



Полученные величины эффективности выделения аминокислот (см. табл. 4) легли в основу дальнейшего избирательного электрофоретического отделения лизина, гистидина и аргинина от бинарных и многокомпонентных смесей 17 аминокислот (см. рис. 4), глутаминовой и аспарагиновой аминокислот также от различных смесей 18 аминокислот (см. рис. 5). Возможно также электрофоретическое отделение ряда других α -аминокислот от смешанных растворов, состав которых указан на рис. 6.

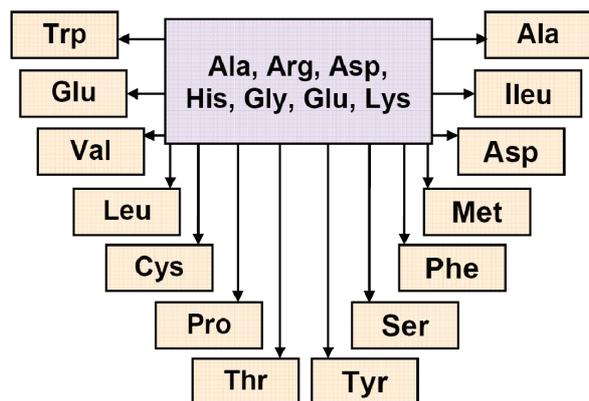


Рис.6. Избирательное выделение отдельных аминокислот из смешанных растворов методом зонального электрофореза

Таким образом, показано, что электрофоретическое разделение α -аминокислот зависит от величины и знака заряда их ионов, регулируемых количеством и значениями констант ионизации

диссоциирующих групп при α -углеродном атоме и в радикалах. В сильноокислых средах ($\text{pH} = 1-2$) определяющим параметром электрофоретической подвижности является величина Z/Mr , максимальная для 5 аминокислот (гистидин, аргинин, лизин, глицин, аланин) и определяющая их эффективное отделение от смешанных растворов всех других членов исследованного ряда.

В области существования цвиттер-ионных форм α -аминокислот ($\text{pH} = 4-8$) параметры разделения всех аминокислот, за исключением глутаминовой и аспарагиновой (мигрирующих к аноду), ухудшаются, однако еще возможно отделение группы основных α -аминокислот, мигрирующих по-прежнему к катоду.

Найдены оптимальные условия избирательного электрофоретического отделения основных ($\text{pH} = 1,6$, 30% CH_3COOH), кислых ($\text{pH} = 4,6$) и ряда других аминокислот из их бинарных и многокомпонентных смешанных растворов.

Список литературы

1. *Berthon G.* The stability constants of metal complexes of amino acids with polar side chains // *Pure & Appl. Chem.* 1995. Vol. 67. P. 1117.
2. *Sovago J., Kiss T., Gergely A.* Critical survey of the stability constants of complexes of aliphatic amino acids // *Pure & Appl. Chem.* 1993. Vol. 65. P. 1029.
3. *Pettit L. D.* Critical survey of ionization constants of complexes of histidine, phenylalanine, tyrosine, L-Dopa and tryptophan // *Pure & Appl. Chem.* 1984. Vol. 56. P. 247.

УДК 543.43+543.054

ФАЗОВОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ В СИСТЕМЕ (ОП-10) – H_2O И «CLOUD POINT» ЭКСТРАКЦИЯ НЕКОТОРЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Р. К. Чернова, Н. Б. Шестопалова, Л. М. Козлова

Саратовский государственный университет
E-mail: chernov-ia@yandex.ru



Изучено фазовое разделение в системе (ОП-10) – H_2O при температуре помутнения. Получены фазовые диаграммы в области аналитических концентраций ОП-10, используемых для мицеллярной экстракции. Оценено содержание воды в выделенной мицеллярной фазе методом Фишера. Показана возможность экстрагирования мицеллярной фазой ОП-10 красителей бромфенолового синего и азорубина.

Ключевые слова: ОП-10, фазовое разделение, температура помутнения, экстракция в точке помутнения, бромфеноловый синий, азорубин.

