

Препаративное фракционирование гуминовых веществ методом гель-проникающей хроматографии

Беляева Елена
аспирантка 3-го г/о

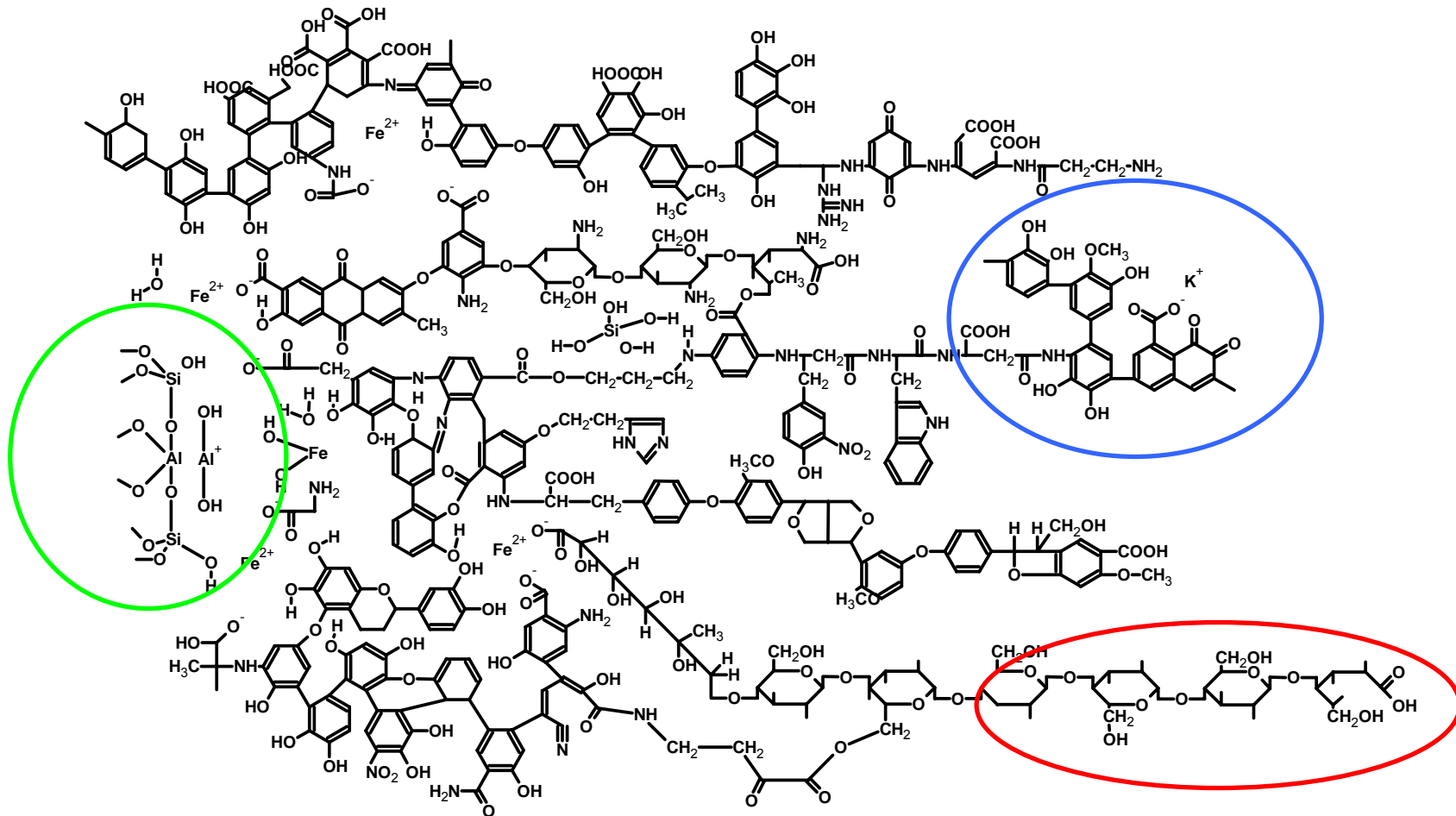


Universität Karlsruhe (TH)
Forschungsuniversität · gegründet 1825

Engler-Bunte-Institut,
Bereich Wasserchemie



Гипотетический структурный фрагмент ГВ (Kleinhempel, 1970)

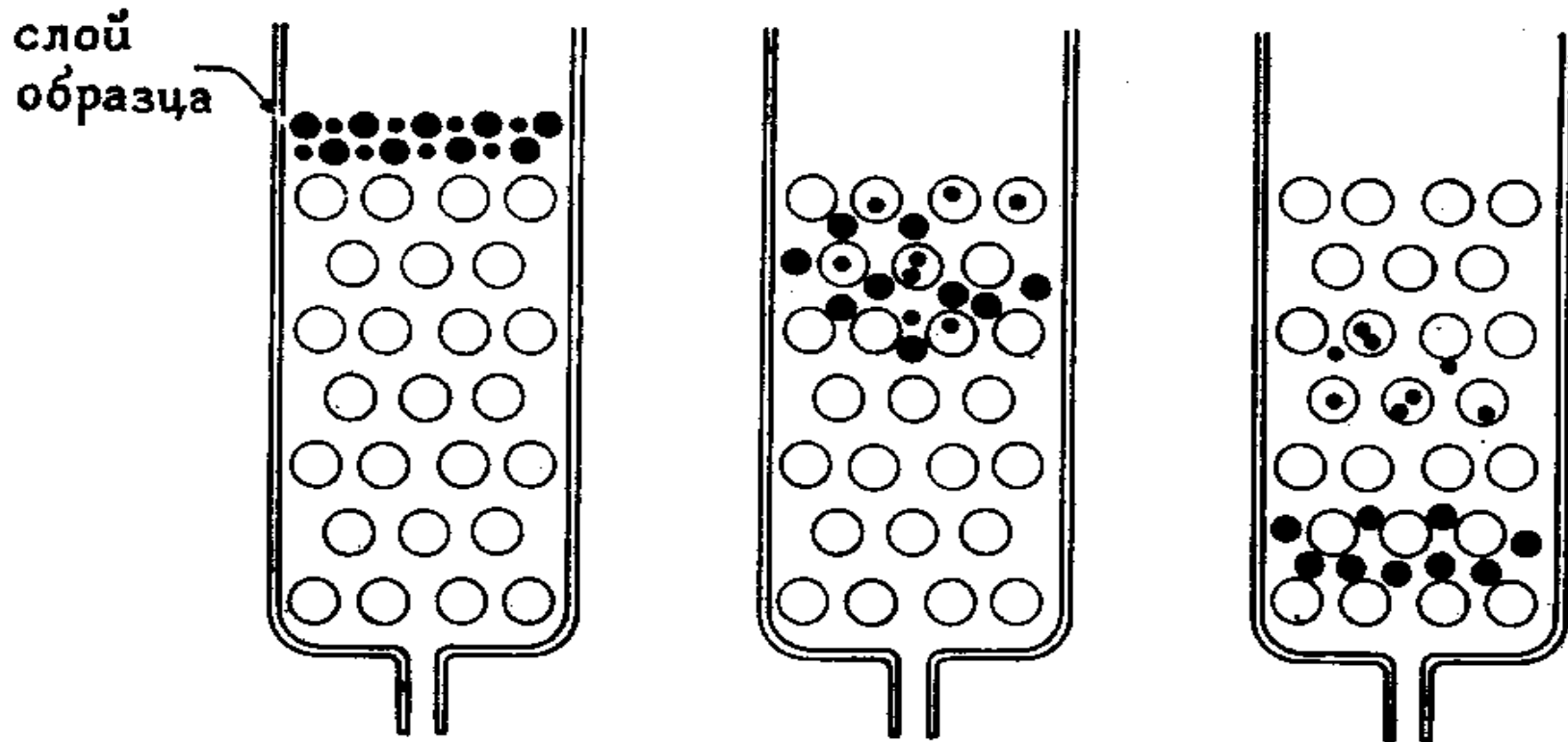


Цели работы

- Выбор условий гель-хроматографического фракционирования гуминовых веществ
- Препаративное фракционирование ГВ по молекулярным массам методом ГПХ
- Расчет молекулярно-массовых характеристик для установления взаимосвязи «молекулярная масса-структура» и классификационного анализа



