

ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 543.854.15

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ГИДРОКСИЛЬНЫХ ГРУПП В НЕФРАКЦИОНИРОВАННЫХ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТАХ

Н.Н. Данченко, И.В. Перминова, Т.Г. Капланова, В.С. Петросян

(кафедра органической химии)

Ранее описанная методика определения общего содержания гидроксильных групп в фульвокислотах, основанная на ацилировании с последующей переэтерификацией и газо-хроматографическим анализом, адаптирована для анализа нефракционированных препаратов гумусовых кислот. Правильность методики подтверждена совпадением расчетных и экспериментальных значений содержания гидроксильных групп в салициловой кислоте.

Комплексообразование гумусовых кислот (ГК) с тяжелыми металлами (ТМ) является одним из основных факторов, влияющих на поведение этого класса токсикантов как в водной, так и в почвенной среде, в значительной степени определяя их миграционную подвижность и способствуя повышению буферности среды по отношению к ТМ [1 — 3]. Столь важная роль ГК в биосфере обуславливает необходимость изучения их структуры и оценки потенциальной комплексообразующей способности. Основные центры связывания в полифункциональных молекулах ГК образованы карбоксильными и гидроксильными группами [1, 3, 4]; следовательно, для оценки комплексообразующей способности ГК необходимы количественные данные о содержании в них указанных групп. Карбоксильные и наиболее кислые фенольные группы хорошо реагируют со щелочами, что позволяет определять их содержание титриметрическими методами [1, 4 — 6]. Количество гидроксильных групп в ГК можно оценить лишь с помощью алкилирования либо ацилирования с последующим гидролизом дериватов и определением выделяющегося низкомолекулярного вещества [4, 5, 7, 8]. Ацилирование ГК уксусным ангидридом в пиридине в классическом варианте, изложенном Шнитцером [4], — весьма трудоемкая процедура, включающая длительные стадии сушки продуктов ацилирования и отгонки уксусной кислоты из реакционной смеси после гидролиза дериватов. Кроме того, данная методика дает плохую воспроизводимость и требует больших количеств ГК. Основным недостатком другого метода — метилирования диметилсульфатом в водной щелочи (либо в ацетоне в присутствии поташа) [5] — является возможность частичной деструкции ГК и побочных реакций. Авторами [8] предложена методика ацетилирования, в которой стадии сушки ацилированных образцов и дистилляции смеси после гидролиза заменены переэтерификацией уксусной кислоты бутанолом, а титрование — газо-хроматографическим определением образовавшегося бутилацетата. Указанные усовершенствования позволяют существенно сократить как время анализа, так и требуемое для определения количество вещества. Данные обстоятельства делают методику особенно привлекательной для анализа большого количества образцов ГК. Однако указанный способ определения гидроксильных групп был

разработан для образцов водных фульвокислот, отличающихся низкой молекулярной массой. О его применимости для анализа высокомолекулярной фракции ГК — гуминовых кислот и нефракционированных препаратов авторы [8] не сообщают. В то же время для идентификации ГК почв и торфов необходима универсальная методика, позволяющая анализировать как фульво-, так и гуминовые кислоты.

В связи с изложенным целью представленной работы было выяснение возможности применения метода ацетилирования с последующей переэтерификацией для определения общего содержания гидроксильных групп в нефракционированных препаратах ГК.

Экспериментальная часть

Материалы. Используемые в работе препараты ГК представляли собой сумму гуминовых и фульвокислот, выделенную по модифицированной методике [9] из семи образцов торфа различного происхождения и геоботанического состава. С целью сохранения водорастворимой фракции ГК была опущена начальная стадия обработки торфа горячей водой. Согласно выбранной методике измельченный торф обрабатывали смесью бензол — этанол (1:1), высушивали при температуре 40 — 60° и экстрагировали 0,1 М NaOH. Щелочной экстракт обессоливали пропусканием через катионит КУ-2-8 в Н-форме и упаривали на роторном испарителе с последующим высушиванием до постоянного веса в эксикаторе над P₂O₅. Элементный состав выделенных препаратов ГК приведен в табл. 1.

Подготовка реагентов. Уксусный ангидрид квалификации «ч.» кипятили с обратным холодильником над прокаленным ацетатом натрия и перегоняли [10]. Пиридин сушили над КОН и перегоняли над ВаО [10]. Бутанол-1 кипятили и перегоняли над СаО [11]. Гексан чистили встряхиванием с концентрированной серной кислотой, промывали водным раствором NaHCO₃ (10 %), затем дистиллированной водой, сушили над безводным прокаленным Na₂SO₄ и перегоняли. О чистоте подготовленного растворителя судили по отсутствию пиков примесей на хроматограмме сконцентрированного в 10 раз образца. Толуол и бутилацетат очищали перегонкой.