The Phase Separation in the System (OP-10) – H_2O and Cloud Point Extraction Some Dyes

R. K. Chernova, N. B. Shestopalova, L. M. Kozlova

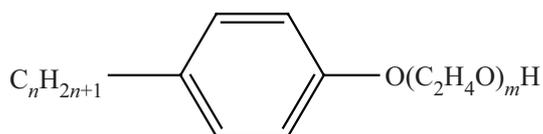
The phase separation in the system (OP-10) – H_2O at a temperature of turbidity were studied. Phase diagrams are obtained in the analytical concentrations of OP-10 used for micellar extraction. Estimated water content in the micellar phase of the selection method of Fisher. The possibility of extracting the micellar phase of OP-10 bromophenol blue and azorubine was shown.



Key words: OP-10, phase separation, cloud point, cloud point extraction, bromophenol blue, azorubin.

Мицеллярная экстракция как метод разделения и концентрирования неорганических и органических веществ нашла широкое практическое применение [1–3]. Это связано с повышением избирательности и чувствительности определений широкого круга аналитов; высоким коэффициентом абсолютного концентрирования при малых объемах проб; возможностью сочетания с различными физико-химическими и физическими методами детектирования; экологической безопасностью и достаточной инертностью по отношению к сложным биологически активным веществам.

Важное место среди экстрагентов подобного типа принадлежит неионным ПАВ, одним из наиболее распространенных представителей которых является полиоксиэтилированный алкилфенол ОП-10



$n = 8-10$

$m = 10-12$

Он является универсальным экстрагентом, способным концентрировать гидрофильные и гидрофобные, заряженные и нейтральные аналиты. Основными факторами, приводящими к разделению фаз в водных растворах нПАВ, являются: температура, кислотность среды, добавки солей электролитов и ряда органических соединений.

Технический препарат ОП-10, как и другие нПАВ, применяемые для различных целей, не является индивидуальным химическим соединением, его следует рассматривать как смесь полимергомологов, поскольку варьируется длина алкильных и оксиэтиленовых цепей, степень их ненасыщенности и т.п. Для разных партий препарата состав может изменяться. Негомогенность технических ПАВ по составу определяется исходным сырьем, применяемым для их синтеза. Тем не менее указывается [4], что это обстоятельство в целом мало влияет на анализ физико-химических данных и моделирование таких систем.

В мицеллярной экстракции чаще используются в настоящее время не столько индивидуальные ионные и неионные ПАВ, сколько их смеси и различные композиции с другими веществами (полимерами, полиэлектролитами, органическими соединениями и др.). Важно для каждой применяемой в этих целях композиции ПАВ оценить ряд параметров, имеющих для

аналитической практики принципиально важное значение: условия выделения фаз, обогащенных ПАВ, с определенными физико-химическими характеристиками (вязкость, компактность и др.); скорость формирования фазы и ее объем; оптическую прозрачность в УФ- и видимой областях спектра; отсутствие взаимодействия с аналитом.

Следует отметить, что указанные параметры являются сугубо индивидуальными для каждой композиции и должны определяться применительно к ее составу и факторам воздействия. В связи с этим ряд физико-химических характеристик систем (ОП-10) – H₂O изучены не в полном объеме.

Цель настоящего исследования состояла в получении и систематизации некоторых физико-химических характеристик фазового разделения водных растворов ОП-10 разной концентрации при варьировании температуры, важных для аналитического концентрирования; определении гидратации мицеллярных фаз ОП-10; оценке вероятных самоорганизованных структур в мицеллярной фазе, обогащенной ПАВ, при фазовом разделении раствора, а также применении выделенных фаз для концентрирования некоторых красителей.

Экспериментальная часть.

Реагенты, аппаратура, методика проведения эксперимента

Для работы применялся препарат ОП-10 – полиоксиэтилированный алкилфенол со средней степенью оксиэтилирования 10–12 и содержанием основного вещества не менее 80% (ГОСТ 8433-81). Бромфеноловый синий (БФС) (ч.д.а.), промышленный образец пищевого красителя «азорубин» (основное вещество не менее 90%). Исходные растворы нПАВ и красителей готовили растворением точных навесок в дистиллированной воде. Необходимые значения pH устанавливали добавлением 0,1 М растворов HCl и NaOH.

