

УДК 547.992.2:543.544

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ФУЛЬВОКИСЛОТ ПРИРОДНЫХ ВОД. I. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФУЛЬВОКИСЛОТ

И. В. Першина, В. М. Вермул, Т. В. Поленова, Е. К. Иванова

(кафедра аналитической химии)

Фульвокислоты (ФК) представляют собой полиэлектролитоподобные полидисперсные структуры кислотного характера, склонные к ассоциации за счет образования водородных связей. По химической природе это высокомолекулярные ароматические оксиполикарбоновые кислоты. Фульвокислоты не индивидуальны соединения, а смесь компонентов, которые могут различаться как по молекулярно-массовым, так и по физико-химическим характеристикам. Поэтому для изучения состояния фульвокислот в водных средах необходимо иметь достоверную информацию об их молекулярно-массовом распределении (ММР), а для разработки методов определения — о факторах, определяющих закономерности изменения спектральных свойств фульвокислот.

Для исследования ММР фульвокислот наиболее широко используется метод гель-хроматографии. Однако многочисленные литературные данные по гель-хроматографии ФК крайне противоречивы [1, 2]. Это связано с тем, что на результаты фракционирования полиэлектролитов, каковыми являются ФК, помимо изменения молекулярной массы существенное влияние оказывают рН, ионная сила элюента и концентрация вводимого образца. Изменение этих факторов может приводить к появлению специфических взаимодействий с гелем, а также влиять на конформационные и агрегационные процессы в растворах ФК. При этом специфические взаимодействия с гелем (водородное связывание и электростатические взаимодействия) и конформационные процессы приводят только к искажению кривой ММР, не влияя на истинный молекулярно-массовый состав ФК, тогда как изменение кривой ММР за счет агрегационных процессов отражает действительное изменение молекулярно-массового состава компонентов фульвокислот. Кроме того, указанные процессы могут протекать одновременно, что создает дополнительные трудности для достоверной интерпретации гель-хроматографических данных при фракционировании фульвокислот.

В связи с изложенным настоящая работа посвящена изучению влияния условий гель-хроматографического разделения (рН, ионная сила, концентрация ФК) на характер ММР фульвокислот с учетом их полиэлектролитных свойств.

Экспериментальная часть. Образцы ФК выделяли из реки Москвы и Ивановского водохранилища адсорбцией на диэтиламиноэтилцеллюлозе с последующим элюированием едким натром. Схема выделения и очистки приведена в [3].

Разделение ФК проводили на хроматографической установке с использованием в качестве УФ-детектора оптической схемы спектрофотометра СФ-4. Оптическую плотность выходящих фракций регист-

рировали при длине волны 250 нм в проточной кварцевой кювете (эф-фективная длина оптического пути 0,7 см, объем 1 мл).

В работе использовали комбинированную хроматографическую колонку, нижнюю половину которой заполняли сефадексом G-50, верхнюю — G-15 (марки *Fine*, фирмы *Pharmacia* (Швеция)). Подготовку сефадексов и загрузку колонки проводили по рекомендациям [4]. Диаметр колонки 1,5 см, высота слоя геля 40 см. Скорость пропускания элюента 1 мл/мин. Растворы ФК наносили на поверхность сефадекса в объеме 0,3–2,0 мл.

Для калибровки колонки использовали салициловую кислоту квалификации «ч.», глюкозу квалификации «ч.», узкие фракции полиэтиленгликолей фирмы *Merck* (ФРГ) со средними молекулярными массами 200, 300, 600, 800, 1000, 1500, 2000, 4000, 6000, 8000, 14 000, 20 000. Объем эксклюзии колонки определяли с помощью голубого декстрана (2 500 000) фирмы *Merck*. Объем выхода полиэтиленгликолей и глюкозы определяли методом перманганатной окисляемости. С этой целью фракции элюата объемом 1 мл собирали в пробирки, в контрольную пробирку вносили 1 мл раствора полиэтиленгликоля или глюкозы, разбавленного в 10 раз по сравнению с наносимым на колонку. В каждую пробирку добавляли по 2 капли 5%-го KMnO_4 и 50%-й H_2SO_4 . Штатив с пробирками помещали в кипящую водяную баню и нагревали до обесцвечивания контрольного раствора (5–10 мин), быстро охлаждали и визуально определяли пробирку с наименее окрашенным раствором. Данная методика отличается простотой и экспрессностью по сравнению с описанной в литературе [5].