Таблица 1

Элементный состав выделенных препаратов ГК

Номер образца	Содержание, %				Зольность, %
	C	H	N	O	
1	39,6	5,0	2,0	51,0	11,1
2	49,4	4,9	2,3	43,4	3,0
3	50,2	4,8	1,1	43,9	3,3
4	50,2	4,9	1,9	43,0	4,1
5	50,1	4,8	2,1	43,0	1,4
6	50,7	4,7	2,5	42,1	2,1

Методика определения общего числа гидроксильных групп

1. Ацилирование ГК. Навеску ГК (5 — 10 мг) помещали в стеклянную ампулу с длинной трубкой, добавляли по 0,5 мл пиридина и уксусного ангидрида и закрывали под вакуумом. Ампулу несколько минут встряхивали в руках и помещали в сушильный шкаф с температурой 80° на 12 ч, затем вскрывали и содержимое упаривали на песчаной бане при температуре 80° в токе аргона. Следы пиридина, уксусного ангидрида и образовавшейся уксусной кислоты удаляли, подсоединив ампулу к вакуумной установке (10⁻² мм рт. ст.) и нагревая на водяной бане с температурой 60°.

2. Бутанолиз. В ампулу с ацилированным и очищенным от следов реагентов образцом вносили 1 мл бутанола и 50 мкл концентрированной серной кислоты. Ампулу запаивали, встряхивали и выдерживали в сушильном шкафу при температуре 100° в течение 12 ч. Затем ампулу вскрывали и содержимое переносили в делительную воронку с 10 мл гексана, туда же добавляли 1 мл раствора толуола в гексане в качестве внутреннего стандарта и 10 мл 0,1 М NaOH. Воронку встряхивали, отделяли и отбрасывали водную фазу, а органическую промывали еще одной порцией щелочи.

Экстракт сушили, пропуская через маленькую колонку с безводным Na₂SO₄ и анализировали газо-хроматографически.

3. Газо-хроматографическое определение проводили при помощи хроматографа Varian-3000 с пламенно-ионизационным детектором и делителем потока. Использовали капиллярные кварцевые колонки размером 25 м × 0,30 мм с неподвижной фазой SE-30. Условия хроматографирования: расход газа-носителя (He) 1,0 см³/мин, вспомогательного газа — 25 см³/мин, водорода — 40 см³/мин, воздуха — 350 см³/мин. Температура испарителя хроматографа 280°, детектора — 280°, нагрев термостата колонок программировался от 35 до 150°. Исходную температуру (35°) выдерживали в течение 2 мин, затем проводили нагрев со скоростью 10 град/мин до 150°. Объем вводимой пробы 1 мкл.

Калибровку проводили по пяти стандартным растворам с различным соотношением толуол:бутилаце-

тат. Значение калибровочного фактора рассчитывали по формуле

$$F = \frac{V_{\text{BuOAc}}}{S_{\text{BuOAc}}} \cdot \frac{S_{\text{int.st}}}{V_{\text{int.st}}}$$

где V_{BuOAc} и $V_{\text{int.st}}$ — количества бутилацетата и внутреннего стандарта в калибровочной смеси, моль;

S_{BuOAc} и $S_{\text{int.st}}$ — соответствующие площади пиков на хроматограмме, усл. ед.

Для выбранных условий определения величина F составила 1,47 + 0,01.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе работы была предпринята попытка определить общее содержание гидроксильных групп в выделенных образцах торфяных ГК, следуя методике ацилирования, изложенной в работе [8]. Однако уже при переходе ко второй стадии анализа выяснилось, что маслянистые продукты ацилирования невозможно количественно перенести из реакционной ампулы в емкость для отгонки избытка реагентов, как того требует методика. Дополнительно вносимые растворители (гексан или бензол) также не смывают дегидратированные ГК. Следовательно, полнота определения гидроксильных групп в нефракционированных ГК не может быть достигнута при использовании такого варианта методики.

В связи с этим было решено внести в аппаратурное оформление методики следующие изменения: во-первых, проводить обе синтетические стадии анализа в одной емкости, используя для этого ампулы с длинной трубкой, позволяющей запаивать их дважды; во-вторых, удалять избыток реагентов после ацилирования упариванием на песчаной бане в токе аргона, а затем вакуумированием при нагревании на водяной бане. Такой вариант оформления методики позволяет исключить две стадии переноса продуктов реакции из емкости в емкость и гарантирует 100 %-е введение ацилированных продуктов в реакцию перэтерификации. Кроме того, предложенный способ отгонки реагентов после стадии ацилирования обеспечивает более полное их удаление, чем упаривание на роторном испарителе. Последнее обстоятельство имеет особую важность, поскольку следы уксусного ангидрида и образовавшейся кислоты вносят положительную ошибку в определение. Так, согласно нашему предположению, аномально высокое значение общего числа гидроксильных групп (13 экв/г), полученное авторами методики, по сравнению с приводимыми в других работах (0,5 — 10 экв/г) [1, 4 — 6, 12, 13], возможно, объясняется неполной отгонкой следов реагентов после первой стадии анализа, а не большей глубиной протекания реакции ацилирования по сравнению с титрованием.