Для разделения фаз и мицеллярной экстракции красителей 10 мл 10% водных растворов ОП-10 без добавок и с добавками красителей помещали в калиброванные мерные пробирки вместимостью 10 мл, нагревали на водяной бане до температуры расслоения. Охлаждали до комнатной температуры, водную фазу декантировали. Распределение красителей контролировали спектрофотометрически на спектрофотометре Shimadzu UV – 1800. Для этого измеряли светопоглощение водных растворов до и после расслоения фаз, а мицеллярной фазы – после ее разбавления дистиллированной водой.

На основании полученных данных рассчитывали степень извлечения (R) и коэффициенты распределения (D) красителей [5].



Кислотность среды измеряли с помощью рН-метра-милливольтметра 150-МП. Содержание воды в мицеллярной фазе определяли по методу Фишера [6]. Для этого мицеллярную фазу, выделенную из 5 и 8 % растворов ОП-10, осушали с помощью фильтровальной бумаги, вносили соответствующую навеску мицеллярной фазы в сухую колбу для титрования и титровали реактивом Фишера до появления красновато-коричневой окраски. Титр реактива Фишера устанавливали по навеске дистиллированной воды известной массы.

Результаты и их обсуждение

Известно, что для полиоксиэтилированных нПАВ характерна температурная зависимость их физико-химических свойств. При нагревании растворов нПАВ до определенной температуры начинается процесс фазового разделения, характеризующийся «точкой помутнения». Гомогенный раствор разделяется на две фазы: водную, содержащую нПАВ ниже ККМ, и мицеллярную, обогащенную нПАВ (рис. 1).

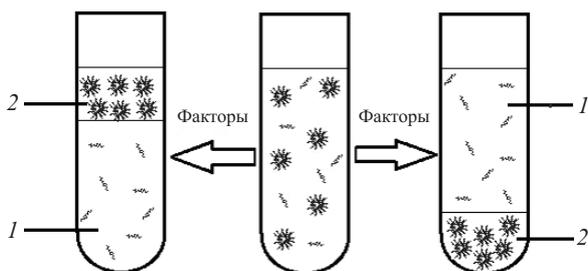


Рис. 1. Схема фазового разделения нПАВ: 1 – фаза, обедненная ПАВ; 2 – фаза, обогащенная ПАВ; факторы: температура, рН, электролиты

Исследовались процессы фазового разделения в системе (ОП-10) – H₂O при температуре помутнения и фазового разделения (рис. 2).

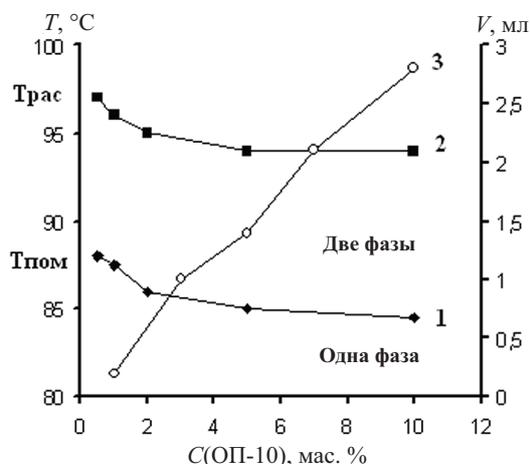


Рис. 2. Зависимость температуры помутнения (1), температуры расслоения (2) и объема образующейся мицеллярной фазы (3) от концентрации растворов ОП-10 ($V_0 = 10$ мл)

Плотность образующейся мицеллярной фазы выше плотности воды, и она компактно локализуется на дне сосуда, так что разделение фаз возможно декантацией.

Как следует из рис. 2, температура помутнения растворов ОП-10 лежит в интервале 85–88 °С, что согласуется с литературными данными [7] и уменьшается с увеличением концентрации его водных растворов ($\Delta t^\circ = 3^\circ\text{C}$). Температура фазового разделения в системе (ОП-10) – H₂O при указанных концентрациях растворов значительно выше (98–94 °С) и способствует более быстрому разделению фаз с образованием однородной, плотной, вязкой фазы, насыщенной ОП-10. Изменение кислотности среды в диапазоне рН от 1 до 12 не оказывает влияния на характер фазового разделения ОП-10, не приводит к изменению температуры помутнения и объема формирующихся мицеллярных фаз.