Принцип метода ГПХ



- частица геля
- молекулы, меньшие, чем поры геля
- молекулы, большие, чем поры геля



Список используемых препаратов

Препарат	Источник
HO12 K	Brown water, Germany, 1996
Alb5 K	Sewage treatment plant (STP) effluent, Germany, 2001
PHF T5 98	Peat humic substances, Russia, 1998
SR DOM	IHSS Standard, Suwannee River
PHA T5 98	Peat humic acid, Russia, 1998
SR HA	IHSS Standard Humic acid
SR FA	IHSS Standard Fulvic acid



Гель-хроматограммы используемых препаратов (TSK 55s)

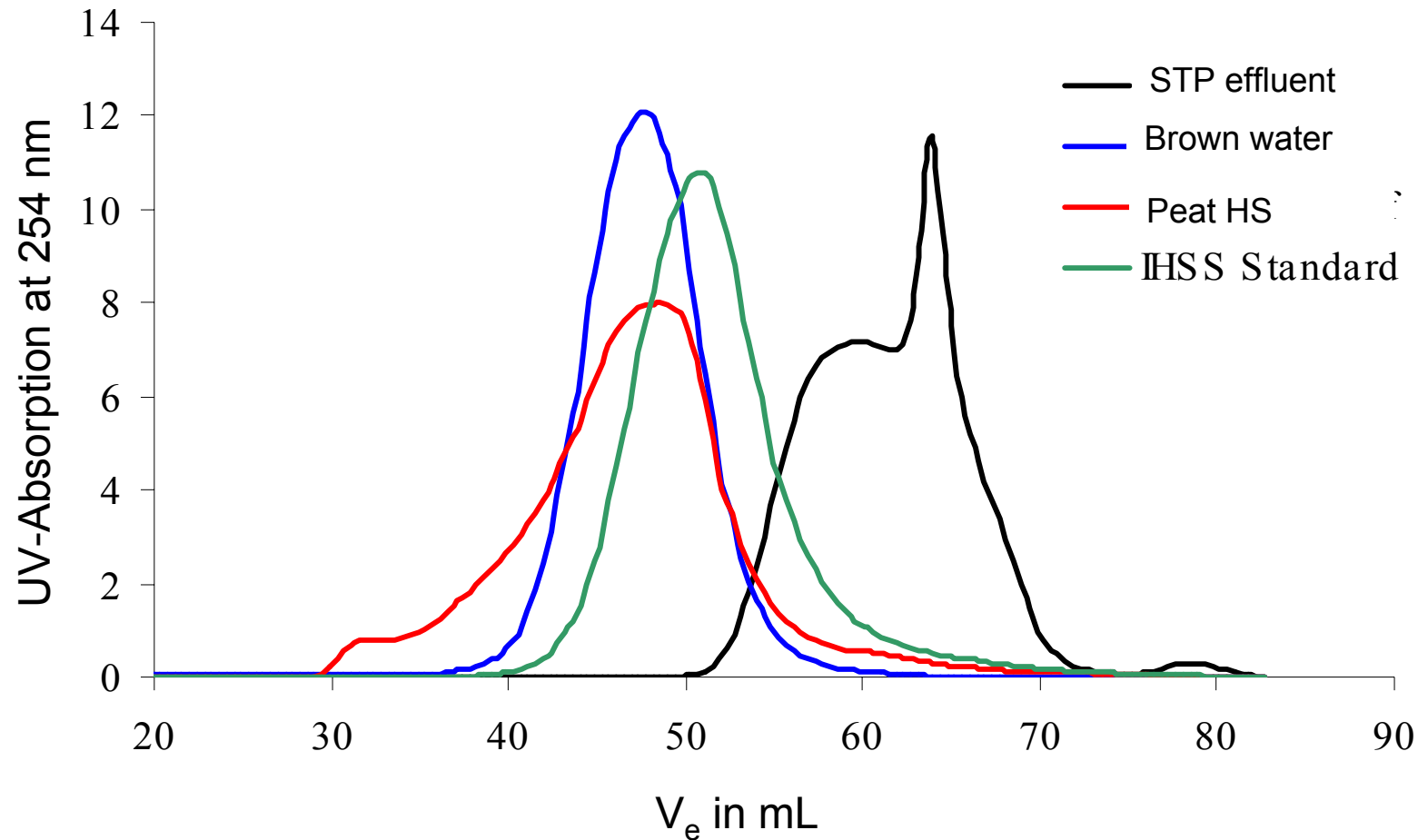
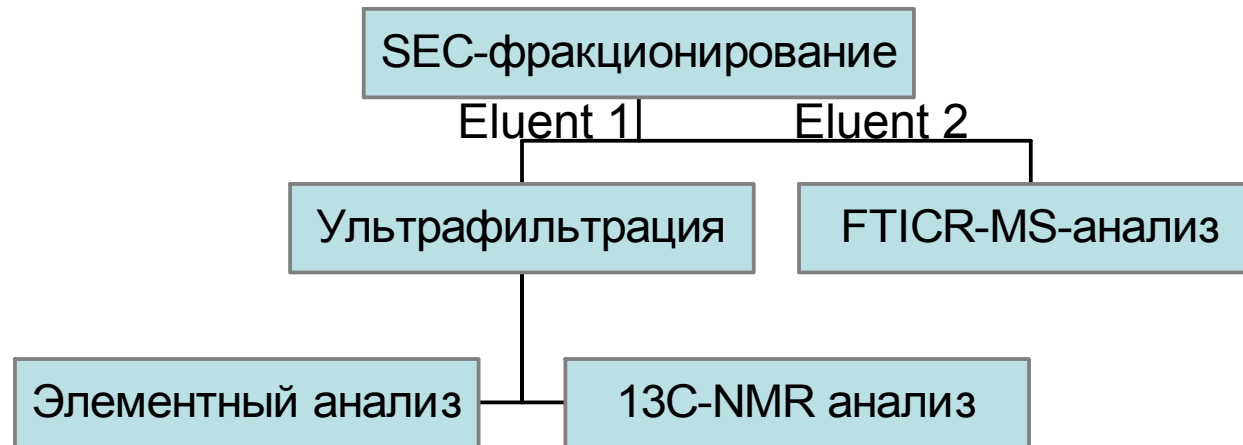