Требуемое значение pH в растворах ФК и элюентах создавали растворами HCl и NaOH , ионную силу — с помощью NaCl , Na_2SO_4 и Трис-буфера. Перед фракционированием колонку уравнивали соответствующим элюентом, а в растворе ФК устанавливали необходимое значение pH или ионной силы. pH измеряли стеклянным электродом на потенциометре pH-340.

Результаты и обсуждение. Выделенные препараты фульвокислот представляют собой смесь трех компонентов с молекулярными массами 200, 500 и свыше 20 000 дальтон.

Исследование влияния pH на ММР фульвокислот проводили для обоих препаратов. Результаты приведены на рис. 1 и в таблице. В качестве критерия вклада фракций в ММР принимали процентное соотношение площадей под участками кривой элюирования, соответствующих различным фракциям. Поскольку индикацию ФК проводили спектрофотометрическим методом, то полученные результаты лишь относительно соответствуют реальной доле отдельных фракций из-за существенных различий их спектральных характеристик (части II и III настоящей публикации).

С ростом pH наблюдается заметное увеличение вклада высокомолекулярной фракции и уменьшение низко- и среднемолекулярных фракций в ММР исследуемых ФК. При pH ниже 4 образец не фракционируется и выходит одним максимумом в диапазоне молекулярных масс 100–400. При этом объем выхода низкомолекулярных фракций (V_i) превышает общий объем колонки (V_t), что указывает на наличие в указанных условиях заметной специфической сорбции ФК на сефадексе. Процент сорбирующихся ФК определяли по отношению площади под участком кривой элюирования с $V_i > V_t$ к общей площади под кривой ММР (таблица). С уменьшением pH наблюдается рост сорбции. По-видимому, это связано с образованием водородных связей между

недиссоциированными молекулами ФК ($pK_a=4,3-4,7$) и оксигруппами геля.

При наличии таких специфических взаимодействий высокомолекулярные фракции могут выходить одновременно или позже низкомолекулярных. Кроме того, на наш взгляд, в этой области рН возможна

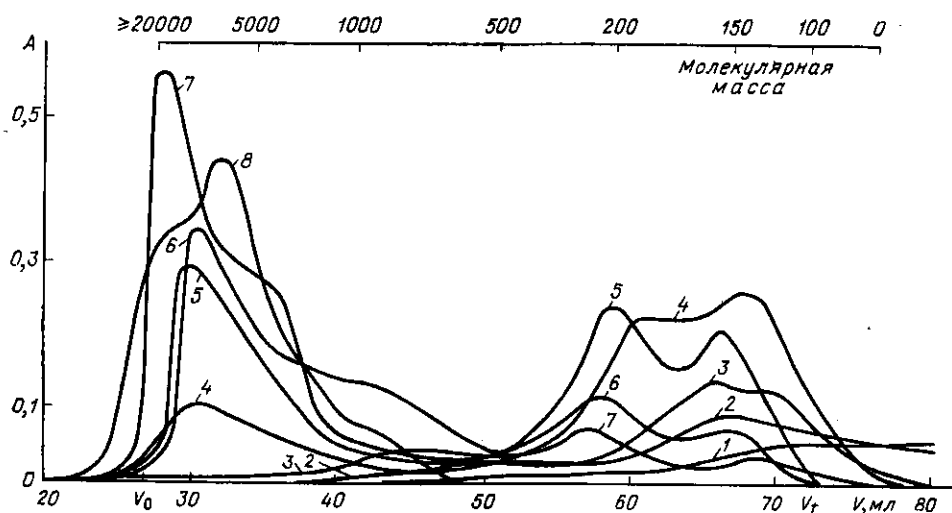


Рис. 1. Зависимость молекулярно-массового распределения фульвокислот от рН: 1 — рН 1,8; 2 — 2,5; 3 — 3,0; 4 — 4,0; 5 — 5,0; 6 — 8,5; 7 — 10,8; 8 — 12,5

также ассоциация молекул ФК за счет образования межмолекулярных водородных связей. В силу сказанного утверждение авторов работ [6, 7, 8] о переходе ФК при рН ниже 3 в мономерную форму представляется некорректным.