Величина соотношения объемов исходного раствора и мицеллярной фазы нПАВ ($K = V_0/V_{\text{мф}}$) показывает возможность абсолютного концентрирования при мицеллярной экстракции, наибольшую для разбавленных растворов. Так, для $V_0 = 10$ мл 0,5% раствора ОП-10 и объема мицеллярной фазы 0,11 мл значение K приближается к 99. При возрастании концентрации раствора до 5% $V_0 = 10$ мл и $V_{\text{мф}} = 1,25$ мл значение K уменьшается до 8. Следовательно, для концентрирования целесообразно использовать наиболее разбавленные растворы ОП-10.

Рассмотрим влияние концентрации и температуры на мицеллярное состояние растворов ОП-10: процессы роста мицелл и их самоорганизацию. Особенностью строения мицелл нПАВ и, в частности ОП-10, является наличие объемного слоя полярных оксиэтилированных гидрофильных радикалов, окружающих гидрофобное ядро мицеллы (рис. 3). Гидрофильные свойства ОП-10 обусловлены наличием в полиоксиэтиленовой цепи гетероатомов кислорода и концевых полярных групп –ОН.

Кроме того, размеры гидрофобного ядра и гидрофильного слоя мицеллы ОП-10 становятся соизмеримы ($n = 8-10$, $m = 10-12$). Считается, что именно изменения межмолекулярных взаимодействий в оксиэтилированном слое ответственны за специфическое температурное поведение таких ПАВ. Известно, что увеличение размера мицелл в первую очередь контролируется длиной оксиэтиленовой цепи нПАВ: чем короче цепь, тем более выражен рост мицелл как при повышении температуры, так и увеличении концентрации растворов ПАВ.

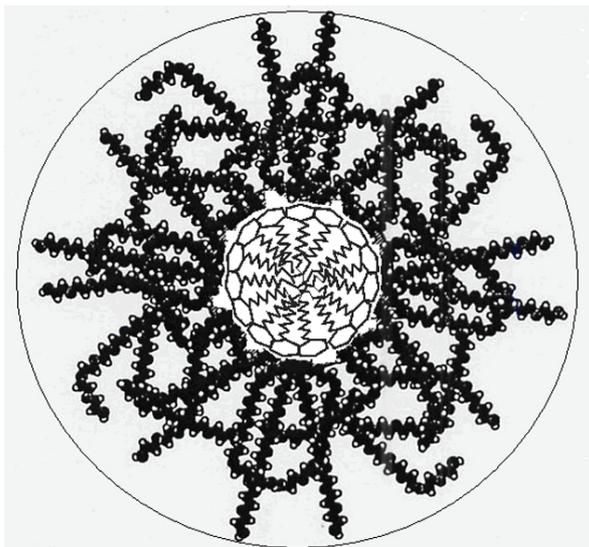


Рис. 3. Схематическое строение мицеллы ОП-10

Так, согласно рис. 4, для нПАВ разных типов с короткой оксиэтиленовой цепью (E_3 – E_5) наблюдается резкий рост мицелл с увеличением температуры, в то время как для нПАВ, имеющих оксиэтиленовые цепи E_8 , наблюдается незначительное увеличение размера мицелл вплоть до высоких температур.

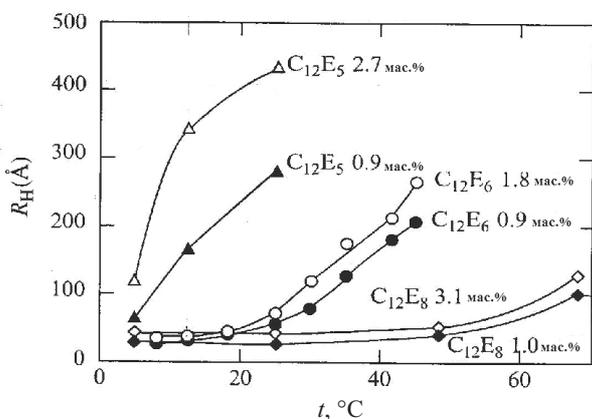


Рис. 4. Температурная зависимость гидродинамических размеров нПАВ (R_H) от длины оксиэтиленовой цепи (E) [4]

Для ОП-10, имеющего E_{10-12} можно прогнозировать еще большее замедление роста мицелл при увеличении температуры.