Схема эксперимента



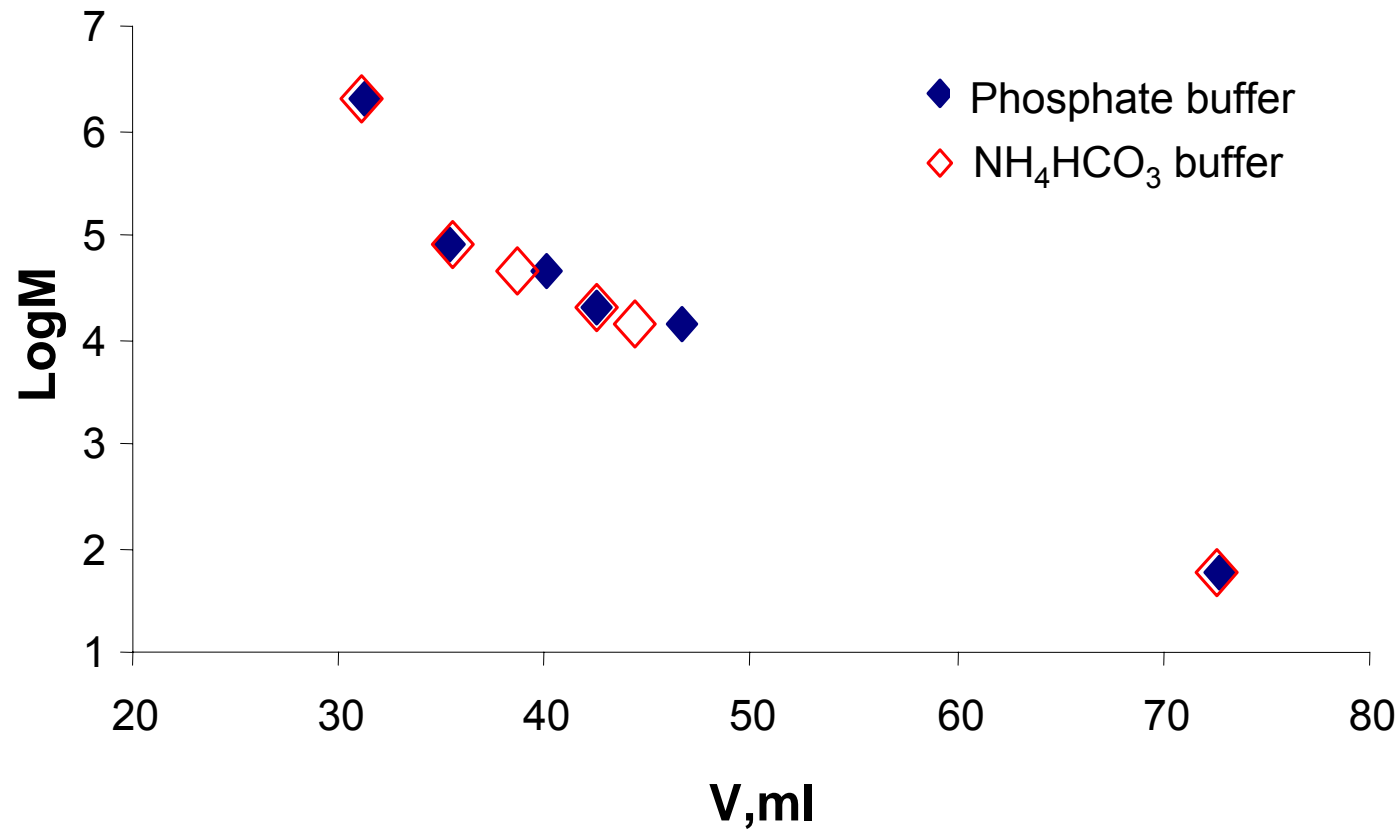
Условия эксперимента

Preparative HPLC-System Akta Explorer 100 with automated fraction collector (Amersham Pharmacia Biotech)

- Column:** Toyopearl TSK HW-55S
gel material: hydroxylated polymetacrylic polymer
particle size: 20-40 μm ; pore size: 50 nm
separation range:
150,000-100 g/mol (PEG),
700,000-1,000 g/mol (globular proteins),
- Eluent 1:** 0.03 mol/L phosphate buffer, pH=6.8
- Eluent 2:** 0.03 ammonium bicarbonate, pH=9.2
- Flowrate:** 1 ml/min
- Detection:** UV/Vis-Absorption ($\lambda = 254 \text{ nm}, 436 \text{ nm und } 203 \text{ nm}$);
conductivity, pH-measurement

