-2X study // PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS, 2013, v. 15, N 41, pp. 18155–18166.

18. Merz K.; Evers M.V.; Uhl F.; Zubatyuk R.I.; **Shishkin O.V.** / Role of CHF₂- and CF₃-substituents on molecular arrangement in the solid state: Experimental and theoretical crystal structure analysis of CH₃/CHF₂/CF₃-substituted benzene // CRYSTAL GROWTH AND DESIGN, 2014, Vol. 14, Issue 6, pp. 3124-3130.

19. Walewski L.; Dopieralski P.; **Shishkin O.V.**; Latajka Z. / Quantum delocalization of benzene in the ring puckering coordinates // INTERNATIONAL JOURNAL OF QUANTUM CHEMISTRY, 2014, Vol. 114, Issue 8, pp. 534-542

20. **Shishkin O.V.**; Zubatyuk R.I.; Shishkina S.V.; Dyakonenko V.V.; Medvediev V.V. / Role of supramolecular synthons in the formation of the supramolecular architecture of molecular crystals revisited from an energetic viewpoint // PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS, 2014, Vol. 16, Issue 14, pp 6773-6786.

ЕТИЧНІ НОРМИ ПУБЛІКАЦІЇ НАУКОВИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ЇХ ПОРУШЕННЯ.

Редакційна колегія робить все можливе для дотримання етичних норм, прийнятих міжнародним науковим товариством, і для запобігання будь-яких порушень цих норм. Така політика є важливою умовою плідної участі журналу в розвитку цілісної системи знань в галузі хімії та суміжних галузях. Діяльність редакційної колегії значною мірою спирається на рекомендації Комітету з етики наукових публікацій (Committee of Publication Ethics), а також на цінний досвід міжнародних журналів та видавництв. Подання статті на розгляд означає, що вона містить отримані авторами нові нетривіальні наукові результати, які раніше не були опубліковані. Кожну статтю рецензують щонайменше два експерти, які мають усі можливості вільно висловити мотивовані критичні зауваження щодо рівня та ясності представлення матеріалу, його відповідності профілю журналу, новизни та достовірності результатів. Рекомендації рецензентів є основою для прийняття остаточного рішення щодо публікації статті. Якщо статтю прийнято, вона розміщується у відкритому доступі; авторські права зберігаються за авторами. За наявності будь-яких конфліктів інтересів (фінансових, академічних, персональних та інших), учасники процесу рецензування мають сповістити редакційну колегію про це. Всі питання, пов'язані з можливим плагіатом або фальсифікацією результатів ретельно обговорюються редакційною колегією, рівно як спори щодо авторства та доцільність роздроблення результатів на невеличкі статті. Доведені плагіат чи фальсифікація результатів є підставами для безумовного відхилення статті.

STATEMENT ON THE PUBLICATION ETHICS AND MALPRACTICE. The Editorial Board has been doing its best to keep the ethical standards adopted by the world scientific community and to prevent the publication malpractice of any kind. This policy is considered to be an imperative condition for the fruitful contribution of the journal in the development of the modern network of knowledge in chemistry and boundary fields. The activity of the Editorial Board in this respect is based, in particular, on the recommendations of the Committee of Publication Ethics and valuable practice of world-leading journals and publishers. The submission of a manuscript implies that it contains new significant scientific results obtained by authors that were never published before. Each paper is peer reviewed by at least two independent experts who are completely free to express their motivated critical comments on the level of the research, its novelty, reliability, readability and relevance to the journal scope. These comments are the background for the final decision about the paper. Once the manuscript is accepted, it becomes the open-access paper, and the copyright remains with authors. All participants of the review process are strongly asked to disclose conflicts of interest of any kind (financial, academic, personal, etc.). Any indication of plagiarism or fraudulent research receives extremely serious attention from the side of the Editorial Board, as well as authorship disputes and groundless subdivision of the results into several small papers. Confirmed plagiarism or fraudulent research entail the categorical rejection of the manuscript.

ЭТИЧЕСКИЕ НОРМЫ ПУБЛИКАЦИИ НАУЧНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ИХ НАРУШЕНИЯ. Редакционная коллегия делает все возможное для соблюдения этических норм, принятых международным научным сообществом, и для предотвращения любых нарушений этих норм. Такая политика является необходимым условием плодотворного участия журнала в развитии целостной системы знаний в области химии и смежных областях. Эта деятельность редакционной коллегии опирается, в частности, на рекомендации Комитета по этике научных публикаций (Committee of Publication Ethics), а также на ценный опыт авторитетных международных журналов и издательств. Представление статьи на рассмотрение подразумевает, что она содержит полученные авторами новые нетривиальные научные результаты, которые ранее нигде не публиковались. Каждую статью рецензируют минимум два эксперта, которые имеют все возможности свободно высказать мотивированные критические замечания относительно уровня и ясности изложения представленного материала, его соответствия профилю журнала, новизны и достоверности результатов. Рекомендации рецензентов являются основанием для принятия окончательного решения о публикации статьи. Статья, в случае принятия к опубликованию, размещается в открытом доступе; авторские права сохраняются за авторами. При наличии каких-либо конфликтов интересов (финансовых, академических, личных и т.д.) участники процесса рецензирования должны сообщить об этом редколлегии. Любые спорные вопросы, связанные с возможным плагиадом или фальсификацией результатов, внимательно рассматриваются редакционной коллегией, равно как споры об авторстве и целесообразность дробления результатов на небольшие статьи. В случае подтверждения плагиада или фальсификации результатов статья безоговорочно отклоняется.