Рост мицелл нПАВ полиоксиэтиленового ряда с увеличением концентрации также отмечен для нПАВ с небольшими полярными группами (E_{4-6}). Если же нПАВ содержит E_8 и более оксиэтиленовых групп, то размеры мицелл почти не изменяются (см. рис. 4).

Следовательно, объяснить снижение растворимости при увеличении температуры ростом мицелл ОП-10 не представляется возможным.

Рассмотрим указанные явления с точки зрения самоорганизации мицелл в растворах нПАВ.

Наиболее полное представление о состоянии системы (ОП-10) – H₂O можно получить, анализируя фазовую диаграмму полиоксиэтилированного ПАВ $C_{12}(E_8)$, с близкой длиной оксиэтильной цепи (рис. 5).

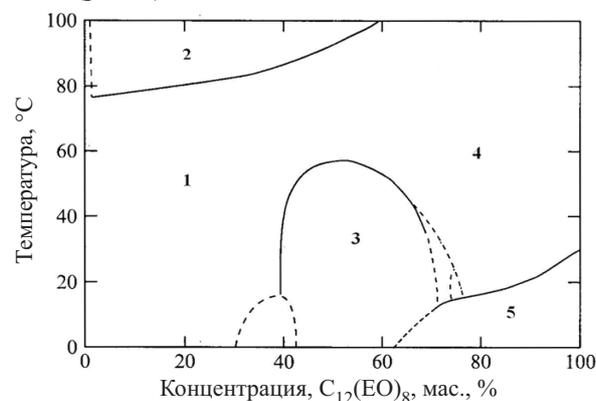


Рис. 5. Упрощенная фазовая диаграмма системы нПАВ ($C_{12}E_8$) – H₂O [4]: 1 – водная фаза, обедненная ПАВ; 2 – фаза, обогащенная ПАВ; 3 – гексагональная фаза; 4 – обращенные мицеллы; 5 – твердый ПАВ

Согласно рис. 5 на таких фазовых диаграммах, типичных для нПАВ с длинными оксиэтильными цепями, в том числе и ОП-10, присутствуют основные фазы: мицеллярная, преимущественно с небольшими, почти сферическими мицеллами (1); две разделившиеся жидкие фазы при температуре 80 °C и выше (2); гексагональная фаза, построенная из бесконечно длинных цилиндрических мицелл, образующих гексагональную упаковку так, что каждая мицелла окружена шестью другими мицеллами (3, рис. 5, табл. 2); при высоких концентрациях нПАВ – обращенные мицеллы (4) и твердая фаза (5).

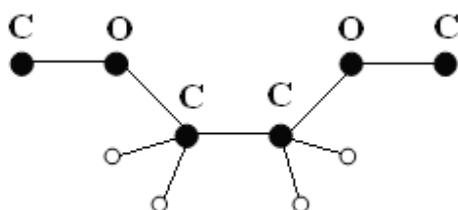
Анализ фазовых диаграмм дает представление о последовательности самоорганизованных структур применительно к системе нПАВ – H₂O при повышении температуры и увеличении концентрации ПАВ.

Можно полагать, что аналогичные явления фазового разделения при увеличении температуры до 88 °C наблюдаются и для растворов ОП-10.

Область концентраций ОП-10, при которой происходит фазовое разделение с образованием фазы, применяемой в аналитических целях, составляет 10–20%. Согласно нашим наблюдениям и фазовой диаграмме (см. рис. 2, 5) в этой области концентраций при температуре фазового помутнения (фазового разделения) наблюдается в системе две фазы: обедненная ОП-10 водная фаза (1) и вязкая фаза обогащенная ОП-10 (2), как это было показано на рис. 1, 2.