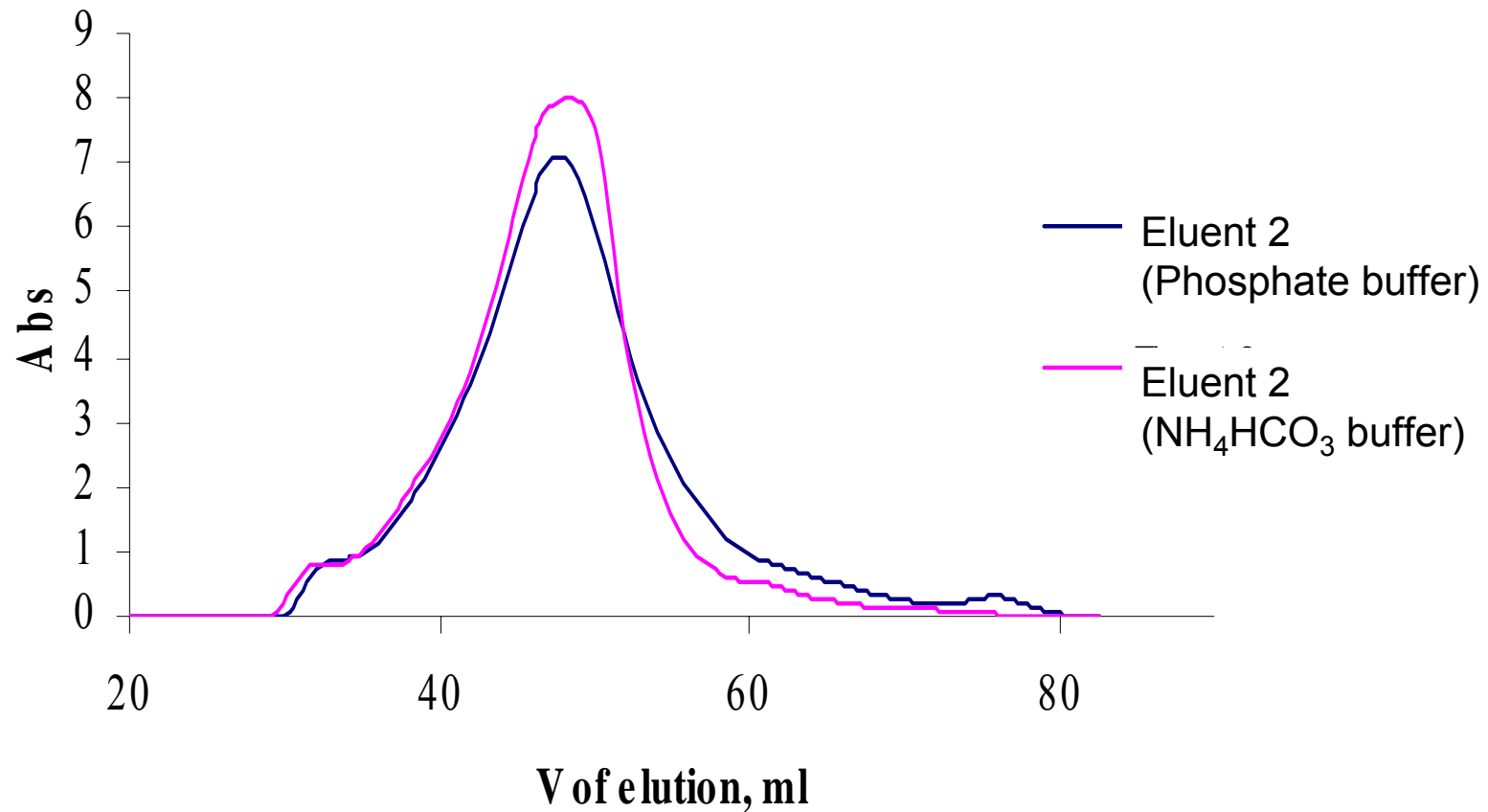


Калибровка колонки с использованием полистиролсульфонатов

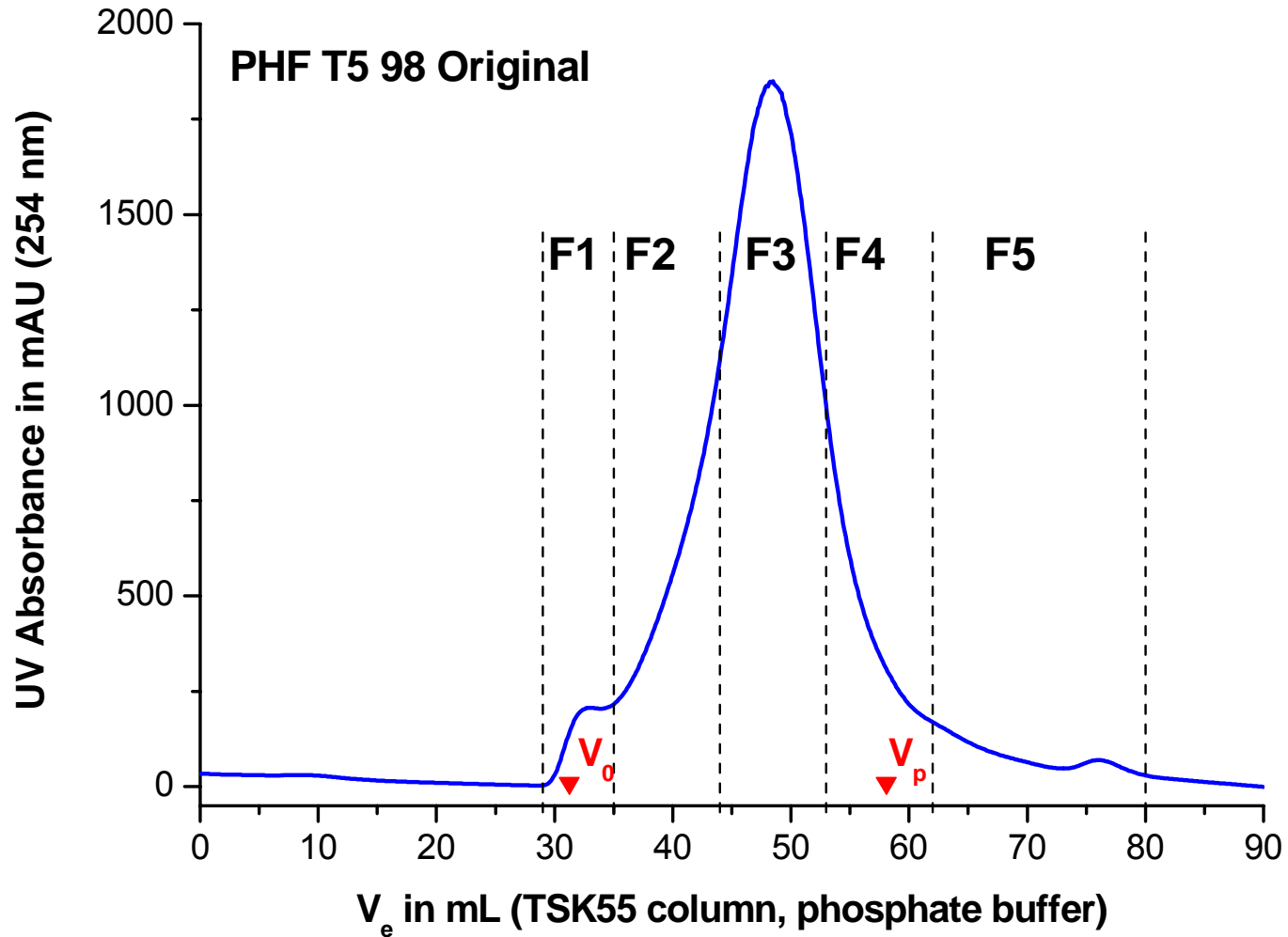


Влияние состава элюента на профили хроматограмм ГВ

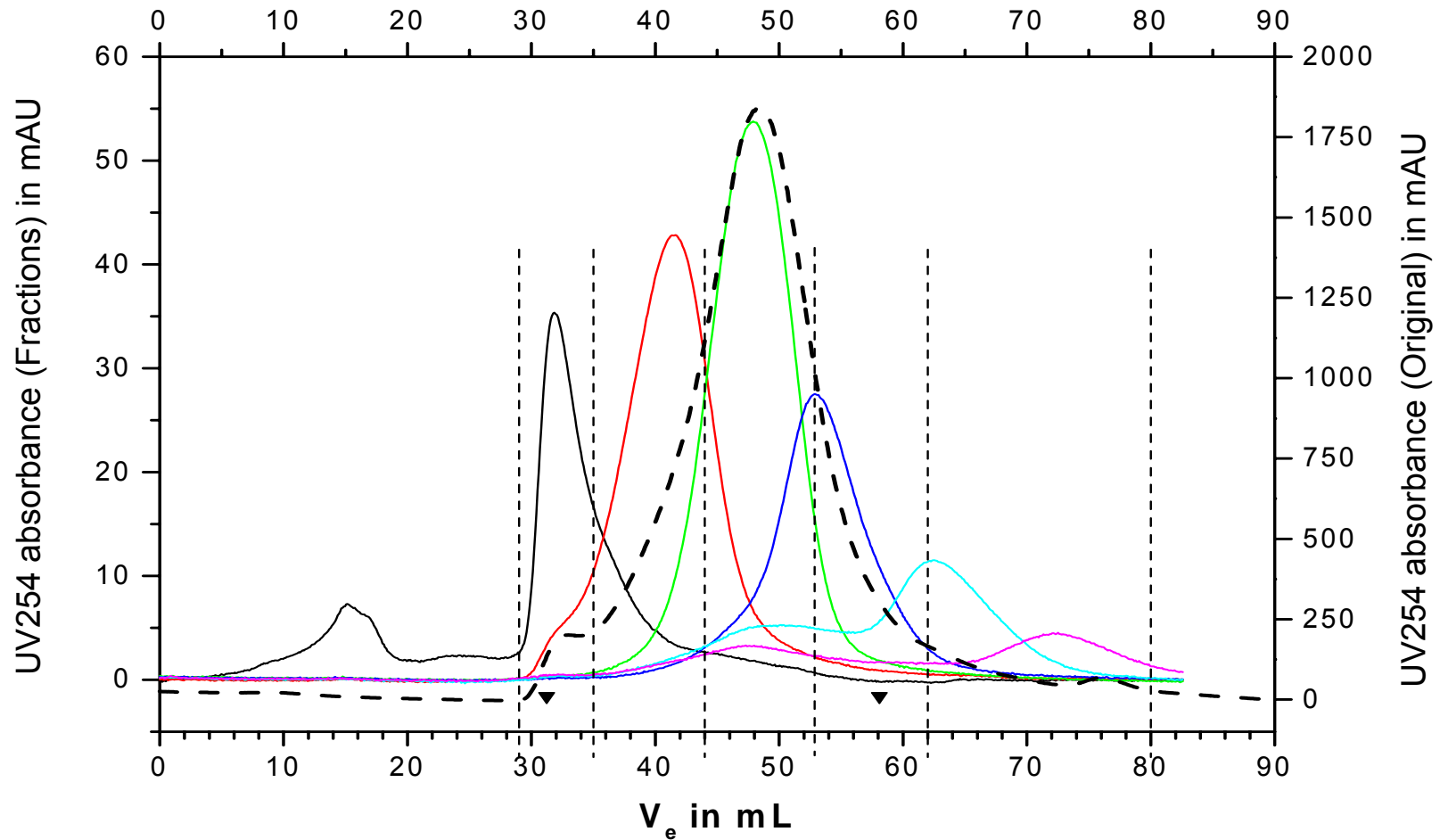
PHF T5 98