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ. Журнал публікує статті російською, англійською та українською мовами. До публікації приймаються: огляди (за погодженням з редколегією); оригінальні статті, обсяг 6-10 журнальних сторінок; короткі повідомлення, обсяг до 3 журнальних сторінок. Крім звичайного списку літератури, в статті обов'язково повинен бути другий список, всі посилання якого дані латиницею. Правила підготовки цього списку наведені в розділі «Транслітерація» на сайті журналу. Обидва списки повинні бути повністю ідентичні. При рецензуванні статей один з критеріїв - наявність посилань на публікації останніх років. Стаття обов'язково повинна містити резюме російською, українською та англійською мовами. У всіх трьох необхідно вказати назву статті, прізвища авторів і ключові слова. Орієнтовний обсяг резюме - 500 знаків (без урахування заголовку і ключових слів). Редакція приймає електронний (MS Word) і два роздрукованих (для харків'ян) тексту рукопису. Адреси вказані в розділі «Контакти» на сайті журналу. Супровідний лист до статті, виправленої відповідно до зауважень рецензента, повинен містити відповіді на всі зауваження. Подається електронний і один роздрукований (для харків'ян) варіант. Рукописи, які пройшли рецензування, прийняті до публікації і оформлені відповідно до правил для авторів, приймаються у форматі doc (не docx) електронною поштою (chembull@inbox.ru). Роздрукований варіант не потрібен. Докладніша інформація розміщена на сайті журналу <http://chembull.univer.kharkov.ua>.

INFORMATION FOR AUTHORS. Papers in Ukrainian, Russian and English are published. These may be invited papers; review papers (require preliminary agreement with Editors); regular papers; brief communications. In preparing the manuscript it is mandatory to keep the statement on the publication ethics and malpractice, which can be found on the web-site and in each issue. It is desirable that each paper includes abstracts in three languages: English, Russian and Ukrainian. Any style of references is acceptable, but all references within the paper must be given in the same style. In addition, the second, transliterated, list of references is required if at least one original reference is given in Cyrillic. See section "Transliteration" of the web-site for details. Please use papers of previous issues as samples when prepare the manuscript. The MS Word format is used. Standard fonts (Times New Roman, Arial, Symbol) are preferable. Figures and diagrams are required in vector formats. Figure captions are given separately. All figures, tables and equations are numbered. Please use MS Equation Editor or MathType to prepare mathematical equations and ISIS Draw to prepare chemical formulas and equations. The decimal point (not coma) is accepted in the journal. Please avoid any kind of formatting when prepare the manuscript. Manuscripts may be submitted to the Editor-in-Chief via e-mail chembull@inbox.ru. For more detailed information see the journal web-site <http://chembull.univer.kharkov.ua>.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ. Журнал публикует статьи на русском, английском и украинском языках. К публикации принимаются: обзоры (по согласованию с редколлегией); оригинальные статьи, объем 6-10 журнальных страниц; краткие сообщения, объем до 3 журнальных страниц. Помимо обычного списка литературы, в статье обязательно должен быть второй список, все ссылки которого даны латиницей. Правила подготовки этого списка приведены в разделе «Транслитерация» на сайте журнала. Оба списка должны быть полностью идентичны. При рецензировании статей один из критериев - наличие ссылок на публикации последних лет. Статья обязательно должна содержать резюме на русском, украинском и английском языках. Во всех трех необходимо указать название статьи, фамилии авторов и ключевые слова. Ориентировочный объем резюме - 500 знаков (без учета заглавия и ключевых слов). Редакция принимает электронный (MS Word) и два распечатанных (для харьковчан) текста рукописи. Адреса указаны в разделе «Контакты» на сайте журнала. Сопроводительное письмо к статье, исправленной в соответствии с замечаниями рецензента, должно содержать ответы на все замечания. Подается электронный и один распечатанный (для харьковчан) вариант. Прошедшие рецензирование и принятые к публикации рукописи, оформленные в соответствии с правилами для авторов, принимаются в формате doc (не docx) по электронной почте (chembull@inbox.ru). Распечатанный вариант не требуется. Более подробная информация размещена на сайте журнала <http://chembull.univer.kharkov.ua>.

Наукове видання

Вісник
Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна
№ 1123
Серія «Хімія»
Вип. 23 (46)
Збірник наукових праць
Українською, російською та англійською мовами.

Технічний редактор:

А. Б. Захаров

Підписано до друку «3» вересня 2014. Формат 60x84/8.
Ум.-друк. арк. 12,9, Обл.-вид. арк. 11,1.
Тираж 120 пр. Ціна договірна.

61022, Харків, майдан Свободи, 4
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,
Видавництво Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна

Надруковано: ХНУ імені В.Н. Каразіна
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.
Тел.: 705-24-32

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи № 948011 від 03.01.2003