Для описания температурной зависимости систем H_2O –нПАВ хорошо известна модель, основанная на изменении сетки водородных связей между молекулами воды и эфирными атомами кислорода нПАВ. Уменьшение гидратации оксиэтильных групп нПАВ с повышением температуры подтверждено спектроскопическими исследованиями, а также измерением коэффициента самодиффузии воды [8, 9]. В итоге уменьшается площадь полярной оксиэтильной группы при увеличении температуры, т. е. происходит более



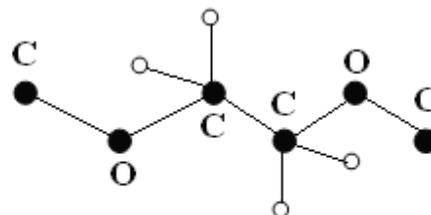
анти-гоши-анти

Конформация *a-g-a* характеризуется небольшим статистическим весом, низкой энергией, большим дипольным моментом и преобладает при низкой температуре. С повышением температуры образуются другие конформации с большим статистическим весом, меньшим или нулевым дипольным моментом, например *a-a-a*.

Таким образом, вследствие конформационных изменений полиоксиэтиленовые цепи при увеличении температуры будут постепенно становиться менее полярными, что приведет к невыгодности их взаимодействия с водой и, следовательно, дегидратации. Одновременно взаимодействие оксиэтильных групп между собой

плотная упаковка полярных групп на поверхности самоорганизующейся структуры.

Предложена и другая модель, объясняющая фазовое разделение в системе H_2O – нПАВ при повышении температуры конформационными превращениями молекул ПАВ. Известно, что полиоксиэтиленовая цепь может существовать во множестве конформаций с различными энергиями. Наименьшей энергией обладают *гоши*-конформация оксиэтильной группы относительно связи С-С и *анти*-конформация относительно связи С-О:



анти-анти-анти

станет энергетически более выгодным, что приведет к более плотной упаковке полярных групп в агрегатах нПАВ и, следовательно, к фазовому разделению.

Последовательность самоорганизованных структур при повышении температуры также является логическим следствием уменьшения полярности оксиэтильных групп. Таким образом, вода оказывается хорошим растворителем для оксиэтильных групп при низких температурах и плохим растворителем – при высоких.

Для оценки вероятных самоорганизованных структур нами была выделена фаза, обогащенная ОП-10, и определено содержание в ней воды методом Фишера [6] (табл. 1).

Таблица 1

Содержание воды в мицеллярной фазе, обогащенной ОП-10 (по Фишеру), после фазового разделения ($n = 3, P = 0,95, t = 80\text{ }^\circ\text{C}$)

Исходная концентрация раствора ОП-10, мас. %	Другие компоненты исходного раствора ОП-10	Метод Фишера	
		W, г H_2O /г нПАВ	Содержание H_2O в мицеллярной фазе, мас. %
5	–	$0,45 \pm 0,01$	45
8	–	$0,36 \pm 0,02$	36
5	2% NaCl, ацетатно-аммиачный буферный раствор, Н=6,0	$0,40 \pm 0,02$	40
5	2% NaCl, pH=6,0, хромазуrol C ($C = 1 \cdot 10^{-4}$ М)	$0,46 \pm 0,02$	46
5	2% NaCl, pH=6,0, Арсеназол III ($C = 1 \cdot 10^{-4}$ М)	$0,45 \pm 0,01$	45

Из данных табл. 1 следует, что массовая доля воды в мицеллярной фазе составляет от 36 до 46%. С увеличением исходной концентрации ОП-10 гидратация мицеллярной фазы уменьшается. Наличие в исходном растворе ОП-10 2% NaCl, буферной ацетатно-аммиачной среды и добавок

органических реагентов существенно не изменяет содержание воды в выделенной при $80\text{ }^\circ\text{C}$ мицеллярной фазе.