Фракционирование PHF T5 98

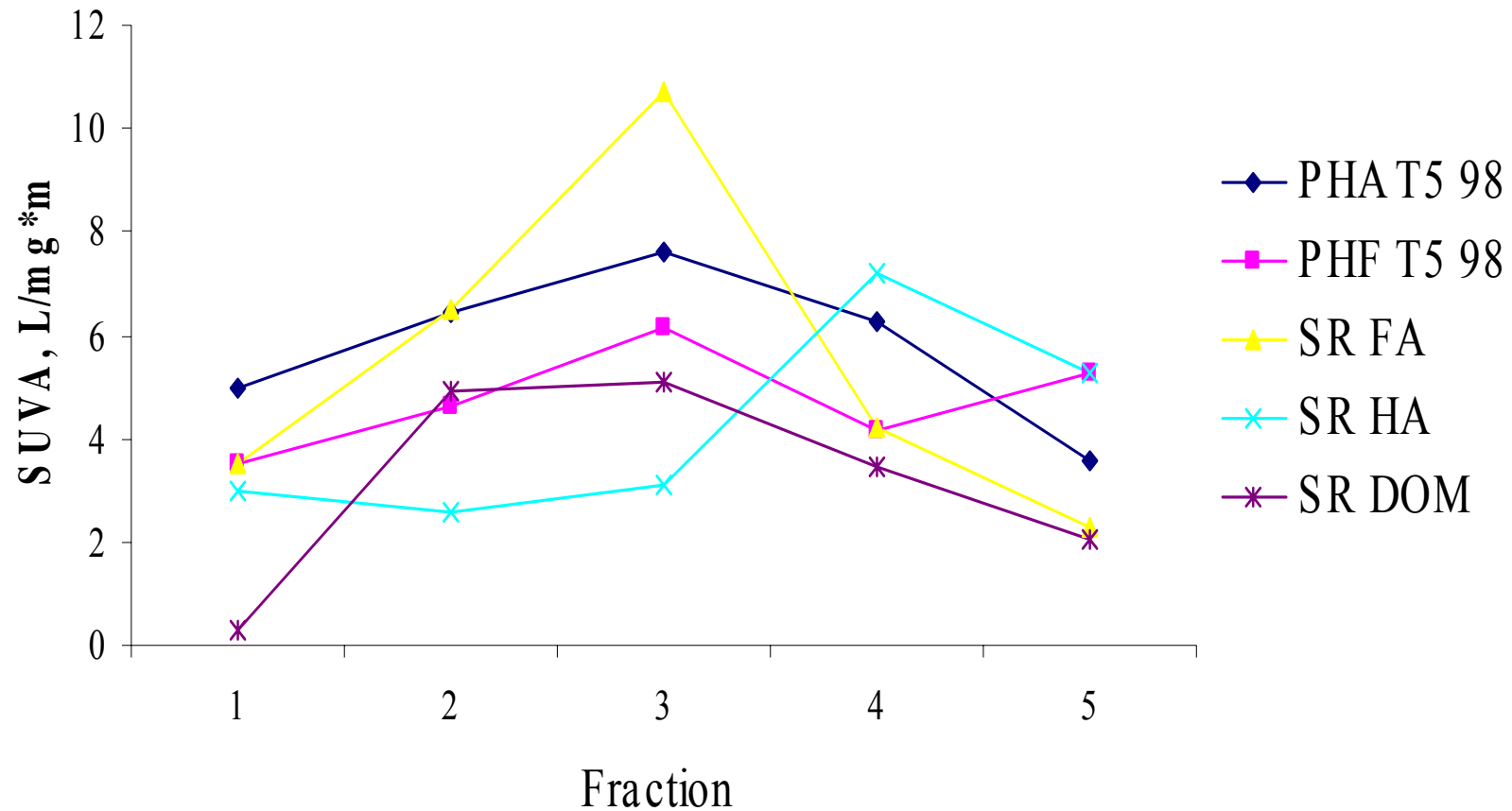


PHF T5 98



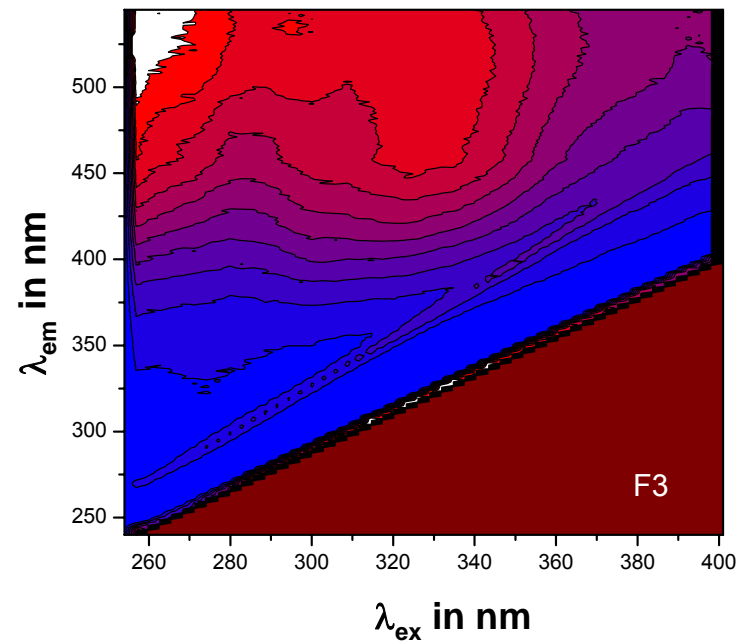
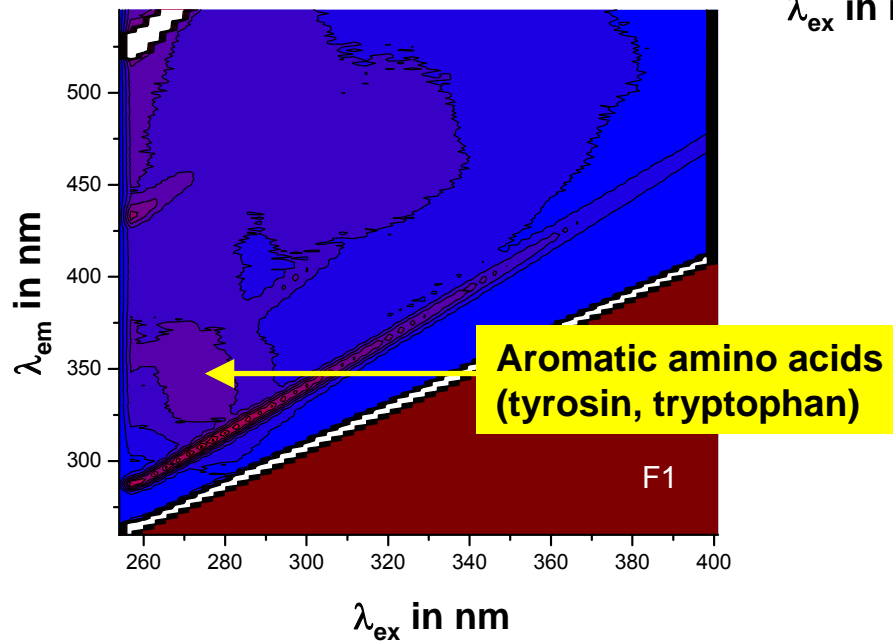
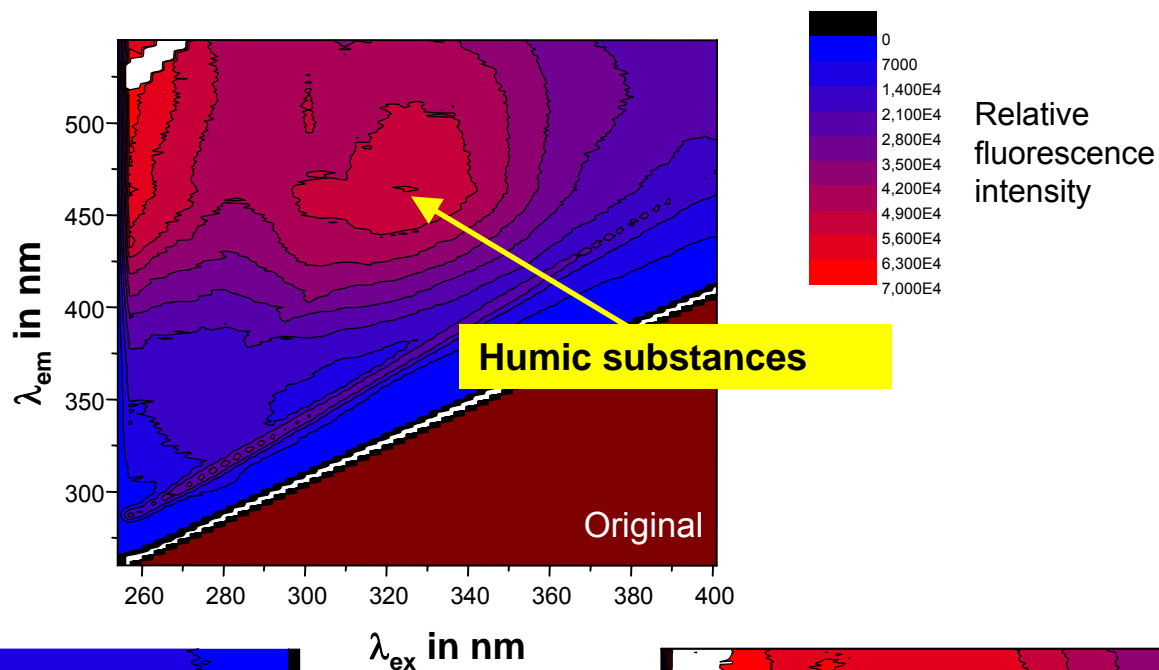
Оптические свойства фракций: SUVA