Процентный вклад фракций фульвокислот в светопоглощение при различных рН элюирования

рН	Иваньковское водохранилище				Река Москва			
	фракция 1	фракция 2	фракция 3	сорбция	фракция 1	фракция 2	фракция 3	сорбция
1,8	—	—	—	—	—	—	34	66
2,4	—	—	—	100	—	—	—	—
2,5	—	—	—	—	—	—	52	48
2,6	—	—	80	20	—	—	—	—
2,8	—	—	90	10	—	—	—	—
3,0	—	—	100	—	—	—	—	—
3,5	5	5	90	—	—	—	82	18
4,0	7	7	86	—	20	—	77	3
5,0	25	12	63	—	37	35	28	—
6,0	65	10	25	—	—	—	—	—
7,0	82	7	11	—	—	—	—	—
8,5	—	—	—	—	71	20	9	—
9,0	87	3	10	—	—	—	—	—
10,8	—	—	—	—	82	6	12	—
12,5	—	—	—	—	100	—	—	—
13,0	100	—	—	—	—	—	—	—

Наибольшие изменения в ММР фульвокислот происходят в диапазоне рН 5–7. По мере дальнейшего его увеличения высокомолекулярный максимум растет. Аналогичное явление отмечено авторами [7, 9], которые объясняют наблюдаемые процессы ассоциаций ФК с ростом рН. Однако, с нашей точки зрения, более вероятными в области рН 4–8 являются процессы изменения конформаций молекул ФК. До достижения pK_a карбоксильных групп ФК — 4,3–4,7 [10, 11] — их молекулы в растворе имеют конформацию статистических клубков, которая изменяется по мере увеличения рН вследствие электростатического отталкивания ионизованных карбоксильных групп, приводя к увеличению линейных размеров молекул. При гель-хроматографическом фракционировании, основанном на различии в размерах молекул, описанный процесс приводит к возрастанию высокомолекулярного максимума на кривой ММР ФК.

В области высоких значений рН 9–13 на результаты разделения помимо конформационных процессов может оказывать влияние эффект «сверх-экслюзии», так как сефадекс приобретает частичный отрицательный заряд. При этом высокозаряженные полианионы ФК «выталкиваются» матрицей геля. Описанное явление существенно ухудшает эффективность разделения, а также приводит к кажущемуся увеличению молекулярных масс фракционируемых препаратов. В то же время мы не исключаем возможность частичного дезагрегирования ФК в водном растворе за счет разрушения межмолекулярных водородных связей при увеличении рН более 11.

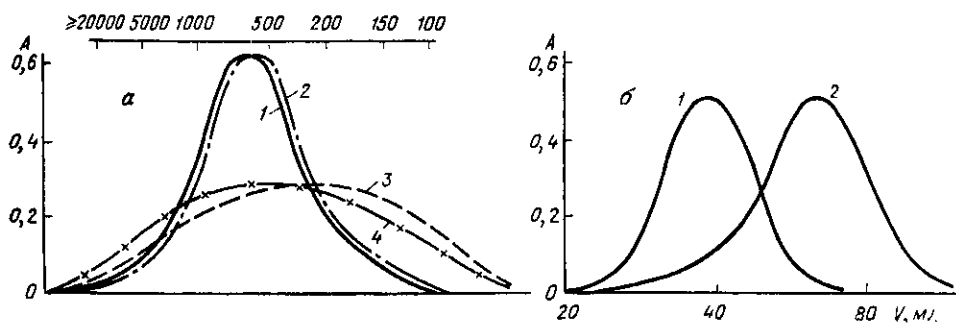


Рис. 2. Гель-хроматограммы фульвокислот, полученные с использованием элюентов с различной ионной силой (а) и с постоянной ионной силой, но с различной величиной рН (б); а — элюент — 1 — 0,01 М NaCl, 2 — 0,1 М NaCl, 3 — 0,01 М Na₂SO₄, 4 — 0,1 М Na₂SO₄; б — элюент — 0,05 М трис-буфер при рН: 1 — 9,0; 2 — 5,0