Можно полагать, что согласно [10] и вышеприведенным соображениям выделенная после точки помутнения фаза ОП-10 прозрачная, вязкая

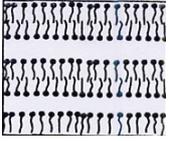
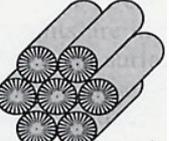
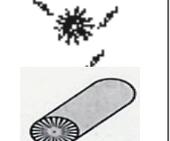
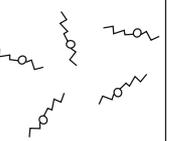


и обогащенная нПАВ, содержащая до 46 мас.% воды, может быть отнесена к жидкокристаллическому

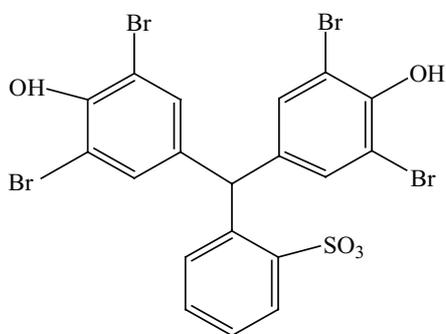
гексагональному плотно упакованному типу (табл.2).

Таблица 2

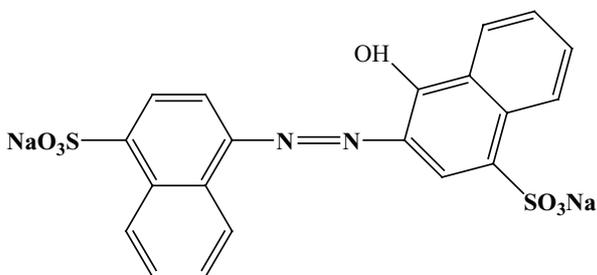
Фазы жидких мыл в водных растворах [10]

Структура						
Вода, %	0	5–22%	23–40%	34–80%	30–99,9%	> 99,9 %
Состояние	Кристаллическое	Жидкокристаллическое, ламелярное	Жидкокристаллическое кубическое, гексагональное (гранецентрическое)	Жидкокристаллическое, гексагональное, плотноупакованное	Мицеллярный раствор	Раствор (ниже ККМ)
Дальний порядок	3 измерения	1 измерение	3 измерения	2 измерения	нет	нет
Свобода движения	нет	2 направления	нет	1 направление	3 направления, более или менее свободных	3 направления, свободные
Внешний вид	Непрозрачный, твердый	Прозрачный, жидкий, умеренно вязкий	Прозрачный, очень вязкий, хрупкий	Прозрачный, вязкий	Прозрачный, жидкий	Прозрачный, жидкий

Исследовалась экстрагирующая способность выделенной мицеллярной фазы ОП-10 при температуре расслоения по отношению к широко применяемым красителям разных классов: бромфеноловому синему (БФС) и азорубину:



БФС



Азорубин

Спектрофотометрически исследовалось состояние красителей в мицеллярной фазе и в

водном растворе (рис. 6). Как следует из рис. 6, экстракция в фазу ОП-10 не приводит к изменению состояния красителей.

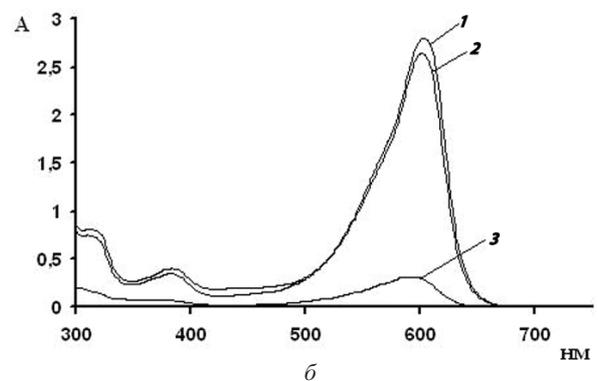
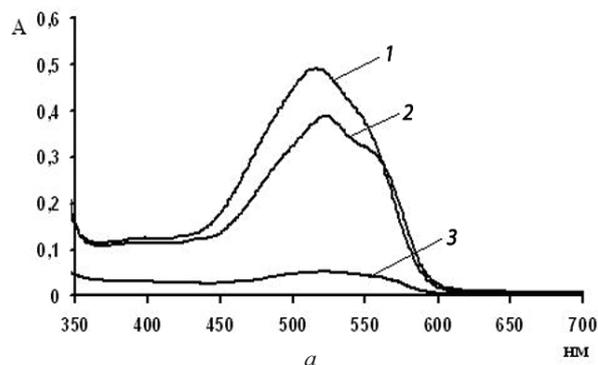


Рис. 6. Электронные спектры поглощения азорубина (а) и БФС(б): 1 – исходный водный раствор; 2 – мицеллярная фаза; 3 – водная фаза после экстракции. С(ОП-10) = 10%. С(азорубин) = 1·10⁻³ моль/л; С(БФС) = 6·10⁻⁵ моль/л



На основании полученных данных были оценены степень извлечения (R , %) и коэффициенты распределения (D) красителей в фазу нПАВ [5] (табл. 3).