SUVA: DOC-specific UV-Absorption at 254 nm

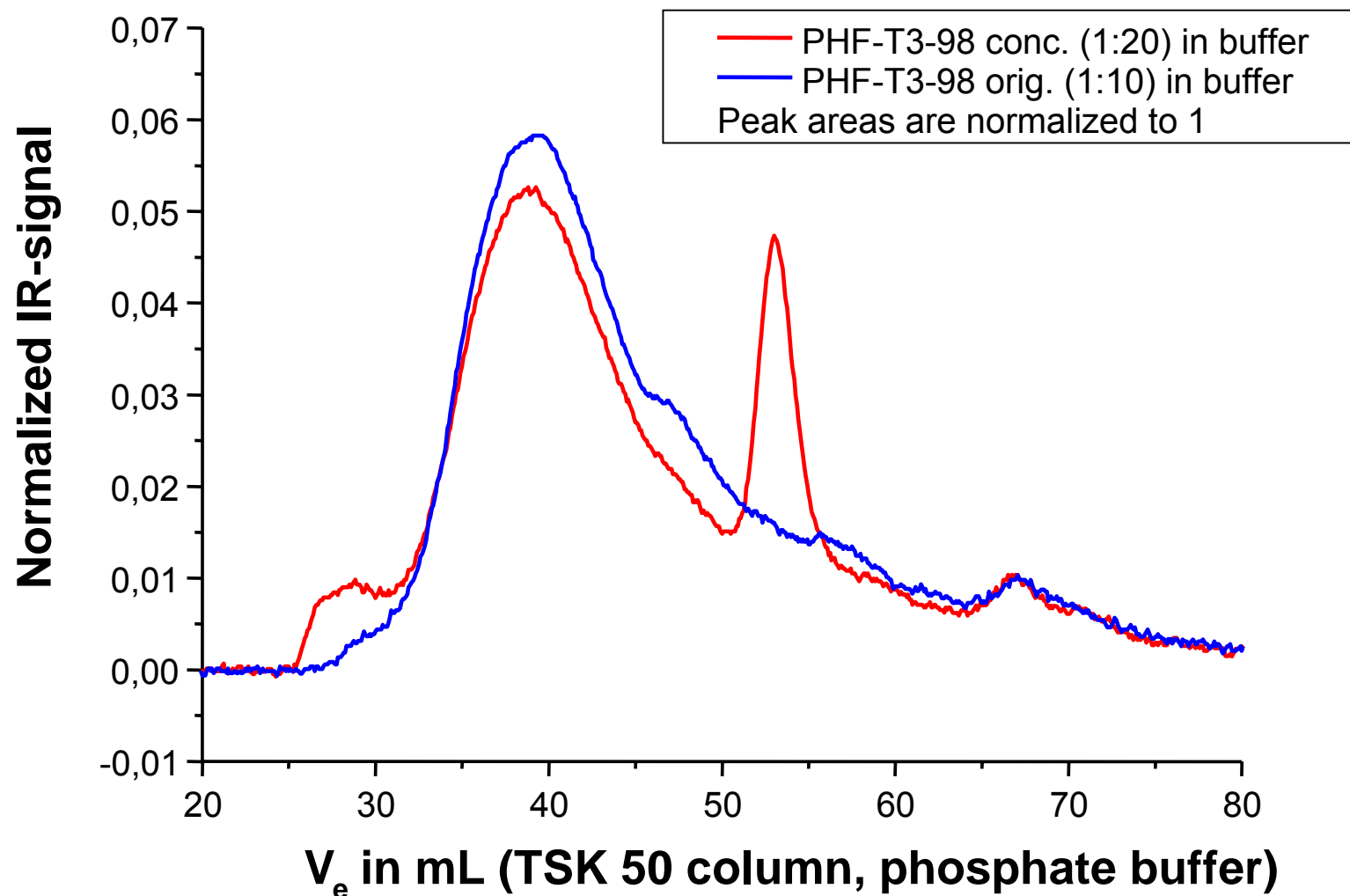


Оптические свойства фракций: Флуоресценция

Excitation-emission matrices of
PHF T5 98
+ fractions **F1, F3**



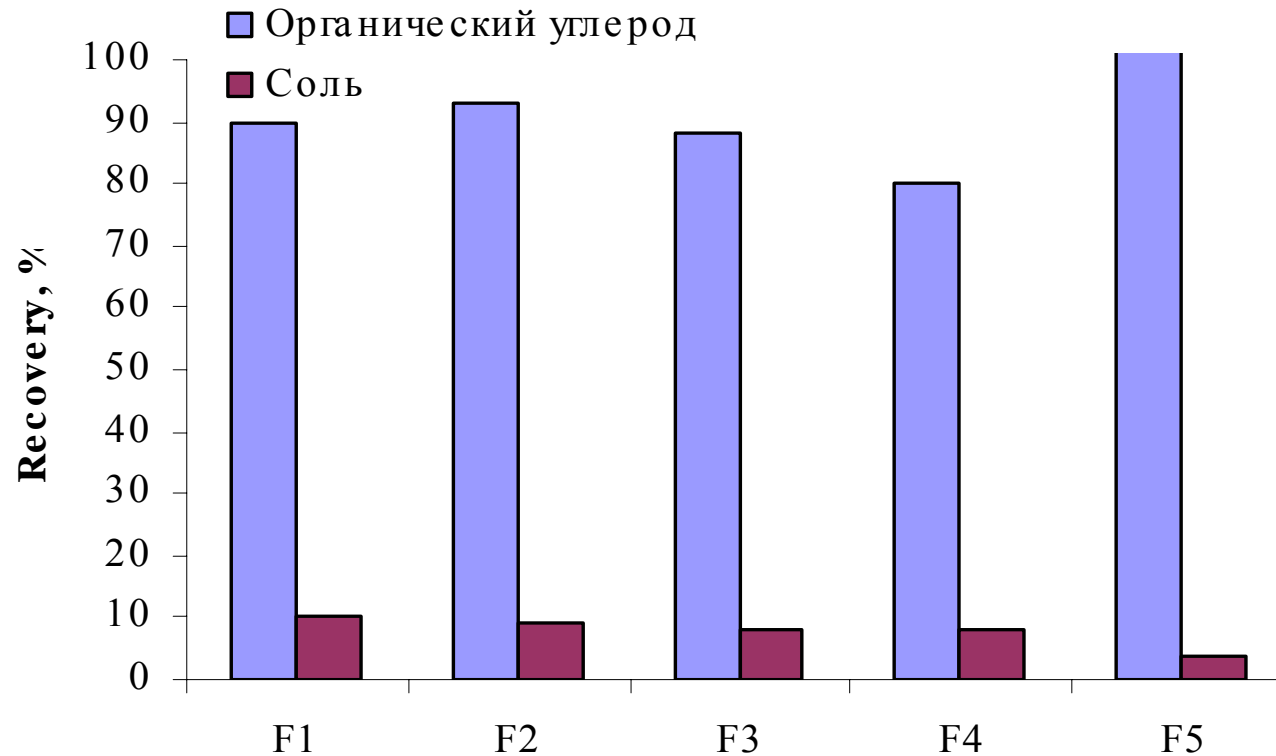
Обессоливание фракций методом ультрафильтрации (1)



Обессоливание фракций методом ультрафильтрации (2)

Membrane: regenerated cellulose, cutoff 1000 g/mol
Filtration mode: diafiltration, $p = 3$ bar

PHF T5 98



Выводы

- Проанализировано около 20 образцов ГВ методом ГПХ с DOC-детекцией
- Получены фракции 5 (7) образцов с использованием 2 различных элюентов
- Обессолены и высушены фракции 5 образцов ГВ

В будущем:

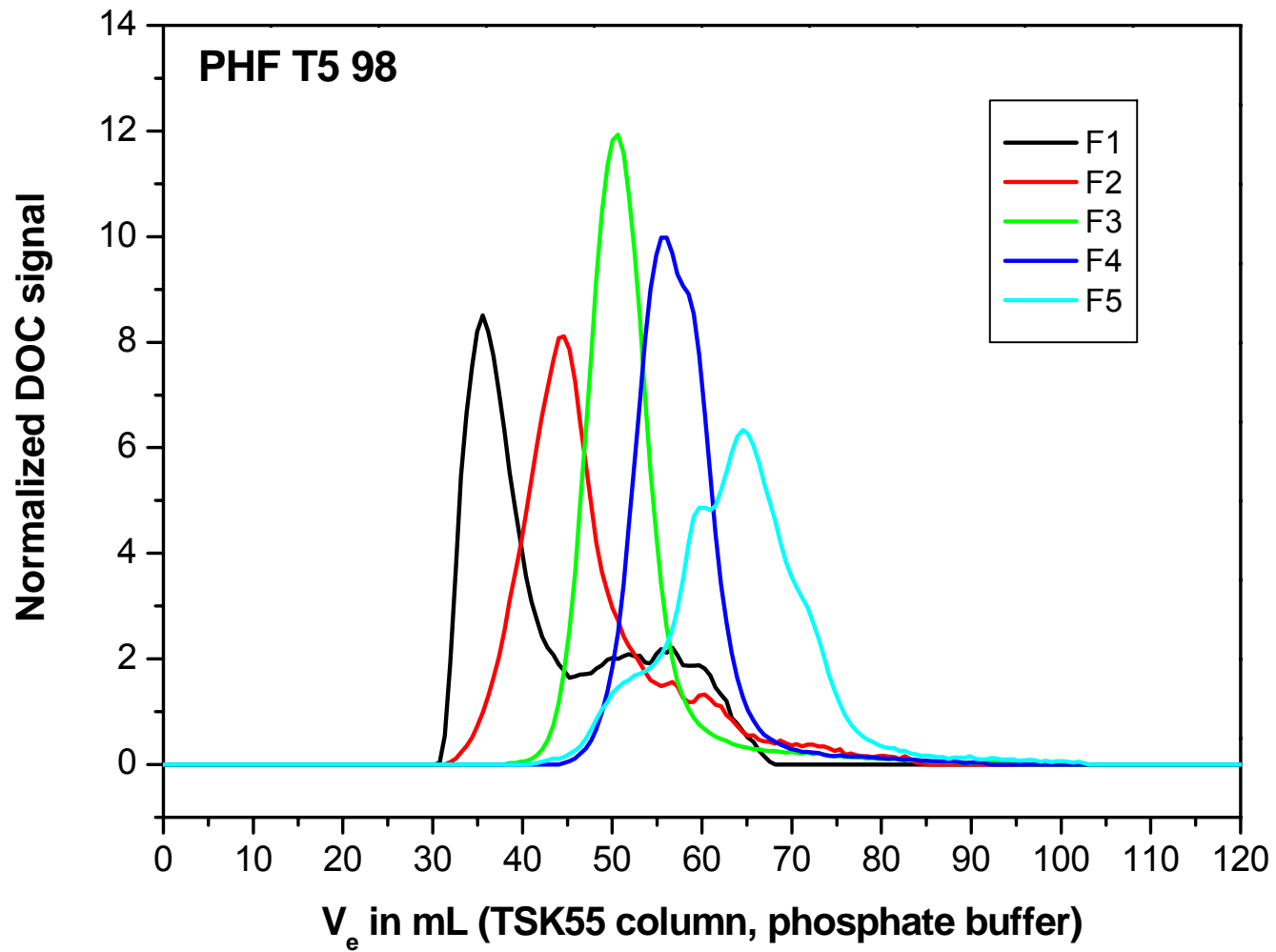
- Элементный анализ, FTICR-MS- и NMR-анализ
- Использование полученных данных для классификации и моделирования ГВ



Acknowledgement

- Professor Frimmel, Engler-Bunte-Institut
- Professor Irina Perminova, Moscow State University
- Deutsch-Russisches Kolleg
- Dr. Gudrun Abbt-Braun
- Dr. Margit Müller
- Matthias Weber