Помимо вышеуказанных изменений в качестве внутреннего стандарта вместо бутилпропионата использовали толуол, внося его в виде гексанового раствора на стадии экстракции.

Для проверки правильности методики с внесенными в нее изменениями необходимо было провести определение содержания гидроксильных групп в индивидуальном веществе с известной структурой. Для этой цели была использована салициловая кислота, содержание гидроксильных групп в которой составляет $7,24$ мэкв/г. Полученное значение $7,6 \pm 0,4$ мэкв/г хорошо согласуется с теоретическим.

Однако следует отметить, что при определении общего содержания гидроксильных групп ацилированием в пиридине для нефракционированных образцов ГК может происходить некоторое занижение значения вследствие малой растворимости ГК в смеси пиридин — уксусный ангидрид и протекания реакции в гетерофазной системе. Недоопределение наиболее вероятно для образцов с высоким содержанием золы, характеризующихся пониженной растворимостью в органических растворителях.

Согласно усовершенствованной нами методике было проведено определение общего содержания гидроксильных групп в выделенных образцах торфяных ГК. Результаты анализа приведены в табл. 2.

Таблица 2

Общее содержание гидроксильных групп в выделенных образцах торфяных ГК

Номер образца	1	2	3	4	5	6	7
Содержание ОН-групп, мэкв/г	$2,4 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,8$	$3,5 \pm 0,2$	$9,9 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,9$	$6,9 \pm 0,6$	$4,0 \pm 0,5$

* В пересчете на беззольный препарат.

Как видно из таблицы, ГК, выделенные из различных торфов, существенно различаются по содержанию гидроксильных групп, хотя, как показали другие эксперименты, данные образцы имеют близкие характеристики, что, возможно, объясняется различной степенью разложения исходных торфов. Вероятно, чем выше степень разложения, тем больше количество углеводных фрагментов, вошедших в состав макромолекулы ГК, и, следовательно, общее содержание гидроксильных групп: например, 3-й и 7-й образцы торфа характеризуются 20 %-й степенью разложения (3,5 и 4 мэкв/г ОН-групп), а 5-й и 6-й — 50 — 55 %-й (6,4 и 6,9 мэкв/г ОН-групп). К сожалению, мы не располагали аналогичными данными для остальных образцов торфа и поэтому не могли проверить, является ли общей указанная тенденция. Низкое значение общего содержания гидроксильных групп для первого образца может быть объяснено двумя причинами: его гипер-

окисленностью, о чем свидетельствуют данные элементного анализа (табл. 1), и занижением результата вследствие высокой зольности. В целом полученные значения согласуются с данными других авторов. Так в работах Шнитцера с сотр. [12, 13] приведено содержание (3,2 — 5 и 9 — 10 мэкв/г) гидроксильных групп для нефракционированных ГК различных профилей подзолистых почв (данные получены согласно методике [4]). Тищенко и Рыдалевская [14] методом метилирования определили содержание гидроксильных групп в ГК черноземных ($7,12$ — $7,49$ мэкв/г) и торфяно-болотных ($7,0$ мэкв/г) почв. Довольно большой разброс данных для 2-го, 5-го и 7-го образцов, возможно, обусловлен недостаточно тщательной гомогенизацией исходного сухого препарата перед ацилированием.

Таким образом, можно сделать вывод, что внесенные описанные модификации в аппаратное оформление позволяет применять методику ацилирования с последующей переэтерификацией для определения общего содержания гидроксильных групп в нефракционированных препаратах ГК, исключая образцы с высоким содержанием зольных компонентов.

Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику кафедры органической химии химического факультета МГУ Демьянову П.И. за консультации и помощь в проведении работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного научного фонда (ISF), грант NBN 000.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., MacCarthy P. (Eds.) Humic substances in soil, sediment and water. N.Y., 1985.
- Bollag J.-M., Myers K. // Sci. Total Environ. 1992. 117/118. P. 357.
- Линник П.Н., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. Л., 1986.
- Schnitzer M., Khan S.U. Humic substances in the environment. N.Y., 1972. P. 37.
- Stevenson F.J. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. N.Y., 1982. P. 221.
- Brunelot J., Adrian P., Rouiller J., Guinlet B., Andreux F. // Chemosphere. 1989. 19. P. 1415.
- Драгунов С.С. // Труды почв. инст. им. Докучаева. 1951. 38. С. 86.
- Ephraim J.H., Boren H., Arsenie I., Pettersson C., Allard B. // Sci. Total Environ. 1989. 81/82. P. 615.
- Lowe L.E. // Sci. Total Environ. 1992. 113. P. 133.
- Органикум. М., Т. 2. 1979. С. 372, 367.
- Riddick J.A., Bunger W.B. // Organic solvents. N.Y., 1970. P. 654.
- Schnitzer M., Desjardings J.C. // Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 1962. 26. P. 362.
- Wright J.H., Schnitzer M. // Nature. 1959. 184. P. 1462.
- Тищенко В.В., Рыдалевская М.Д. // ДАН СССР. 1936. 4. С. 234.

Поступила в редакцию 26.03.96