Помимо рН на ММР фульвокислот существенное влияние оказывает ионная сила. Как видно на рис. 2, а, при введении в раствор ФК низкомолекулярного электролита на кривой элюирования вместо трех получаемых ранее максимумов наблюдается один пологий в диапазоне молекулярных масс 200–1500. По-видимому, такое изменение ММР, как и в случае зависимости от рН, связано с полиэлектролитными свойствами ФК, а именно способностью заряженных полимерных молекул принимать компактные конформации при введении в раствор сильных низкомолекулярных электролитов за счет частичной нейтрализации заряда полианиона [12]. Сдвиг максимума на кривой элюирования в сторону больших молекулярных масс с увеличением рН от 5 до 9 при постоянной ионной силе (рис. 2, б), вероятно, обус-

ловлен конформационными эффектами, как и для бессолевого раствора ФК. Однако в присутствии низкомолекулярных электролитов эти эффекты выражены существенно слабее.

Кривые элюирования, отражающие зависимость ММР фульвокислот от количества вносимого образца, приведены на рис. 3. Увеличение количества от 0,05 до 2 мг приводит к смещению максимумов кри-

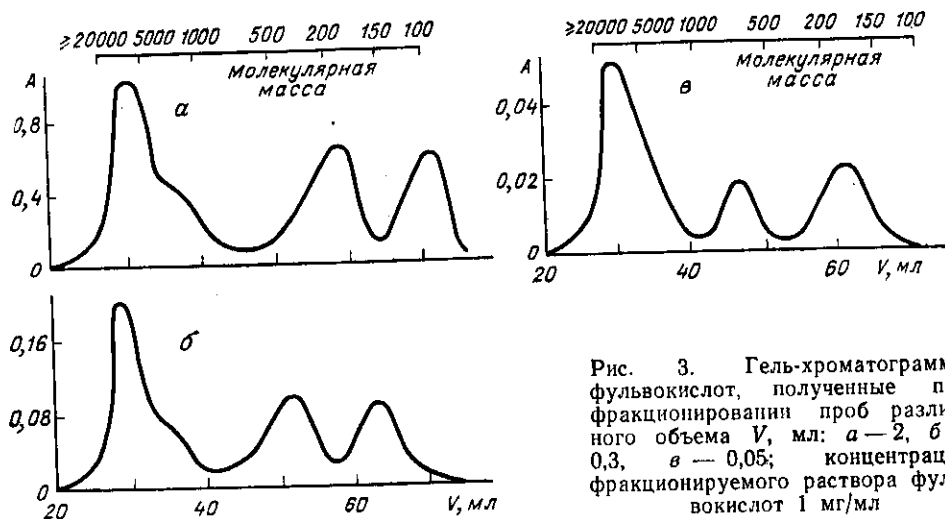


Рис. 3. Гель-хроматограммы фульвокислот, полученные при фракционировании проб различного объема V , мл: а — 2, б — 0,3, в — 0,05; концентрация фракционируемого раствора фульвокислот 1 мг/мл

вой ММР в диапазон меньших молекулярных масс. Полученные данные также согласуются с предположением о существовании молекул ФК в различных конформационных состояниях: разбавление растворов полиэлектролитов приводит к увеличению линейных размеров их молекул.

Таким образом, изучение влияния условий элюирования на характер кривой ММР позволило установить, что ФК в водных растворах проявляют свойства слабокислотных полиэлектролитов. Вследствие этого они могут изменять конформацию в зависимости от условий: при высокой ионной силе и концентрации, а также при низких значениях рН молекулы принимают компактную конформацию, тогда как уменьшение ионной силы и концентрации, а также возрастание рН вызывают увеличение линейных размеров молекул.