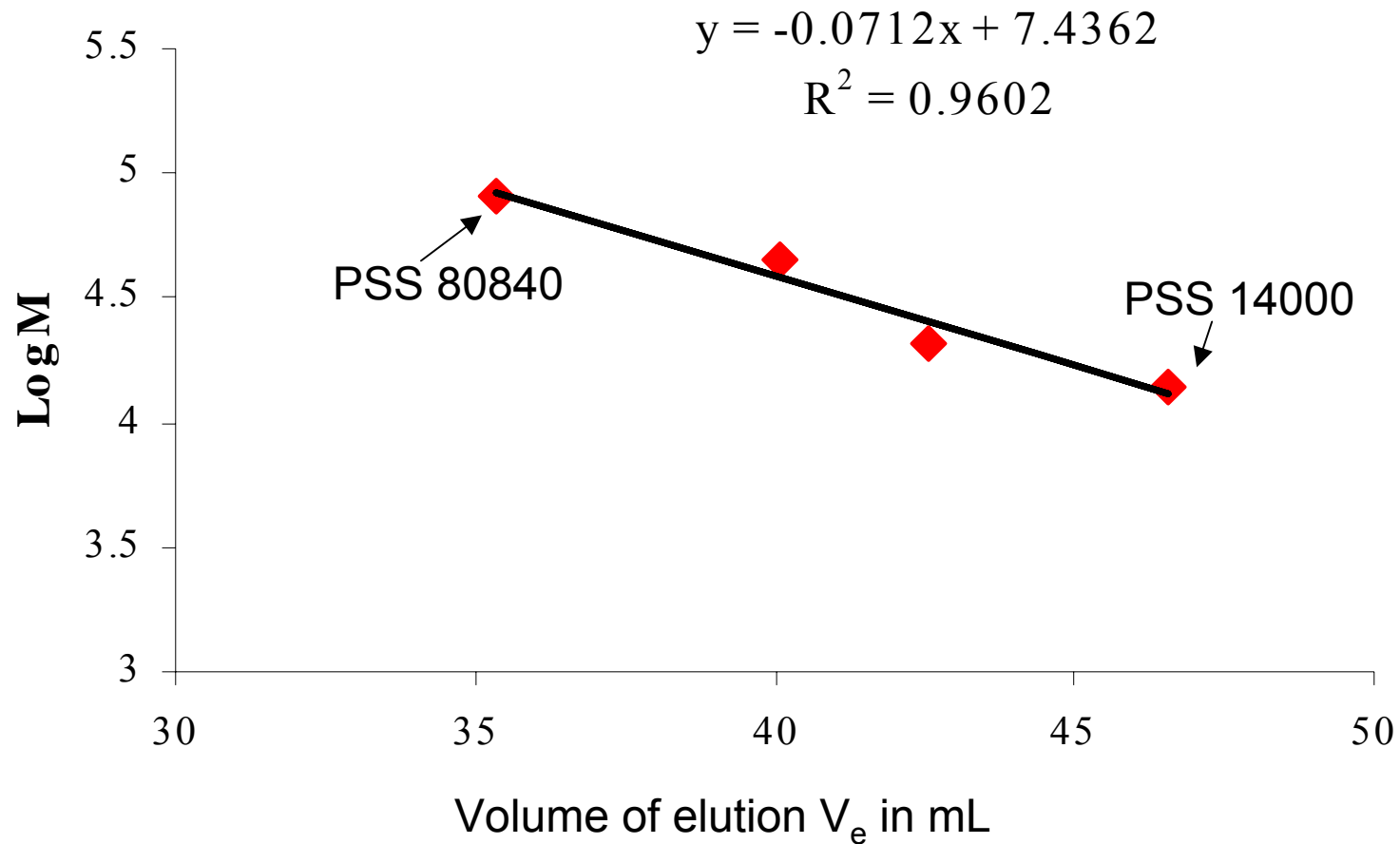


Universität Karlsruhe (TH)
Forschungsuniversität · gegründet 1825

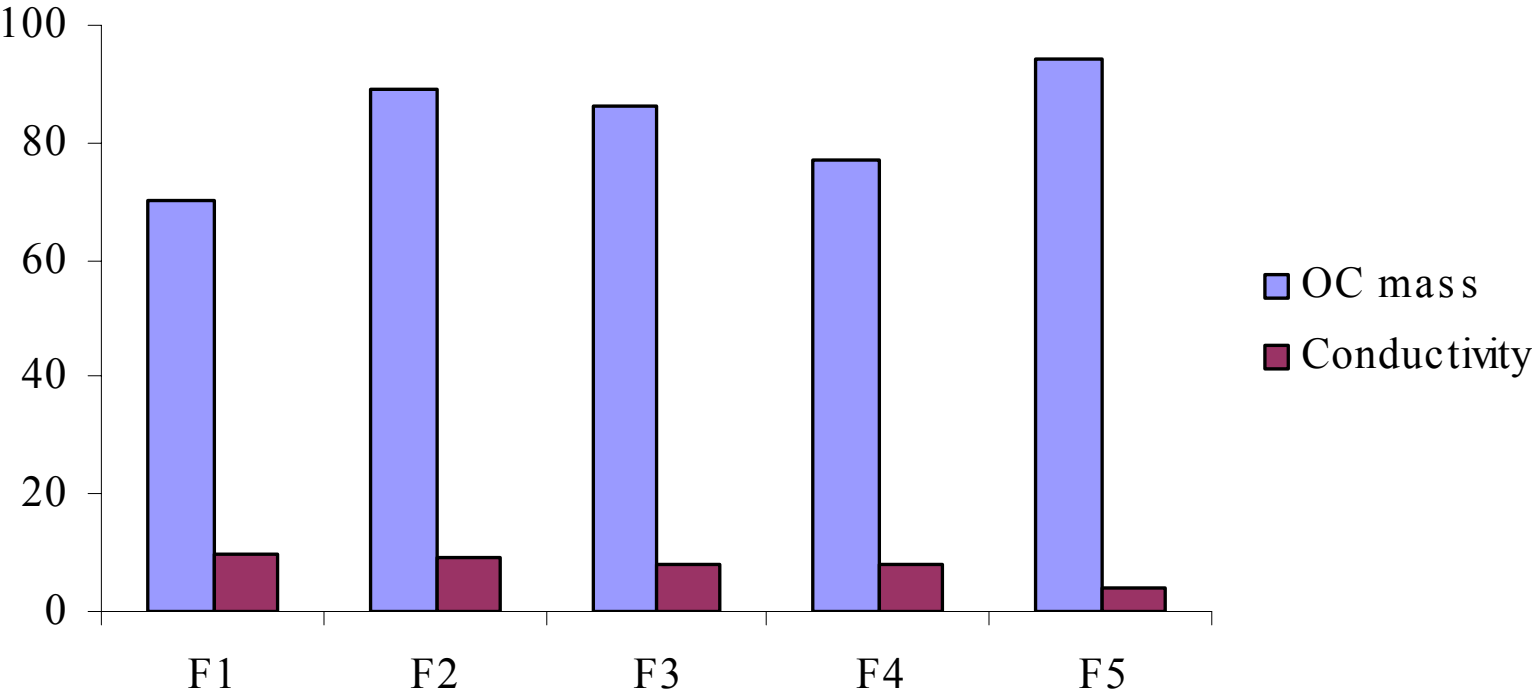
Engler-Bunte-Institut,
Bereich Wasserchemie



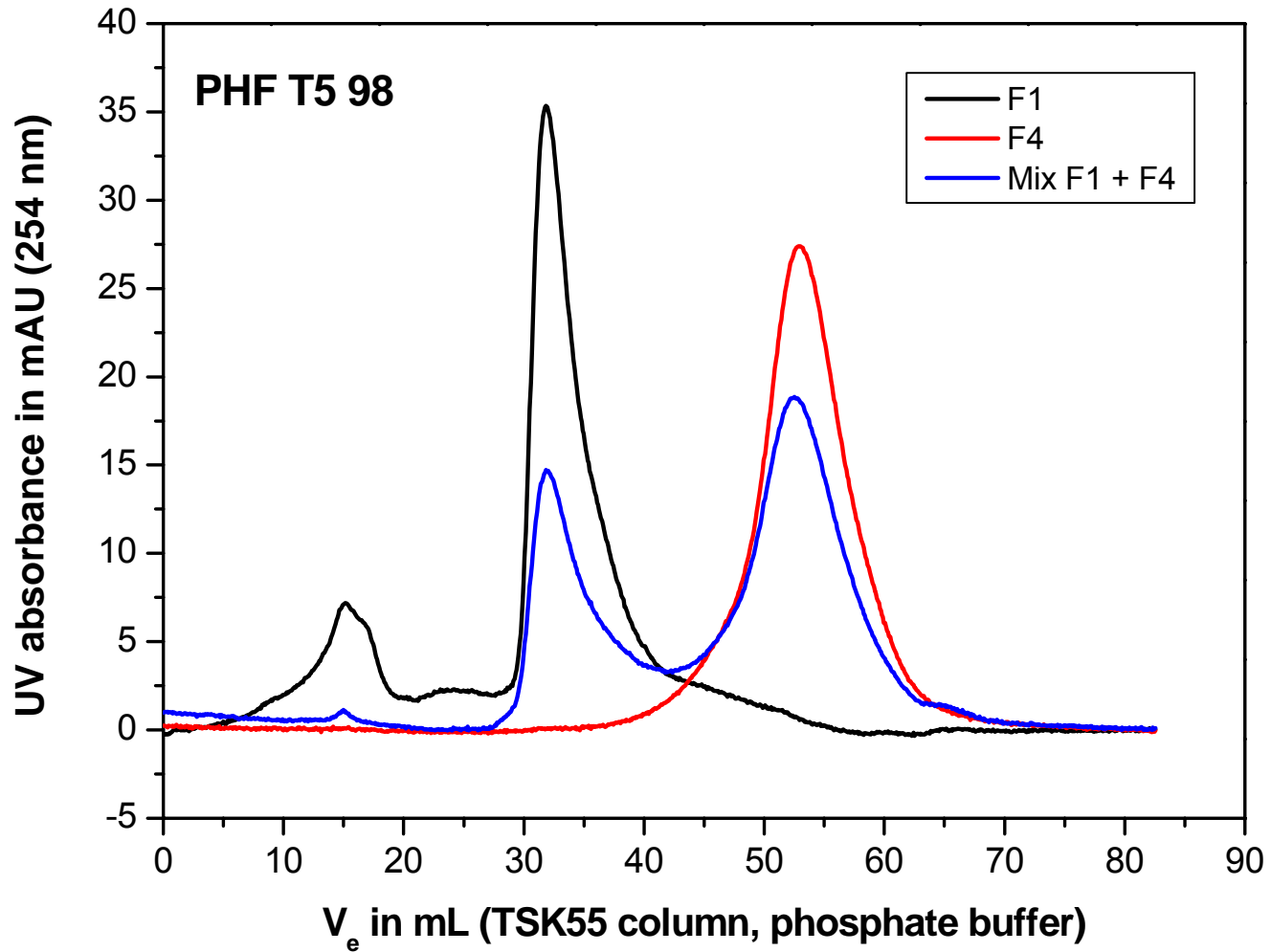
The calibration of TSK 55s column using polystyrenesulfonates (Eluent 1)



PHF T5 98 (corrected)



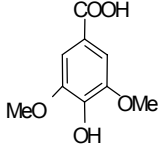
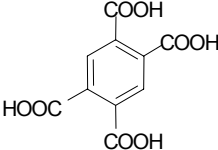
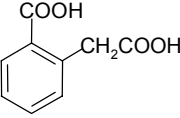
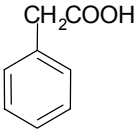
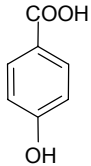
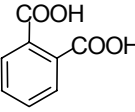
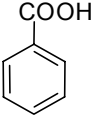
Reinjection of „mixed“ fractions on preparative SEC systems (Aecta)



Was sind Huminstoffe?

- Braune Farbe: Sie absorbieren Licht
- biogen, z. B. Abbauprodukte von Pflanzen
- Polydispers: Gemisch aus kleinen und großen Molekülen
- Polyfunktional: Sie enthalten sehr unterschiedliche chemische Strukturen
- Organische Stoffe, die in allen Gewässern vorkommen
- Können Aufbereitungsverfahren stören (z. B. Membranfiltration) oder toxische Produkte bilden (z. B. bei Desinfektion)
- Molekülgröße und chemische Strukturen sind wichtige Eigenschaften und müssen daher untersucht werden



Compound	Formula	Carboxylic acidity, mmol/g	Total acidity, mmol/g	MM, g/mol
Syringic acid		5,0	10	198
Pyromellitic acid		15,7	15,7	254
Homophthalic acid		11,1	11,1	180
Phenylacetic acid		7,4	7,4	136
4-OH benzoic acid		7,2	14,4	138
Phthalic acid		12	12	166
Benzoic acid		8,2	8,2	122



Influence of eluent composition on elution volume of low-molecular substances