Таблица 3

Количественные характеристики экстракции красителей

Краситель	R , %	D
БФС	94,0	33,0
Азорубин	90,0	25,0

Установлено, что с ростом концентрации нПАВ в исходном растворе степень извлечения красителей мицеллярными фазами увеличивается (рис.7). Увеличение объема образующейся мицеллярной фазы с ростом концентрации ОП-10 также приводит к увеличению значений коэффициента распределения красителей.

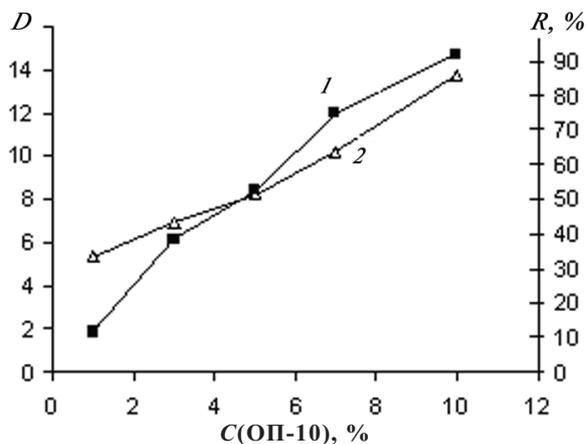


Рис. 7. Зависимость степени извлечения (1) и коэффициентов распределения (2) азорубина в системе ОП-10 – H_2O от концентрации ОП-10. $C_{\text{азорубина}} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $V_0 = 10$ мл

В результате проведенных исследований получены фазовые диаграммы системы (ОП-10) – H_2O в области аналитических концентраций нПАВ (10–12%), используемых при мицеллярной экстракции.

Методом Фишера оценено содержание воды в выделенной мицеллярной фазе ОП-10 (36–46 %).

Высказаны соображения о возможных самоассоциированных агрегатах ОП-10 в мицеллярной фазе, обогащенной нПАВ.

Найдены оптимальные условия и оценены степени извлечения и коэффициенты распределения БФС и азорубина, экстрагированных мицеллярной фазой ОП-10.

Список литературы

1. Куцевская Н. Ф., Горбачевский А. Н., Дорожук В. А., Куличенко С. А. Мицеллярно-экстракционное концентрирование микрокомпонентов фазами неионных ПАВ при температуре помутнения // Химия и технология воды. 2008. Т. 30, № 3. С. 521–543.
2. Ali Sarafraz Yazdi. Surfactant-based extraction methods // TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2011. Vol. 30, № 6. P. 918–929.
3. Mukherjee P., Padhan S. K., Dash S., Patel S., Mishra B. K. Clouding behaviour in surfactant systems // Advances in Colloid and Interface Science. 2011. Vol. 162, № 1–2, P. 59–79.
4. Холмберг К., Йёнссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах / пер. с англ. М., 2007. 528 с.
5. Основы аналитической химии / под ред. акад. РАН Ю. А. Золотова. М., 1996. 384с.
6. ГОСТ 14870-77. Продукты химические. Методы определения воды. М., 2008.
7. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества: свойства и применение. Л., 1981. 304с.
8. Becher P., Arai H. Nonionic surface-active compounds. XI. Micellar size, shape and hydration from light-scattering and hydrodynamic measurements // J. Colloid and Interface Science. 1968. Vol. 27, № 4. P. 634–341.
9. Elworthy P. H., Florence A. T. Chemistry of non-ionic detergents. Part IX. Light-scattering and viscosity studies on a series of synthetic non-ionic detergents // Kolloid-Z. und Z. Polymer. 1965. Vol. 204. P. 104–111.
10. Гордон Дж. Органическая химия растворов электролитов. М., 1979. 712 с.