Приведенная трактовка найденных в работе закономерностей получила дополнительное подтверждение при более детальном гель-хроматографическом изучении отдельных фракций ФК в совокупности с их спектральным исследованием (части II и III настоящей публикации).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Plechanov N., Josefsson B., Dyrssen D., Lundquist K.//Aquatic and Terrestrial Humic Materials. Michigan, 1983. P. 387. [2] Varney M., Mantoura R. F. C., Whitfield M., Turner D. R., Riley J. P.//Trace metals in Sea water Proceedings of the Nato Conference. Sicily. 1981. P. 751. [3] Иванова Е. К., Першина И. В., Поленова Т. В., Черняк С. М.//ЖАХ. 1986. 41. С. 1256. [4] Детерман Г. Гель-хроматография. М., 1970. 252 с. [5] Унифицированные методы анализа вод/Под ред. Ю. Ю. Лурье. М., 1971. 376 с. [6] Сироткина И. С., Зягудаева Н. С., Варшал Г. М.//Гидрохим. мат. 1973. 57. С. 153. [7] Варшал Г. М., Инцкирвели Л. Н., Сироткина И. С., Колосов И. В., Кошсеева И. Я.//Геохимия. 1975. 10. С. 1581. [8] Варшал Г. М., Махарад-

зе Г. А., Велюханова Т. К., Супаташвили Г. Д. // Химический анализ морских осадков. М., 1980. С. 168. [9] Gjessing E. T. // Schweiz. Z. Hydrol. 1971. 33. P. 592. [10] Gamble D. S. // Can. J. Chem. 1970. 48. P. 2662. [11] Gamble D. D. // Can. J. Chem. 1972. 50. P. 2680. [12] Ghosh K., Schnitzer M. // Soil. Sci. 1980. 129. P. 226.

Поступила в редакцию
21.12.87

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 2. ХИМИЯ. 1989. Т. 30, № 2

УДК 547.1'13+541.14

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОХИМИЧЕСКОГО РАЗЛОЖЕНИЯ РТУТЬОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ В МЕТАНОЛЕ

К. П. Бутин, Т. В. Магдесиева, Н. Н. Фатеев, О. А. Реутов
(кафедра органической химии)

Действие УФ-света на металлорганические соединения в растворах было впервые исследовано Г. А. Разуваевым и Ю. А. Ольдеком на примере ртутьорганических соединений (РОС) [1]. Было показано, что РОС в растворе при иницирующем действии УФ-света утрачивают свойственную им в обычных условиях инертность по отношению к органическим галогенидам, ароматическим углеводородам, эфирам, спиртам и т. п. и претерпевают гомолитический распад [1]. В работах школы акад. Г. А. Разуваева был тщательно изучен состав продуктов этих реакций, а также влияние на него различных добавок (например, дейтерированных соединений) и на основании этих данных сделаны выводы о механизме фотолиза. Однако в этих работах, как и в большинстве других (см. [2]), фотохимические реакции металлорганических соединений рассматривали только как синтетические методы, количественные же фотохимические исследования, связанные с актинометрией, определением квантового выхода, порядка реакции, исследованием сенсбилизаторов, практически не ведутся.

Цель работы — получение количественных данных по фотохимическому поведению σ -металлорганических, а именно ртутьорганических, соединений под действием УФ-облучения, причем ставилась задача — найти связь между строением РОС и кинетическими фотохимическими параметрами.

Было исследовано поведение 17 ртутьорганических бромидов и хлоридов бензильного и арильного типа при облучении ртутной лампой СДРТ-400 в метанольном растворе. Концентрация РОС составляла от $5 \cdot 10^{-3}$ до $7,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Реакцию проводили в отсутствие кислорода воздуха, который удаляли из растворов с помощью вакуумной линии. За ходом реакций следили полярографически, снимая полярограммы проб, отобранных через определенные промежутки времени. На полярограммах РОС наблюдали две одноэлектронные диффузионные волны, высота которых, как было установлено ранее [3], пропорциональна концентрации $RHgX$, поэтому концентрацию определяли по величине предельного диффузионного тока. Поскольку первая волна наблюдается при довольно небольших потенциалах ($E_{1/2} = -0,1 \div -0,3$ В), то продукты реакции (например, RX) не мешают определению. Облучение проводили в стандартной кварцевой пробирке объемом 15 мл, помещенной на расстоянии 11 см от источника излучения. Изученные нами бензильные РОС имели один или два максимума поглощения в области 208–214 и 240–260 нм, а фенильные — два мак-